

Diversité et déterminisme génétique de la recombinaison méiotique chez Saccharomyces cerevisiae

Xavier Raffoux

▶ **To cite this version:**

Xavier Raffoux. Diversité et déterminisme génétique de la recombinaison méiotique chez Saccharomyces cerevisiae. Génétique des plantes. Université Paris Saclay (COmUE), 2018. Français. ⟨NNT : 2018SACLS392⟩. ⟨tel-02060253v2⟩

HAL Id: tel-02060253

https://theses.hal.science/tel-02060253v2

Submitted on 8 Mar 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

université PARIS-SACLAY

NNT : 2018 SACLS 392

UNIVERSITÉ PARIS SUD
Comprendre le monde, construire l'avenir

Diversité et déterminisme génétique de la recombinaison méiotique chez *Saccharomyces cerevisiae*

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à l'Université Paris Sud

École doctorale n°577 SDSV
Structure et dynamique des systèmes vivants
Spécialité de doctorat: sciences de la vie et de la santé

Thèse présentée et soutenue à Gif sur Yvette, le 6 novembre 2018, par

Xavier Raffoux

Composition du Jury :

Delphine Sicard Directeur de recherche – SPO (Montpellier)	Présidente
Frédéric Baudat Chargé de recherche - IGH (Montpellier)	Rapporteur
Gianni Liti Chargé de recherche – IRCAN (Nice)	Rapporteur
Raphael Mercier Directeur de recherche – IJPB (Versailles)	Examinateur
Bertrand Servin Chargé de recherche – GenPhySE (Castanet Tolosan)	Examinateur
Denise Zickler Directeur de recherche Emérite – I2BC (Orsay)	Examinatrice
Matthieu Falque Ingénieur de recherche – GQE le Moulon (Gif sur Yvette)	Directeur de thèse
Olivier Martin Directeur de recherche - GQE le Moulon (Gif sur Yvette)	Co-directeur de thèse

Thèse de doctorat

« C'est en apprenant que l'on mesure son ignorance »

Lao She

Remerciements

Un jour de mars 2002, Jacques Samarut, alors directeur d'équipe au CNRS de Lyon, a vu arriver dans son bureau, un individu se réclamant d'avoir été recruté dans son équipe pour travailler à l'animalerie, et expliquant qu'il viendrait en transport en commun à Lyon tous les jours depuis Paris. Après réflexion (et un appel téléphonique à la délégation CNRS), il se souvint qu'il fut un temps où il rédigeait régulièrement des demandes de poste, mais que, lassé de ne jamais avoir satisfaction, il avait abandonné. Mais cette année était différente, puisque sans en faire la demande, un poste venait de lui être attribué. Mon aventure a donc commencé au CNRS de Lyon en qualité de technicien animalier. J'ai découvert que les scientifiques consommateurs des souris dont j'avais la charge pouvaient, non seulement se rendre très disponibles pour répondre à mes questions sur le devenir de ces petites bêtes, mais qu'en plus de cela, ils étaient toujours ravis de transmettre leur passion. A mes questions « Et pourquoi…, et pourquoi…», jamais je n'ai entendu « Arrête de poser des questions » ! Comme un peu de pratique rend les choses plus digestes, j'ai réalisé mes premières expériences de biologie moléculaire, puis mes fonctions ont évolué et j'ai intégré l'équipe de recherche du laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire (LBMC-ENS Lyon-Équipe Samarut), avec fonction de technicien de recherche. Je tiens à remercier les membres de cette équipe qui m'ont fait découvrir le monde de la recherche : Frédéric Flamant avec qui j'ai réalisé ma première PCR, Michelina Plateroti pour m'avoir confié le génotypage de ses souris, Laure Quignodon pour son aide au laboratoire et sa convivialité, et Claudine Legrand pour ses conseils et son accueil. Un jour d'avril 2003, Matthieu Falque, responsable d'équipe à l'INRA du Moulon, a vu arriver dans son bureau un individu lui expliquant être classé sur liste complémentaire suite à un concours externe INRA, et qu'il était possible de demander l'ouverture d'un poste. Après un appel téléphonique à la délégation (pour faire court), j'ai rejoint l'équipe en tant que technicien de recherche. J'ai là aussi découvert des scientifiques passionnés par leur travail et ravis de transmettre leurs savoirs. Ainsi, quand cela était possible, les chercheurs de l'unité m'ont associé au travail d'analyse des données que j'avais produites. En parallèle à cela, certains scientifiques de l'unité ont organisé des sessions de formation interne (génétique des populations, génétique quantitative, statistiques…), et je tiens à remercier pour cela Christine Dillmann, Philippe Brabant et Dominique de Vienne. Tout cela n'a fait qu'amplifier ma curiosité scientifique et m'a donné envie d'en apprendre plus, mais j'ai compris que ma formation était insuffisante et qu'il me manquait des connaissances. J'ai donc fait le choix de reprendre mes études. Merci particulièrement Matthieu pour cette phrase que je retiens et qui a été un déclic : « C'est dommage, si tu avais un Master, je t'aurais bien pris en thèse ».

Un jour de septembre 2011, je me suis donc retrouvé sur le banc d'un amphithéâtre de l'université d'Orsay. Je remercie particulièrement Karine Budin et Annie Sainsard Chanet qui m'ont alors encouragé dans ma démarche. Lors de mon stage de Master I, j'ai été accueilli par une équipe de recherche très disponible et pédagogue qui m'a initié à la problématique scientifique passionnante de la sexualité des champignons. Ainsi, je tiens à remercier Cécile Fairhead et Stéphanie Boisnard pour leur sympathie et pour s'être rendues très disponibles. J'ai ensuite réalisé mon stage de Master II au sein de l'équipe « Recombinaison des Allèles en Méiose : Déterminisme, Applications, Modélisation » de l'unité GQE le Moulon. Merci Matthieu et Olivier de m'avoir accueilli dans cette équipe où j'ai découvert que mettre au point une méthode et produire des résultats est gratifiant, mais que d'analyser les résultats avec le recul scientifique suffisant pour en tirer des conclusions biologiques l'est encore plus. Avec ce master, j'ai goûté au travail de recherche et je ne voyais pas d'autre alternative que de continuer dans cette lancée. Ce constat personnel m'a amené à passer le concours de l'école doctorale « Structure et Dynamique des Systèmes Vivants » en vue de continuer le travail initié pendant mon stage de Master II. En septembre 2013, j'ai débuté une thèse sur l'étude du déterminisme génétique contrôlant le nombre et la position des crossing-overs chez la levure *S. cerevisiae*.

Matthieu, je te suis reconnaissant de la confiance que tu as eu en moi depuis ma reprise d'étude jusqu'à cette thèse, pour tes qualités de pédagogue, le temps que tu as su trouver pour m'accompagner dans ce travail de recherche et de rédaction, et bien sûr pour la relecture de ce travail. Je souhaite à tout étudiant d'avoir un directeur de thèse tel que toi. Merci Olivier pour ton rôle de co-directeur de thèse, pour ces discussions passionnantes sur le sujet avec ton regard de physicien qui permet de penser les choses différemment, pour le temps que tu as donné et évidemment pour la relecture de mon travail et tes remarques toujours pertinentes.

Pour réaliser ce travail, j'ai passé une partie de mon temps au laboratoire. J'ai la chance d'avoir des collègues qui m'ont d'abord encouragé dans ma reprise d'étude, et qui ont ensuite compris et accepté que je redevienne étudiant. Promis, une fois la thèse soutenue, je reprends quelques tâches collectives, j'en ai été épargné et j'en suis conscient.

Une thèse est rythmée par un comité de thèse annuel composé de personnes fort agréables dans mon cas. Vos remarques et propositions ont été très utiles, vous avez chacun et chacune une vision des choses différente et c'est ce qui fait la richesse de nos discussions. Je remercie donc Denise Zickler, Valérie Borde, Christine Mézard, Cécile Fairhead, Jacques David et Gianni Liti, d'avoir accepté de prendre le temps de faire partie de mon comité de thèse.

Une bonne ambiance de travail est essentielle ! C'est le cas au Moulon, je peux être le témoin de 15 années agréables de vie en communauté. Concernant le programme des activités auxquelles j'ai participé, je remercie les organisateurs/trices, de l'activité piscine (Bénédicte Rhoné, Marion Limberger, Carine Remoué), de l'activité patinoire (Gaëlle Van Frank, Alice Beaugrand), de l'activité tennis (Gaëlle Van Frank, Alice Beaugrand), de l'activité « je repeins mon bureau » (Matthieu Falque, Carine Remoué, Anthony Venon, Fabrice Dumas, Harry Belcram), du week-end ski (Charlotte Urien). Concernant l'organisation des soirées poker, barbecue, sorties à Paris…, je remercie Pierre Montalent. Je te félicite aussi, Pierre, pour la bonne humeur que tu transmets à beaucoup de personnes au Moulon. Merci à Anthony Venon, d'avoir été un ex-collègue de bureau plaisant, ta jeunesse et ta joie de vivre sont très agréables. Je suis toujours pressé de découvrir tes aventures du week-end le lundi matin ! Tu vas nous manquer pendant ta formation. Je suis sûr que tu vas exceller et j'espère que tu reviendras au Moulon pour continuer en thèse, il n'y a pas d'âge pour cela, on y arrive même à quarante ans. Le temps de ma thèse, j'ai partagé mon bureau avec Elise Tourrette que je remercie pour sa sympathie, son calme, la relecture de certaines parties du manuscrit, ainsi que ses connaissances en R bien utiles. En dehors de cela, j'ai beaucoup appris des discussions que nous avons eues. J'ai maintenant plus de connaissances sur les mouvements des corps célestes, le phénomène des marées, et tant d'autres.

Cette période de ma vie a parfois été traversée de moments douloureux. L'expérience forge le caractère et on ressort toujours plus fort d'avoir surmonté des difficultés. Mais ces passages sont beaucoup plus simples avec le soutien d'amis proches qui ont su être présents quand nécessaire, avec les mots et les conseils adaptés qui permettent d'être confiant. Merci Matthieu, tu as eu la tâche complexe d'être à la fois mon directeur de thèse et un ami très présent quand j'en avais besoin. Je tiens également à remercier mes amis qui ont été présents dans ces moments, Valérie, Edwige, Démétrio et Maryse.

Merci Virginie, pour ton travail de relecture qui a été plus qu'efficace. Mais bien plus que cela, ton arrivée a marqué la transition entre un stade végétatif et le bonheur. Ton plaisir de vivre est irradiant et me rend heureux. Enfin, j'ai la chance d'avoir des parents qui ont accepté de redevenir les parents d'un étudiant de 40 ans ! Je vous remercie de m'avoir encouragé dans la reprise de mes études. Grâce à vous, j'ai pu me consacrer à ce travail sans être matériellement soucieux. Je suis fier du savoir-vivre, de l'éthique et des valeurs que vous m'avez transmises et qui me permettent de mener mes projets à leur terme. Forcément, je pense à vous, Florent, Antoine et Ombeline, vous n'êtes pas présents au moment où j'écris ces lignes du fait d'une situation que vous subissez. Sachez que je pense à vous, même quand je suis accaparé par mon travail de thèse.

Table des matières

Préambule **20**

Introduction **22**

1 Etude bibliographique sur la méiose et la recombinaison **26**

1.1 Origine évolutive de la méiose 28

1.2 Déroulement général de la méiose 29

1.3 Formation de cassures double brin de la molécule d'ADN 30

1.4 Maturation des cassures double brin 32

1.5 Recherche d'homologie 32

1.6 Appariement des chromosomes homologues 35

1.7 Formation du complexe synaptonémal puis des chiasmas 37

1.8 Résolution des chiasmas et phase post synaptique 40

1.9 Les différentes voies de réparation des cassures double brin 40
1.9.1 La voie de formation des crossing-overs interférents 43
1.9.2 La voie de formation des crossing-overs non interférents 43
1.9.3 La voie de formation des non crossing-overs 44
1.9.4 Cas de la recombinaison ectopique 44

1.10 La régulation de la recombinaison méiotique 46
1.10.1 Les voies anti crossing-overs limitent le nombre de crossing-overs 46
1.10.2 L'assurance d'avoir au minimum un crossing-over par paires d'homologues 47
1.10.3 L'homéostasie assure un nombre stable de crossing-overs 47
1.10.4 L'interférence entre crossing-overs module leur répartition 47
1.10.5 Certains facteurs épigénétiques ont un effet sur la recombinaison 48
1.10.6 La protéine PRDM9 influence la localisation des crossing-overs chez les mammifères 49
1.10.7 Effet des modifications post traductionnelles des protéines de recombinaison 50
1.10.8 Impact de l'organisation et de la dynamique des chromosomes dans le noyau 52

1.11 Le cas particulier de la méiose chez les polyploïdes 53

1.12 Méthodes permettant de mesurer le niveau de recombinaison 54
1.12.1 Obtenir des données sur le nombre et la localisation des crossing-overs 54
1.12.2 Estimer le niveau d'interférence entre crossing-overs 57

1.13 Diversité du niveau et du profil de recombinaison 59
1.13.1 Une répartition non aléatoire de la recombinaison sur le génome 59
1.13.2 La diversité de la recombinaison au sein des espèces 62
1.13.3 Les différences de niveau de recombinaison entre sexes 64
1.13.4 La diversité de la recombinaison entre espèces 64

1.14 Origines de la diversité du niveau et du profil de recombinaison 67
1.14.1 Origine génétique 67
1.14.2 Facteurs de l'environnement modifiant la recombinaison 71

1.15 Relations entre recombinaison, adaptation, et évolution des génomes 72

1.16 Modifier le nombre et la position des crossing-overs 73
1.16.1 Intérêt 73
1.16.2 Modification ciblée du génome et utilisation de mutants 74

1.17 La levure : organisme modèle pour étudier la recombinaison 76

2 High throughput measurement of recombination rates and genetic interference in *S. cerevisiae* 82

2.1 Abstract 84

2.2 Introduction 85

2.3 Materials and methods 86
2.3.1 Fluorescent strains 86
2.3.2 Construction of tri fluorescent testers 88
2.3.3 Flow cytometry analysis of spores 88
2.3.4 Marker fluorescence analysis 89
2.3.5 Calculation of Mendelian segregation ratios to assess possible biases 91
2.3.6 Calculation of recombination rates 92
2.3.7 Calculation of the coefficient of coincidence (CoC) 92
2.3.8 Sporulation efficiency 93
2.3.9 Spore viability 93
2.3.10 Study of fluorescence extinction 93
2.3.11 Estimating fluorescence extinction frequencies, recombination rates, and interference strength by maximum likelihood 94

2.4 RESULTS 95
2.4.1 Spore isolation 95
2.4.2 Checks for Mendelian segregation 95
2.4.3 Measurement of recombination rate 98
2.4.4 Measurement of CO interference 100
2.4.5 Analysis of fluorescence extinction 100
2.4.6 Correction of fluorescence extinction 101

2.5 DISCUSSION 105

2.6 Acknowledgements 107

2.7 REFERENCES 108

2.8 Supplementary Figures and Text 128

3 Role of cis, trans, and inbreeding effects on meiotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae* 140

3.1 ABSTRACT 142

3.2 INTRODUCTION 143

3.3 MATERIALS AND METHODS 145
3.3.1 Biological material 145
3.3.2 Sporulation efficiency 146
3.3.3 Spore viability 146
3.3.4 Recombination rate and interference measurements on the collection 146
3.3.5 Score of sequence similarity at different scales 148

3.4 RESULTS 149
3.4.1 Sporulation, spore viability and recombination rate 149
3.4.2 Wide diversity of recombination rate in the collection 151
3.4.3 Relative importance of cis and trans effects on recombination 153
3.4.4 Relationship between recombination rate and DSB levels 153
3.4.5 High levels of heterozygosity reduce recombination 155
3.4.6 Crossover interference analysis 155
3.4.7 Inbreeding reduces recombination 158

3.5 DISCUSSION 160
3.5.1 Intraspecific diversity of recombination 160
3.5.2 Intraspecific diversity of crossover interference 162
3.5.3 Genetic control of recombination rate 163
3.5.4 Effect of heterozygosity and homozygosity on recombination rate 163
3.5.5 Dissecting parental effects on recombination 164
3.6 ACKNOWLEDGEMENTS 166
3.7 REFERENCES 166
4 Conception et préparation d'une expérience de sélection récurrente sur le taux de recombinaison 234
4.1 Introduction 234
4.2 Le matériel biologique adapté à ce projet est disponible 242
4.2.1 La population soumise à sélection 242
4.2.2 Appliquer une pression de sélection sur le niveau de recombinaison 248
4.2.3 Préparer la population aux cycles de sélection 250
4.3 Description des cycles de sélection 250
4.4 Dimensionnement de l'expérience 252
4.5 Réponse à la sélection et recherche de QTL 254
4.5.1 Phénotypage des trois populations à toutes les générations 254
4.5.2 Détection et validation des QTL modulant la recombinaison 255
4.6 Résultats attendus et apports 255
4.7 Perspectives 257
4.8 Gestion des risques 258
4.9 Planning prévisionnel et budget financier 259
4.9.1 Temps nécessaire pour réaliser une génération de sélection 259
4.9.2 Temps nécessaire au phénotypage et à la détection des QTL 261
4.9.3 Budget prévisionnel 261
Discussion générale 264
Conclusion générale 273
Bibliographie. 274
Résumé grand public 297
General public summary 299
Résumé 300
Summary 300

Liste des figures et Tables

Etude bibliographique sur la méiose et la recombinaison

Figure 1 : Représentation schématique du déroulement de la méiose 27
Figure 2 : Gènes impliqués dans la recombinaison chez différentes espèces 31
Figure 3 : Formation et maturation des cassures double brin 33
Figure 4 : Modèle schématique des mécanismes de recombinaison homologue 34
Figure 5 : Observations microscopiques du « bouquet » 35
Figure 6 : Modèle d'interaction de la protéine Spo11 avec l'axe des chromosomes 36
Figure 7 : Représentation schématique du complexe synaptonémal 38
Figure 8 : Observation microscopique de différents marqueurs de recombinaison 38
Figure 9 : Observation microscopique de chiasmas dans un noyau de méiocyte 39
Figure 10 : Résolution des jonctions de Holliday 42
Figure 11 : Modèle de différentes voies de réparation des cassures doubles brin 45
Figure 12 : Modèle « Beam-film » 56
Figure 13 : Modèle « gamma » de mesure de l'interférence 58
Figure 14 : Diversité de la recombinaison de diverses espèces 66
Figure 15 : Classification phylogénétique des champignons 76
Figure 16 : Cycle cellulaire de la levure *S. cerevisiae* (ex d'une souche hétérothallique) 78
Figure 17 : Arbre phylogénomique d'une collection de souches de *S. cerevisiae* 79
Figure 18 : Structure des cassettes sexuelles de *S. cerevisiae* chez une cellule MATa 81
Figure 19 : Schéma du contrôle du locus Mat sur l'identité cellulaire chez *S. cerevisiae* 81
Figure 20 : Schéma simplifié du changement de type sexuel chez *S. cerevisiae*. 81

High throughput measurement of recombination rates and genetic interference in *S. cerevisiae*

Figure 1: Segregation of three linked markers in spores after meiosis. 90
Figure 2: Fluorescence intensities of marker A vs marker B, marker A vs marker C, and marker B vs marker C 91
Figure 3: Recombination rate of SK1 diploids (A) and SK1×W303 hybrids (B) 97
Figure 4: CoC measurement of SK1 diploids (A) and SK1×W303 hybrids (B) 99
Figure 5: Comparison between naive estimation and fitted estimation 103
Figure 6: Comparison between naive and fitted estimation of CoC for SK1 diploids (A) and SK1×W303 hybrids (B). 104

Supp Figure 1: Production of SK1-I-R2C3 spores and microscopy observation of tetrads before FACS. 128
Supp Figure 2: Marker position for the eight tri-fluorescent testers produced 128
Supp Figure 3: Optical selection of spores based on scattered light 129
Supp Figure 4: Optical selection of spore singlets 129
Supp Figure 5:: Sporulation kinetics for SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids. 130
Supp Figure 6: Frequency of each fluorescent marker from hemizygote SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids. 130
Supp Figure 7: Two-locus segregation of two linked loci. 131
Supp Figure 8: CoC measurement on two independent intervals 132
Supp Figure 9: Three-locus analysis for SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids 132
Supp Figure 10: Estimation of recombination rate from simulated data incorporating fluorescence extinction. 133
Supp Figure 11: Estimation of CoC from simulated data 134
Supp Figure 12: Extinction frequencies estimated for SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids using the model. 135
Supp Figure 13: Distribution of fluorescence intensity in spores. 135

Supp Text 1: R code used to estimate parameters of the model by ML. 136

Role of *cis*, *trans*, and inbreeding effects on meiotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*

Figure 1: Average recombination rate over the 14 intervals for each strain of the collection 150
Figure 2: Recombination rates in cM/kbp along chromosomes for hybrids 152
Figure 3: Correlation between sequence similarity and the mean recombination rate of hybrids 154
Figure 4: Diversity of interference strength measured by the v (nu) parameter of the Gamma model 156
Figure 5: Correlation between average interference intensity v, and average recombination rate 157
Figure 6: Hybrids obtained by crossing five parental strains 160
Figure 7: Diallele experiment: genetic length of interval R8Y9 on chromosome XI for 10 hybrids 165

Supp Figure S 1: Saccharomyces phylogenomics 175
Supp Figure S 2: Frequency of fluorescence extinction for each marker locus in the 22 hybrids 176
Supp Figure S 3: Examples of relationship between genetic distance and recombination fraction between two markers 177
Supp Figure S 4: Examples of the relationship between CoC and interference strength 178
Supp Figure S 5: Sporulation kinetics for all strains 179
Supp Figure S 6: Sporulation and spore viability rates 183
Supp Figure S 7: Recombination rates in cM/kbp along chromosomes for hybrids 184
Supp Figure S 8: Recombination rates when pooling strains: origin 207
Supp Figure S 9: Recombination rates of the 22 hybrids for each interval 208
Supp Figure S 10: Correlation between sequence similarity, and the mean recombination rate 222
Supp Figure S 11: Values of the coefficient of coincidence (CoC) across hybrids 223
Supp Figure S 12: interference strength profiles along chromosomes for three strains 224
Supp Figure S 13: correlation between observed and predicted values of recombination 225
Supp Figure S 14: Estimated values of the parameters of the diallel model 226

Supp Method 1A: Segregation bias and fluorescence extinction 227
Supp Method 2B :Experimental design and normalization 228
Supp Method 3C: Translating a coefficient of coincidence into an interference strength 228

Supp Table 1: Strain code, name, origin, phylogenetic group, and habitat 230
Supp Table 2: Diversity of recombination rate for each interval flanked by fluorescent markers 231
Supp Table 3: Correlation between recombination rate and sequence similarity at different scales 232
Supp Table 4: Measured recombination rate (Y), and estimated values of the diallele model 233

Conception et préparation d'une expérience de sélection récurrente sur le taux de recombinaison

Figure 1: Diversité génétique des quatre souches utilisées. 242
Figure 2: Plan de croisement utilisé pour construire la population SGRP-4X 243
Figure 3 : Panel A: Diversité du taux de recombinaison. Panel B: Diversité de l'interférence 245
Figure 4 : Corrélation entre homologie de séquence et taux de recombinaison 247
Figure 5 : Profil de recombinaison le long des chromosomes 247
Figure 6: Schéma des cycles de sélection positive pour le taux de recombinaison 249
Figure 7: Schéma des cycles de sélection négative pour le taux de recombinaison 249
Figure 8: Simulation de sélection positive avec un QTL d'effet 5% 251
Figure 9: Simulation de sélection positive avec un QTL d'effet 10% 252
Figure 10: Détection de différences de fréquences alléliques 254
Figure 11: Phénotypage de la recombinaison des générations de sélection. 256
Figure 12: Détection de QTL et validation fonctionnelle 256
Figure 13: Vue d'ensemble du projet 260
Figure 14: Planning prévisionnel 260
Figure 15: budget prévisionnel 262

Tableau 1 : *Variance du taux de recombinaison des souches fondatrices de la population SGRP-4X.* 248

Préambule

Ces quelques lignes s'adressent aux personnes peu familières de la génétique et de la méiose, qui sont les principaux thèmes abordés dans cette thèse.

Dès le début de l'agriculture et de l'élevage, les hommes ont réalisé sans en être conscients les premières expériences de génétique en sélectionnant les descendants des individus qui correspondaient le mieux à leurs attentes pour des critères visuels. C'est Gregor Mendel (1822-1884) qui le premier décrit un mécanisme expliquant pourquoi la reproduction sexuée engendre des enfants qui ressemblent à leurs parents tout en n'étant pas exactement leur moyenne. Il propose que cette ressemblance soit due à un transfert de caractères des parents vers les descendants, ce que Mendel met en évidence dans une série d'expériences sur le pois en étudiant des caractères tels que la couleur ou la forme. Il observe ensuite que certains caractères sont plus souvent combinés ensemble chez les descendants et ne respectent donc pas ses premières conclusions sur la ségrégation indépendante des caractères. Pour expliquer les écarts à la ségrégation indépendante observés, Mendel propose que certains caractères puissent être liés. En 1866, il publie un article de synthèse et conclut que les caractères héréditaires sont le résultat de deux facteurs, un venant du père et un de la mère. C'est en 1902 que Walter Sutton et Théodore Boveri proposent que les chromosomes soient le support physique de ces facteurs dans la cellule. Thomas Morgan (1866-1945) entreprend alors des expèriences de génétique sur la Drosophile en étudiant la ségrégation de la couleur des yeux dans la descendance. Il propose d'une part que certains caractères soient liés au sexe et donc portés par un chromosome sexuel, et d'autre part que d'autres caractères peuvent être liés sur un même chromosome. En étudiant sur des milliers de mouches la répartition de caractères liés sur un même chromosome, il observe dans la descendance que ces caractères peuvent être dissociés chez une partie des descendants. Cette recombinaison entre caractères par la reproduction sexuée permet de casser le lien entre caractères situés sur un même chromosome et ainsi de créer de nouvelles combinaisons de caractères. Morgan utilise cette observation pour créer les premières « cartes génétiques » permettant de localiser les facteurs contrôlant ces caractères sur les chromosomes en exploitant les fréquences de recombinaison. Les premières cartes génétiques sont nées, et depuis, l'unité de fréquence de recombinaison utilisée en cartographie génétique est appelée Morgan (et son sous-multiple, le centiMorgan). La reproduction sexuée permet donc la création de nouveaux assemblages de caractères chez les descendants, et cette nouvelle diversité est ensuite soumise à la sélection, qu'elle soit naturelle ou dirigée par l'homme, par

exemple dans une optique agronomique. La plupart des espèces à reproduction sexuée possèdent deux copies de chaque chromosome, l'une venant de la mère et l'autre du père. Quand un individu se reproduit, il transmet seulement la moitié de son matériel génétique aux descendants *via* des cellules particulière appelées « gamètes ». Une étape essentielle de la reproduction sexuée est la formation de gamètes haploïdes à partir de cellules diploïdes, ce qui permet de ne pas doubler le stock de matériel génétique à chaque génération. Cette réduction de ploïdie se fait par une division cellulaire particulière appelée « méiose ». Les gamètes ainsi produits contiennent un exemplaire de chaque chromosome. Ces gamètes haploïdes peuvent ensuite fusionner lors de la fécondation et compléter ainsi un cycle de reproduction. La méiose doit assurer une bonne répartition des chromosomes dans les gamètes sous peine de voir se former des gamètes non viables. Pour cela, en certains points des chromosomes, un mécanisme appelé crossing-over (CO) créé un lien physique entre les chromosomes homologues à deux chromatides en début de méiose. Ce lien physique est maintenu jusqu'à la fin de la première division de méiose, puis il est rompu et chaque exemplaire de chromosome est alors distribué dans une cellule. Suit une deuxième division de méiose où les deux chromatides composant les chromosomes sont séparées et distribuées dans les gamètes. Lors de la formation du lien physique entre chromosomes homologues, de l'information génétique est réciproquement échangée entre les deux homologues. Cet échange réciproque d'information entre chromosomes homologues aboutit à la formation de nouvelles combinaisons de séquences nucléotidiques et donc à la création de diversité génétique. Ce sont donc ces crossing-overs qui sont responsables de la recombinaison observée par Morgan.

Introduction

Un des défis de la génétique moderne est d'identifier les gènes et allèles responsables de la variation des caractères quantitatifs. De nombreuses études ont pour but d'identifier les facteurs génétiques (ou au moins leur localisation approximative dans le génome, appelée QTL pour « quantitative trait locus ») dont la variation allélique modifie un caractère quantitatif. Ces travaux peuvent être conduits en étudiant la descendance de croisements contrôlés (études de type « linkage »), ou en utilisant une collection d'individus non apparentés (études de type « association »). Lors de ces études, l'objectif est d'identifier des régions génomiques dont le polymorphisme est associé à la variation d'un caractère. La localisation des QTL consiste dans un cas comme dans l'autre à identifier la plus petite région possible associée au caractère. La résolution dépend assez directement du nombre de recombinaisons qui se sont produites lors des méioses, soit pendant la construction de la population de cartographie (études de type « linkage »), soit tout au long de la généalogie des individus constituants la collection (études de type « association »). En pratique, la précision de la localisation des QTL dépend également de différents facteurs qui sont : le nombre d'individus étudiés, la précision du génotypage et la fréquence des différents allèles dans la population, ainsi que la pénétrance du caractère. Dans le cadre de l'amélioration génétique, ce travail de détection de QTL est suivi par la mise en œuvre de stratégies de sélection, dont le rôle est de combiner les allèles favorables à différents QTL. Le génotypage haut débit et les études basées sur des croisements multiparentaux ont permis de gagner en précision sur le positionnement des QTL. Cependant, de larges zones des génomes ne sont pas ou très peu soumises au phénomène de recombinaison méiotique (par exemple les régions péri-centromériques chez la plupart des plantes cultivées). La détection précise des QTL dans ces zones pose donc un énorme problème puisque ces régions se présentent sous forme de blocs haplotypiques dans lesquels il est impossible de localiser plus finement les QTL. De même, il est très difficile, en sélection, de casser des combinaisons alléliques dans ces régions. S'il était possible de contrôler le nombre des crossing-overs (CO), on pourrait détecter les QTL plus finement et sélectionner plus efficacement les individus cumulant les allèles favorables. Dans un contexte de stagnation des rendements du fait du plafonnement du progrès génétique, on comprend bien toute l'importance de cet enjeu (Peltonen-Sainio *et al.*, 2015; Ray *et al.*, 2012). D'un point de vue plus fondamental, la recombinaison méiotique est un mécanisme majeur de la dynamique de l'évolution des génomes, et il est essentiel d'en comprendre le fonctionnement. Enfin, les mécanismes de réparation de la molécule d'ADN essentiels au bon déroulement de la méiose

reprennent en partie les mêmes protéines que celles utilisées par l'ensemble du vivant (procaryotes comme eucaryotes) lors du cycle végétatif pour réparer les lésions de l'ADN de type cassure double brin (CDB). Si elles sont mal réparées, les cassures double brin de l'ADN peuvent conduire à l'inactivation de gènes contrôlant le cycle et la prolifération cellulaire (proto-oncogènes). Chez les organismes pluri-cellulaires, les cellules ainsi modifiées peuvent devenir des cellules tumorales et provoquer des cancers. De nombreuses équipes de recherche étudient donc les mécanismes de la méiose, ce qui peut permettre de mieux comprendre comment se fait la réparation des lésions de l'ADN et comment peuvent survenir les erreurs de réparation.

Pour étudier quantitativement la recombinaison sur un grand nombre d'individus, on se heurte soit au fait que les approches cytologiques sont quelques fois difficiles, soit aux coûts élevés du génotypage de nombreux descendants. Il est, de plus, impossible actuellement de sélectionner des individus recombinants à grande échelle avec ces techniques. L'étude quantitative de la recombinaison méiotique reste donc difficile d'accès avec les méthodes actuelles qui ne permettent que l'observation et la sélection de peu d'individus. Le premier objectif de mon travail a consisté à lever ce verrou technique en mettant au point une méthode pour mesurer à haut débit et faible coût le taux de recombinaison et l'interférence chez la levure *S. cerevisiae*. Du fait de la difficulté de phénotyper le nombre et la position des évènements de recombinaison, relativement peu d'études décrivent la diversité intra spécifique de ce caractère à large échelle. Le second objectif de mon travail a donc été de palier à ce manque de connaissances en utilisant la méthode de mesure à haut débit de la recombinaison que nous avons mise au point pour étudier une collection de souches de *S. cerevisiae* représentative de la diversité de l'espèce. Mon troisième objectif a été d'étudier quels types de facteurs composent le déterminisme génétique du nombre et de la position des événements de recombinaison. Pour ce faire, j'ai utilisé les données de diversité intra spécifique de la recombinaison obtenues précédemment, que j'ai complétées par des données issues d'un croisement de type di-allèle. D'une part mon travail a consisté en l'étude de l'effet du niveau d'hétérozygotie sur la recombinaison, et d'autre part, je me suis intéressé à l'importance relative de facteurs génétiques agissant localement (effet *cis*) ou à distance (effet *trans*) sur la recombinaison. Enfin, le dernier objectif de mon travail a été de concevoir et préparer un projet de recherche que je souhaiterais mettre en œuvre après ma thèse. Ce projet est centré sur une expérience de sélection divergente basée sur le taux de recombinaison. Ce travail permettra non seulement de mesurer la réponse à la sélection sur le nombre de CO, mais aussi de détecter les régions

du génome impliquées dans cette réponse, c'est-à-dire les régions contrôlant le nombre et la répartition des événements de recombinaison.

La première partie de ce manuscrit est consacrée aux connaissances actuelles sur la méiose. Je débuterai en présentant quelques hypothèses sur les origines évolutives de la méiose, puis je décrirai chronologiquement ses différentes étapes. J'aborderai ensuite les conséquences génétiques de la méiose et les mécanismes moléculaires impliqués. Ceci sera suivi par un état des connaissances sur les mécanismes modulant le nombre et la répartition des événements de recombinaison méiotique. Je présenterai ensuite le cas particulier de la méiose chez les polyploïdes. Puis, après avoir présenté les méthodes actuelles pour mesurer le taux de recombinaison et l'interférence, je ferai un point sur les connaissances quant à la répartition des événements de recombinaison à l'échelle du génome. Je décrirai ensuite l'état de l'art concernant la diversité du taux de recombinaison entre les espèces et au sein de certaines espèces, puis les possibles origines de cette diversité. Enfin, nous verrons quelle peut être l'importance du contrôle génétique de la recombinaison concernant l'adaptation des espèces et l'évolution de leur génome. Pour finir cette première partie, après avoir présenté les intérêts, que ce soit en recherche fondamentale ou en recherche appliquée, de la modification du nombre et de la répartition des événements de recombinaison, je décrirai quelles méthodes pourraient permettre cela, les problématiques associées, et les objectifs de mon travail de thèse.

La deuxième partie de ce document est composée d'un article portant sur la mise au point d'une méthode de mesure à haut débit du taux de recombinaison et de l'interférence chez la levure *S. cerevisiae*. J'ai ensuite utilisé cette méthode pour étudier la diversité du taux de recombinaison et de l'interférence dans une collection de levures et travaillé sur l'étude du déterminisme génétique de ce caractère, ce qui fait l'objet d'un second article que vous trouverez dans la troisième partie de ce manuscrit. Enfin, dans une quatrième partie, je présenterai un projet de recherche autour d'une expérience d'évolution dirigée, visant à étudier la réponse à la sélection sur le nombre de CO puis à détecter les QTL impliqués dans la régulation de ce caractère.

Première partie

1 Etude bibliographique sur la méiose et la recombinaison

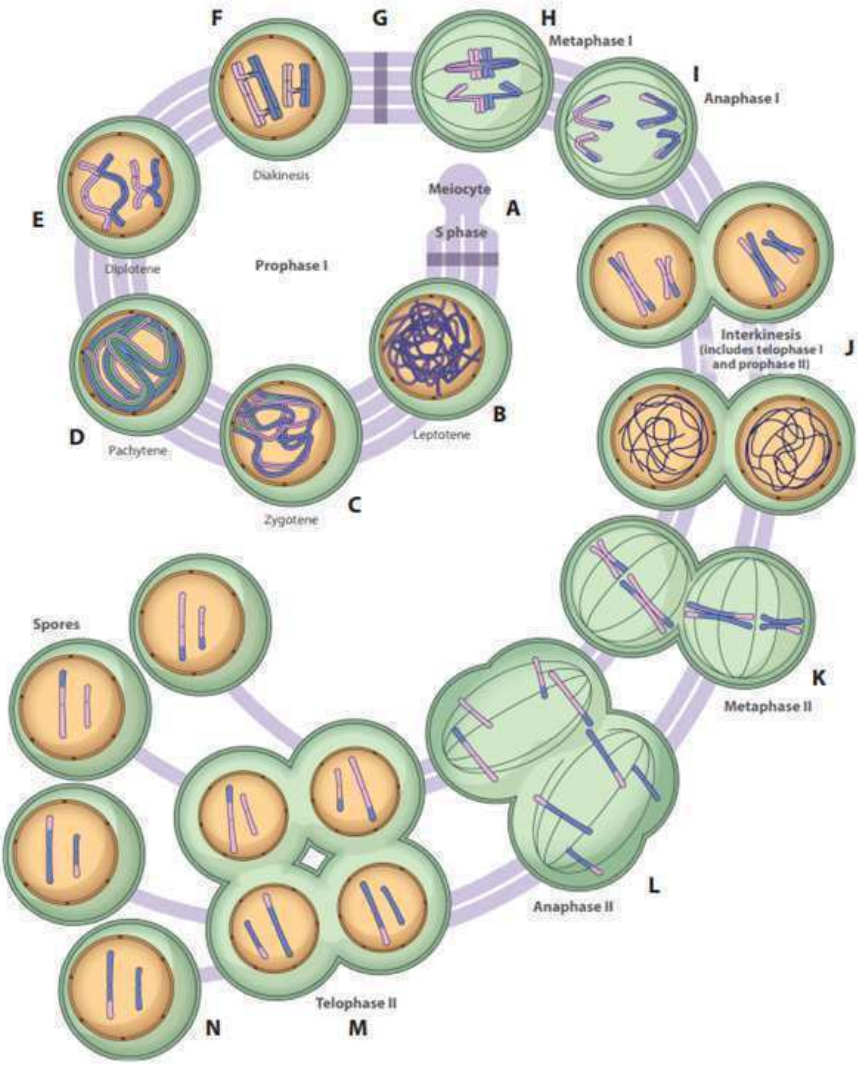


Figure 1 : Représentation schématique du déroulement de la méiose

(A) Phase de réplication du matériel génétique. (B) En leptotène, les axes chromosomiques commencent à se former et la recombinaison est initiée. (C) En zygotène, le complexe synaptonémal polymérise le long des axes chromosomiques et des évènements de CO se produisent. (D) En pachytène, le synapsis est complet et la recombinaison se poursuit. (E) En diplotène, le complexe synaptonémal disparait, les chromosomes homologues restent connectés *via* les crossing-overs. (F) En diacinèse, il y a condensation des chromosomes et les bivalents sont visibles. (G) En fin de prophase I, la membrane nucléaire est détruite. (H) en métaphase I, les bivalents s'alignent le long de fuseaux. (I) En anaphase I, les chromatides sœurs ne sont plus maintenues entre elles par la cohésine, sauf au niveau des centromères, ce qui permet la migration des chromosomes aux pôles cellulaire. (J) En intercinèse, deux noyaux se forment et les chromosomes se décondensent. Cette structure perdure en télophase I et prophase II. (K) En métaphase II, les chromosomes s'alignent le long des plaques métaphasiques. (L) En anaphase II, la cohésine des régions centromériques est détruite et les chromatides sœurs se séparent. (M) En télophase II, quatre noyaux se forment. (N) Après cytocinèse, quatre gamètes haploïdes sont formées. Figure issue de (Mercier *et al.*, 2015)

Les cellules des organismes diploïdes possèdent deux copies de chaque chromosome appelées « homologues ». Avant d'entrer en méiose, l'ADN des cellules est répliqué de façon à obtenir des chromosomes à deux chromatides sœurs associées entre elles sur toute leur longueur par des complexes de protéines (cohésines) formant des anneaux autours des chromatides. Deux divisions cellulaires vont suivre, ce qui va conduire à la formation de quatre gamètes haploïdes (**Figure 1**).

Ce chapitre va tout d'abord présenter les origines évolutives probables de la méiose puis les différentes phases de la méiose aboutissant à la formation de gamètes. Suivra une partie décrivant les mécanismes moléculaires de la recombinaison et les conséquences génétiques de la méiose. La partie suivante présentera les mécanismes contrôlant le nombre et la position des CO. Enfin, je présenterai quelques points sur le cas particulier des espèces polyploïdes.

1.1 Origine évolutive de la méiose

La reproduction sexuée, mode de multiplication de presque tous les organismes eucaryotes, a une origine discutée. Avant qu'une atmosphère avec une couche d'ozone ne viennent diminuer le niveau d'exposition aux rayons ultra-violets, il est proposé que chez les procaryotes des mécanismes conduisant à des échanges de matériel génétique auraient permis de réparer un ADN soumis à de telles fortes expositions (Birdsell and Wills, 2003; Bruce R. Levin, 1988). Le fait que de nombreuses protéinesimpliquées dans la réparation des CDB en méiose aient des homologues en mitose (topoisomérase, recombinase type RecA et protéines de « mismatch repair ») suggère que la méiose exploite des mécanismes qui ont évolué de la mitose (Egel and Penny, 2007). Ainsi, la méiose serait un type de division cellulaire particulier ayant pour origine une mitose transformée dans laquelle les kinétochores sur les chromatides sœurs ne se seraient pas dissociés, entraînant la ségrégation de chromosomes au lieu de chromatides (Wilkins and Holliday, 2009). Le gain apporté par cette nouvelle fonction serait double, avec d'une part un mécanisme permettant de répartir équitablement les génomes paternels et maternels dans des gamètes (Margulis and Sagan, 1990, 1997), et d'autre part un mécanisme très efficace de réparation des altérations de l'ADN, ce mécanisme nécessitant la présence de deux copies de chaque chromosome, et donc un organisme diploïde (Hörandl, 2009).. La méiose aurait alors été ancestralement sélectionnée grâce à l'avantage sélectif apporté par ces deux nouvelles fonctions. La création de nouvelles combinaisons alléliques serait alors plutôt un effet indirect de la méiose, non sélectionné primitivement, et apparu comme une des conséquences du mécanisme de la méiose. Il est d'ailleurs suggéré que la méiose soit un mécanisme apparu avant les débuts de la

reproduction sexuée (Niklas *et al.*, 2014). Enfin, il est également suggéré qu'un des avantages sélectifs de la méiose pourrait être de permettre le maintien du profil épigénétique au cours des générations en supprimant les épimutations (Holliday, 1988). L'origine de la méiose serait unique et précoce au cours de l'évolution des eucaryotes, les protéines impliquées dans ce mécanisme sont en effet très bien conservées à travers les eucaryotes actuels (Ma, 2006; Ramesh *et al.*, 2005). La discussion de l'équilibre entre coûts et bénéfices de la méiose permettant d'une part son émergence et d'autre part le maintien de la reproduction sexuée au cours de l'évolution est toujours un sujet de discussions (Hörandl, 2009).

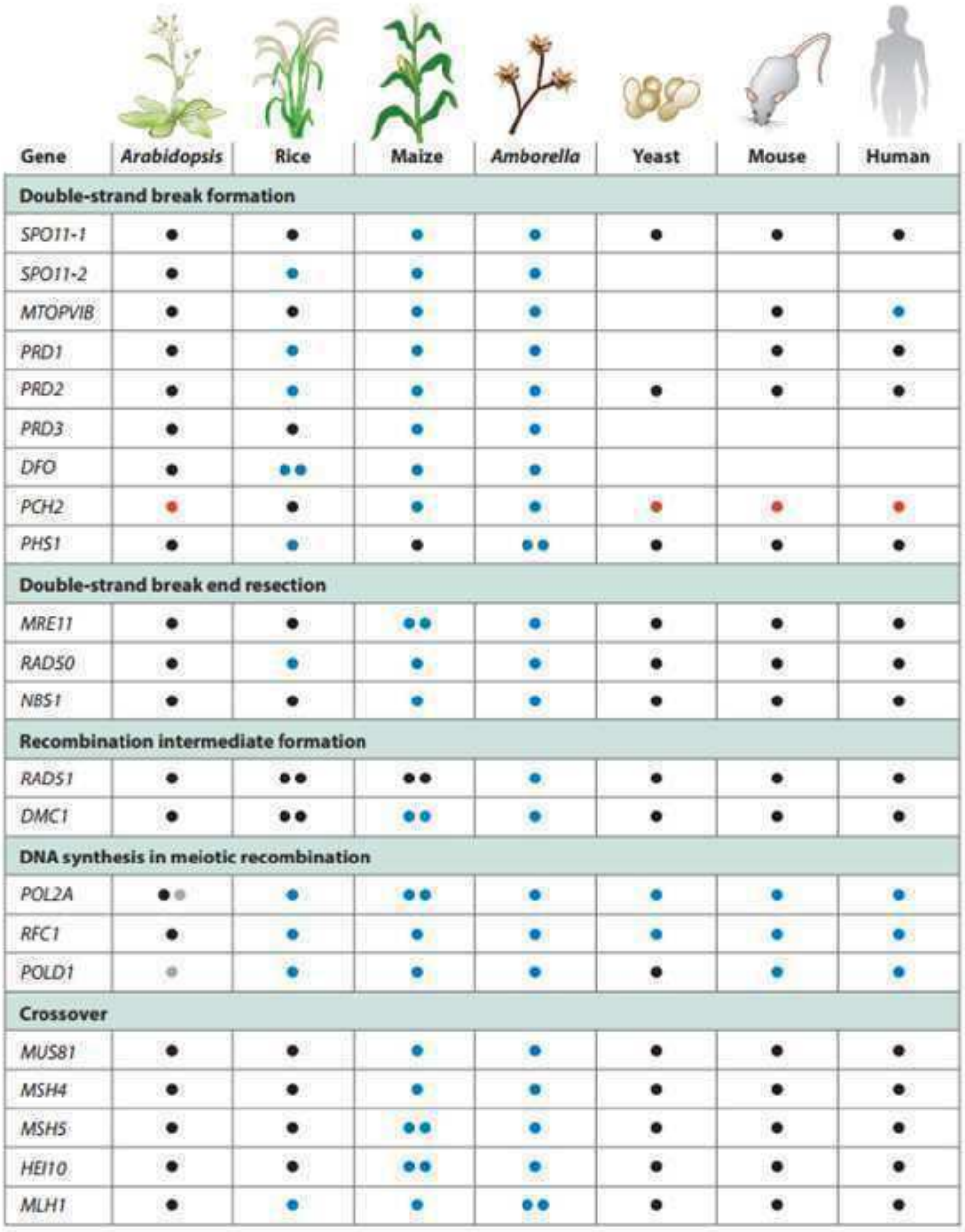
1.2 Déroulement général de la méiose

Une fois la réplication pré-méiotique accomplie, chaque chromosome est composé de deux chromatides sœurs unies entre elles par des cohésines dont certaines sont méiose-spécifiques telles que la protéine REC8 qui vient s'ajouter aux cohésines mitotiques (Golubovskaya *et al.*, 2006). Ces complexes protéiques forment des structures d'anneaux composés de plusieurs sous unités et entourant les chromatides sœurs. La première division méiotique appelée « division réductionnelle » permet le passage d'une cellule diploïde à deux cellules haploïdes. Cette réduction de ploïdie se déroule en quatre phases : prophase, métaphase, anaphase, et télophase (**Figure 1**). C'est lors de la prophase I que les chromosomes homologues s'apparient et échangent réciproquement du matériel génétique. La prophase I se décompose en cinq phases qui décrivent l'état de compaction des chromosomes et la structure des axes protéiques ancrant les chromosomes : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène, diacinèse. En métaphase I, les centromères des chromosomes appariés sont reliés au fuseau méiotique et s'alignent le long de cet axe. Les chromosomes sont alors condensés, les points d'attachement entre chromosomes homologues sont alors visibles au microscope et sont appelé « chiasmas ». En anaphase I, les liens créés entre les chromatides sœurs sont dégradés sauf au niveau des centromères et les chromosomes homologues commencent ainsi à migrer chacun à un pôle de la cellule. Lorsque les chromosomes ont atteint les pôles du fuseau méiotique, la cellule se divise en deux cellules contenant chacune une copie de chaque homologue. Les chromosomes homologues sont alors constitués de deux chromatides sœurs reliées entre elles au niveau de leur centromère. La deuxième division cellulaire appelée « division équationnelle » peut alors avoir lieu. L'enveloppe nucléaire de chaque cellule fille se dégrade en prophase II et un nouveau fuseau méiotique se forme. En métaphase II, chaque chromosome homologue s'aligne le long de ce fuseau méiotique. Les deux chromatides sœurs sont alors séparées en anaphase II et chaque chromatide migre vers un pôle de la cellule. Lors de la télophase II, les enveloppes

nucléaires de chacun des quatre noyaux sont formées, puis les cellules se séparent conduisant à la formation de quatre gamètes contenant chacun un jeu haploïde de chromosomes (de Massy, 2013; Mercier *et al.*, 2015; Mézard *et al.*, 2015). Après cette description des grandes étapes de la méiose, je vais maintenant décrire les connaissances actuelles sur les mécanismes moléculaires de la prophase I.

1.3 Formation de cassures double brin de la molécule d'ADN

En début de leptotène (**Figure 1$_{(B)}$**), les chromosomes dupliqués ne sont pas encore totalement condensés, ce qui leur donne un aspect de filaments longs et fins. A cette étape, les deux chromatides sœurs sont unies entre elles par des cohésines ainsi que d'autres complexes protéiques, les condensines (Nasmyth & Haering, 2009; Sakuno & Watanabe, 2009, Wood *et al.*, 2010). La chromatine des chromatides sœurs est alors organisée en boucles assez régulièrement espacées le long de l'axe chromosomique (Zickler & Kleckner, 1999,2015). Le processus de recombinaison méiotique débute lorsque des cassures double brin (CDB) de l'ADN sont créés par l'endonucléase SPO11 en association avec de nombreuses autres protéines (**Figure 2**) (**Figure 3**) (Edlinger and Schlögelhofer, 2011; Keeney and Neale, 2006; de Massy, 2013). Des homologues du gène Spo11 sont retrouvés chez de nombreuses espèces et chez l'ensemble des eucaryotes. En grande majorité, le gène Spo11 est unique et fonctionnel, mais chez différentes espèces, il peut exister plusieurs copies de ce gène (Malik *et al.*, 2007), avec même jusqu'à cinq homologues potentiels chez le riz (Jain *et al.*, 2006). Au moins une des copies doit être fonctionnelle pour le bon déroulement de la méiose (Grelon *et al*., 2001; Hartung *et al*., 2007) et chez *A. thaliana,* certaines copies de Spo11 (AtSPO11-3) perdent leur fonctionnalité en méiose et sont impliquées dans des mécanismes tels que l'endoréplication de l'ADN (Stacey *et al.*, 2006). La protéine SPO11 présente une forte homologie de séquence avec la protéine TOPOVI-A, qui est une sous unité catalytique de la topoisomérase VI qui présente une activité catalytique permettant le clivage des deux brins de l'ADN (Keeney *et al.*, 1997). Il a été rapporté récemment chez les plantes et animaux que la protéine SPO11 forme un complexe protéique avec la protéine TOPOVIB-Like, cette protéine présentant également une bonne conservation chez les eucaryotes (Vrielynck *et al.*, 2016). Chez *S. cerevisiae*, l'interaction entre 9 protéines localisées sur l'axe chromosomique et formant quatre complexes protéiques est nécessaire à la formation des CDB (Forterre *et al.*, 2007; de Massy, 2013). Leurs rôles respectifs sont mal connus mais ces protéines sont partiellement conservées chez les eucaryotes étudiés, ce qui semble indiquer des mécanismes de formation des CDB communs aux différentes espèces.



Gene	*Arabidopsis*	Rice	Maize	*Amborella*	Yeast	Mouse	Human
Double-strand break formation							
SPO11-1	●	●	●	●	●	●	●
SPO11-2	●	●	●	●			
MTOPVIB	●	●	●	●		●	●
PRD1	●	●	●	●		●	●
PRD2	●	●	●	●	●	●	●
PRD3	●	●	●	●			
DFO	●	●●	●	●			
PCH2	●	●	●	●	●	●	●
PHS1	●	●	●	●●	●	●	●
Double-strand break end resection							
MRE11	●	●	●●	●	●	●	●
RAD50	●	●	●	●	●	●	●
NBS1	●	●	●	●	●	●	●
Recombination intermediate formation							
RAD51	●	●●	●●	●	●	●	●
DMC1	●	●●	●●	●	●	●	●
DNA synthesis in meiotic recombination							
POL2A	●●	●	●●	●	●	●	●
RFC1	●	●	●	●	●	●	●
POLD1	●	●	●	●	●	●	●
Crossover							
MUS81	●	●	●	●	●	●	●
MSH4	●	●	●	●	●	●	●
MSH5	●	●	●●	●	●	●	●
HEI10	●	●	●●	●	●	●	●
MLH1	●	●	●	●●	●	●	●

● Known function in meiotic recombination
● Known divergent function
● Unknown function
● Known function in mitosis

Figure 2 : Gènes impliqués dans la recombinaison chez différentes espèces

Le nombre de cercles indique le nombre de copies du gène. Les gènes sont groupés par catégorie fonctionnelle. Figure issue de (Wang and Copenhaver, 2018)

1.4 Maturation des cassures double brin

Un complexe protéique vient ensuite déloger la protéine SPO11, qui était attachée de façon covalente aux extrémités 5' de l'ADN, en clivant l'ADN en 3' de SPO11 (**Figure 3**). Ce complexe composé de Mre11, Rad50, et Xrs2 chez *S. cerevisiae* (**Figure 2**) est appelé complexe MRX. Chez d'autres espèces, ce complexe est composé des protéines MRE11, RAD50, NBS1, formant le complexe MRN (Neale *et al.*, 2005). A ce complexe s'ajoute la protéine Sae2 chez *S. cerevisiae* et la protéine CTIP chez d'autres espèces (de Massy, 2013). Chez les non mutants, les extrémités 5' de l'ADN sont ensuite dégradées, ce qui permet la formation d'extrémités 3' simple brin, mécanisme appelé résection. Chez *S. cerevisiae*, ce sont les protéines EXO1 et MRE11, ayant une activité exonucléasique, qui dégradent la molécule d'ADN de façon bidirectionelle : EXO1 dans le sens 5' vers 3' et MRE11 dans le sens 3' vers 5' (Garcia *et al.*, 2011). Les extrémités 3' simple brin sont alors recouvertes de complexes protéiques RPA dont on suppose que le rôle est de protéger ces fragments de la dégradation (Aklilu *et al.*, 2014; de Massy, 2013).

1.5 Recherche d'homologie

Des protéines telles que Rad51 et Dmc1 (recombinases catalysant les réactions d'échange de brin) (**Figure 3**) s'accrochent alors à ces filaments d'ADN simple brin remplaçant le complexe RPA et favorisent la recherche d'homologie (Bishop, 1994; Bishop *et al.*, 1992; Sheridan *et al.*, 2008). Comme la protéine RECA chez *E. coli*, ces deux recombinases ont la capacité de reconnaître l'homologie de séquence et de polymériser l'ADN (Brown and Bishop, 2014). Chez *S. cerevisae*, la formation de connexions entre homologues est conservée chez les mutants rad51, mais pas chez les mutants dmc1, ce qui suggère un rôle différent de ces deux protéines. Une des deux extrémités simple brin de chaque CDB va donc rechercher puis envahir une matrice d'ADN homologue intacte, ce qui forme une boucle appelée D-Loop (**Figure 4**$_{(d)}$). Cette recherche d'homologie se fait par essais successifs *via* l'invasion des filaments simple brin vers une matrice d'ADN homologue intacte (Hunter, 2015). Dans une méiose diploïde, cette matrice est présente d'une part sur le chromosome homologue et d'autre part sur la chromatide sœur. Mais le choix de la matrice est biaisé et le chromosome homologue est préférentiellement utilisé comme matrice pour la réparation des CDB (Jackson and Fink, 1985; Kadyk and Hartwell, 1992 ; Humphryes and Hochwagen, 2014). Ce phénomène, appelé biais inter-homologue permet la création d'un lien physique entre homologues, ce qui est essentiel à une ségrégation correcte des chromosomes en anaphase I (de Massy, 2013; Mercier *et al.*, 2015).

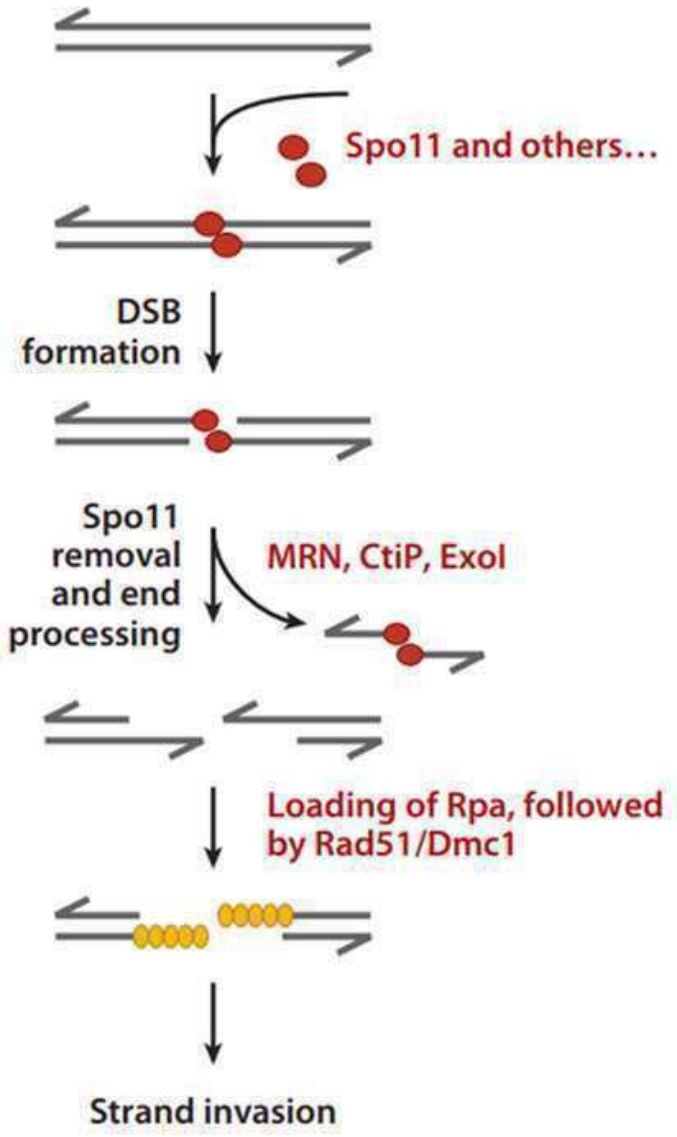


Figure 3 : Formation et maturation des cassures double brin

Un dimère de protéine Spo11 se lie à l'ADN *via* un processus nécessitant de nombreuses autres protéines. Après clivage, la protéine Spo11 est détachée, emportant avec elle un fragment d'ADN lié. Les extrémités libres sont maturées formant des extrémités 3' simple brin libres qui sont protégées par la protéine Rpa. Ces fragments sont pris en charge par les protéines Rad51 et Dmc1 et vont envahir le chromosome homologue. Figure issue de (de Massy, 2013)

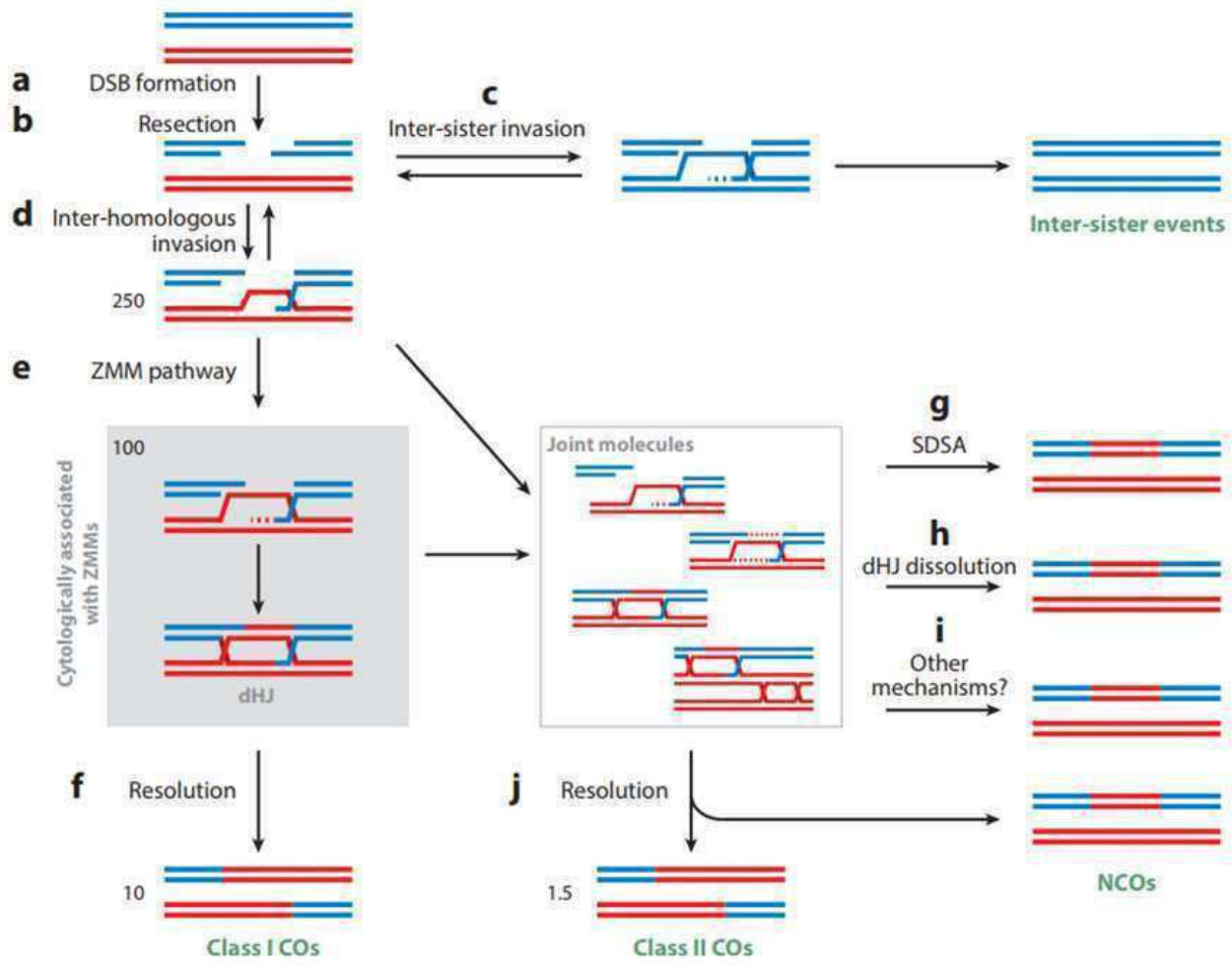


Figure 4 : Modèle schématique des mécanismes de recombinaison homologue

La recombinaison méiotique est initiée par la formation de cassures double brin (CDB) de la molécule d'ADN (a). Ces CDB sont maturées et forment des extrémités 3' simple brin (b). Ces extrémités peuvent alors envahir soit la chromatide sœur intacte (c), ou bien l'une des deux chromatides du chromosome homologue formant une D-loop (d). Ces intermédiaires peuvent être protégés par les composant du complexe ZMM (e), et former des doubles jonctions de Holliday (dHJ) qui peuvent être résolues en crossing over de classe I (f) ou maturées en NCO selon différentes voies : SDSA (g), dHJ dissolution (h), et d'autre mécanismes possibles (i). En plus de cela, une voie de formation indépendante du complexe ZMM produit des CO de classe II qui sont non interférents (j). Les nombres indiqués correspondent au nombre de chaque événement dans le cas de *A. thaliana*. Figure issue de (Mercier *et al.*, 2015)

1.6 Appariement des chromosomes homologues

Cet appariement commence en leptotène (**Figure 1**$_{(B)}$), les chromosomes se condensent puis, chez la majorité des espèces, les télomères de chaque chromosome sont ancrés à l'enveloppe nucléaire (Harper *et al.*, 2004). Chez divers organismes, cette localisation des télomères permet au cytosquelette cellulaire d'imprimer aux chromosomes un mouvement à l'intérieur du noyau (Koszul and Kleckner, 2009; Lee *et al.*, 2015; Shibuya *et al.*, 2014a, 2014b; Storlazzi *et al.*, 2003). En fin de leptotène, les chromosomes forment ainsi une organisation particulière appelée « bouquet » (**Figure 5**) (Scherthan, 2001; Zickler and Kleckner, 2016). Le « bouquet » se caractérise par le fait que les chromosomes sont attachés par leurs télomères à une partie délimitée de l'enveloppe nucléaire. Le regroupement des chromosomes dans une partie délimitée du noyau ainsi que le mouvement imprimé par le cytosquelette sont supposés aider l'appariement des homologues, d'une part en faisant se rencontrer les chromosomes et d'autre part en cassant les possibles appariements entre régions non homologues. La dynamique des chromosomes pendant la méiose est une étape essentielle à leur appariement. Dans la plupart des organismes, les CDB sont catalysées par la topoisomérase-like Spo11 qui interragit avec l'axe chromosomique par l'intermédiaire de la protéine Spp1 (**Figure 6**).

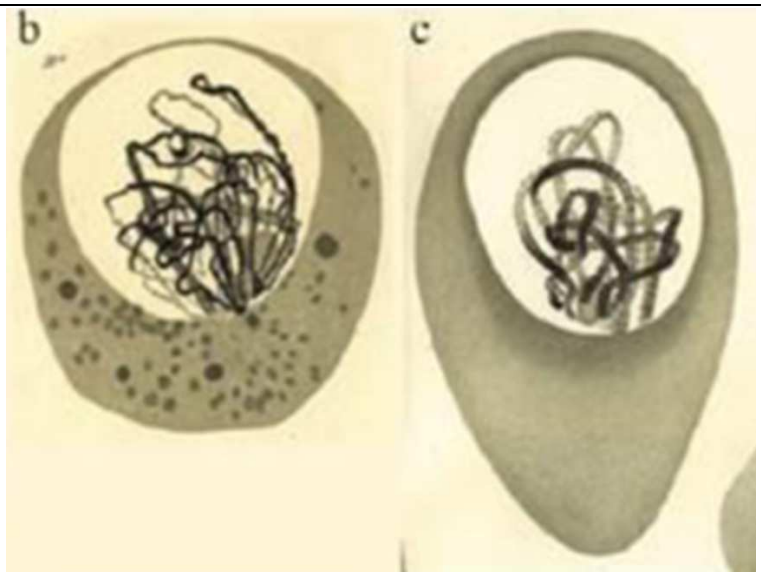


Figure 5 : Observations microscopiques du « bouquet »
Organisation en « bouquet » des chromosomes chez *Dendrocoelum lacteum*, (b) en zygotène et (c) en pachytène. Figure issue de (Zickler and Kleckner, 1998, 2016)

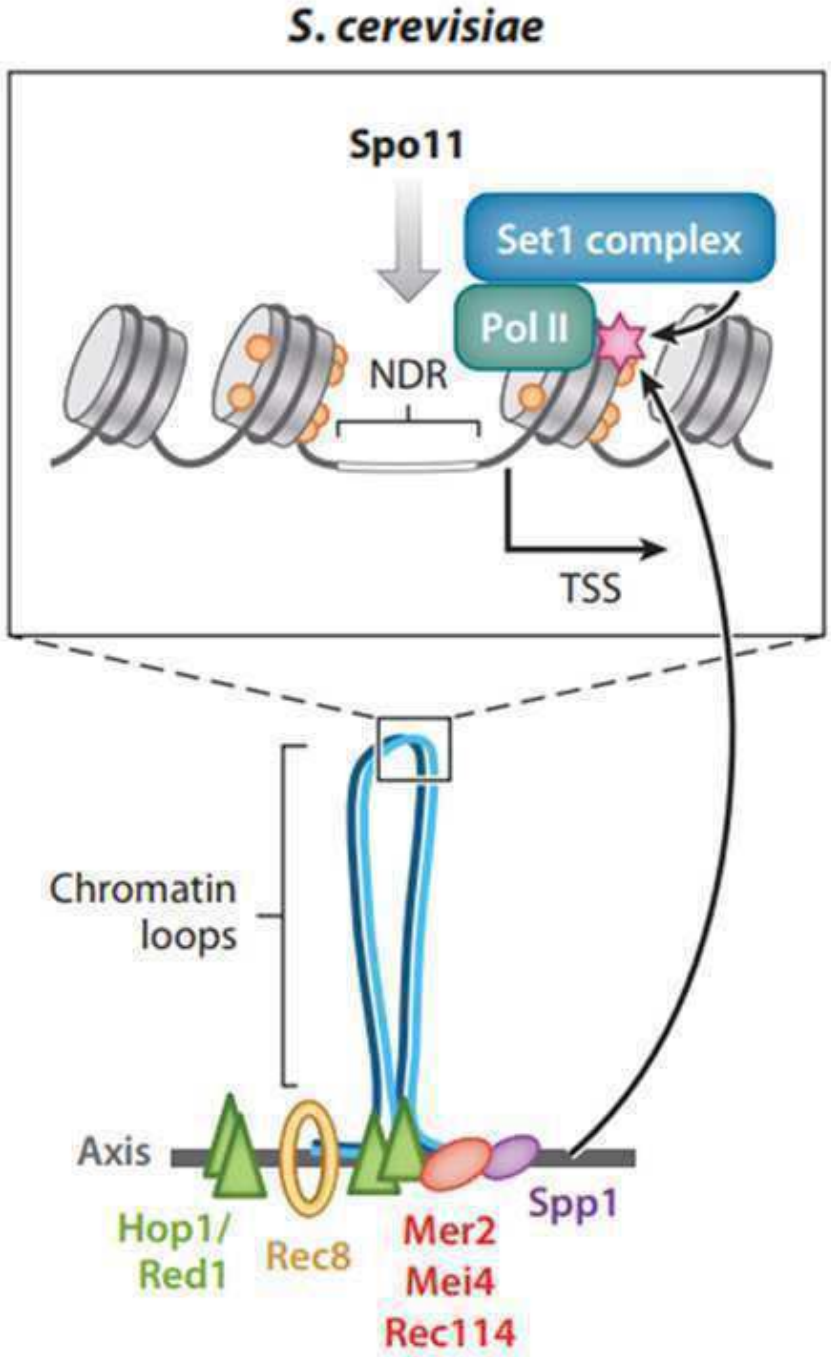


Figure 6 : Modèle d'interaction de la protéine Spo11 avec l'axe des chromosomes
Chez *S. cerevisiae*, la protéine Spo11 se fixe sur les régions accessibles du nucléosome (NDR) qui sont proches des sites d'initiation de transcription (TSS), puis interagit avec l'axe chromosomique par l'intermédiaire de la protéine Spp1. De nombreuses protéines essentielles à la formation des cassures double brin sont associées avec l'axe chromosomique et peuvent interagir avec les sites de cassure. Figure issue de (de Massy, 2013)

1.7 Formation du complexe synaptonémal puis des chiasmas

Une fois l'homologie trouvée, les protéines des éléments centraux du complexe polymérisent sous l'action des protéines SCP1 chez les mammifères (Meuwissen *et al.*, 1992), ou du complexe de protéines ZMM chez la levure comprenant les protéines Zip1, Zip2, Zip3, Zip4, Mer3, Msh4, et Msh5 (Börner *et al.*, 2004). Cette polymérisation le long des homologues conduit à la propagation du complexe synaptonémal tout le long des chromosomes. Ce complexe est composé de deux éléments latéraux et d'un élément central, connectés ensemble par des filaments transversaux, les deux chromatides homologues étant disposées en boucles attachées aux éléments latéraux **(Figure 7**) (Page and Hawley, 2004). A cette étape, le complexe synaptonémal peut être observé au microscope éléctronique et les protéines qui le composent en immunofluorescence. Il est suggéré *via* des observations chez *Sordaria macrospora* que les sites d'initiation du complexe synaptonémal sont soumis à « interférence » de manière à assurer la formation régulière du complexe synaptonémal sur toute la longueur du chromosome (Zhang *et al.*, 2014a ; voir revue de Zickler and Kleckner, 2016). Chez la plupart des espèces, l'appariement et la reconnaissance des homologues sont dépendants de la formation des CDB, et semble être un pré-requis au synapsis. Cependant, chez *C. elegans* ou *D. melanogaster*, l'étape de synapsis est indépendante de la formation des CDB (Woglar and Jantsch, 2014). L'appariement des homologues reste donc encore un processus en partie mystérieux. L'entrée en pachytène se fait lorsque la polymérisation du complexe synaptonémal est continue sur l'ensemble des chromosomes. Les chromosomes homologues sont alors associés l'un à l'autre sur toute leur longueur. C'est à cette étape que les nodules tardifs de recombinaison peuvent être observés en cytologie (**Figure 8**) (Carpenter, 1975). Ces nodules tardifs correspondraient aux sites de formation des liens physiques entre homologues, les crossing-overs (CO). En pachytène, le complexe synaptonémal est complètement polymérisé (Parvinen and Söderström, 1976 ; Page and Hawley, 2004). En diplotène, le complexe synaptonémal est dépolymérisé, les protéines composant l'élément central étant dissociées des chromosomes (Tsubouchi and Roeder, 2005), les CO qui sont alors les seuls points de liaison entre chromosomes homologues sont visibles en microscopie et on leur donne le nom de « chiasmas » (**Figure 9**). A cette étape, les homologues sont attachés par les sites de chiasma, ils forment alors une structure observable en microscopie photonique que l'on nomme « bivalents » (**Figure 9**).

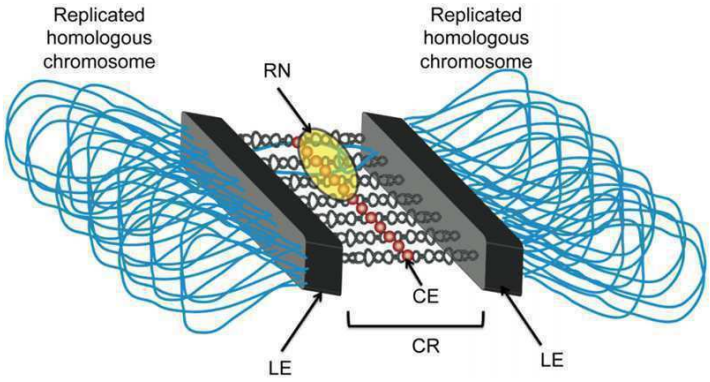


Figure 7 : Représentation schématique du complexe synaptonémal

Les chromosomes homologues répliqués sont ancrés aux éléments latéraux (LE) du complexe synaptonémal (SC). Les échanges de matériel génétique entre homologues (CO) ont lieux au niveau des nodules tardifs de recombinaisons (RN) qui sont attachés à la région centrale (CR). L'élément central (CE) est représenté en rouge. Figure issue de (Abrahan Hernández-Hernández *et al.*, 2012)

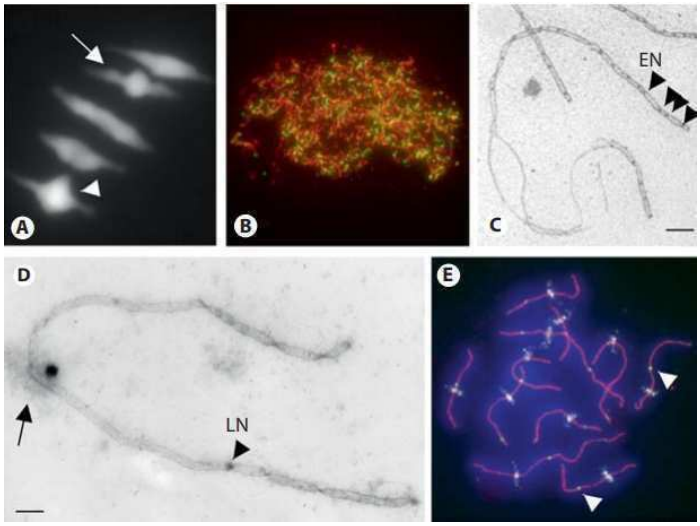


Figure 8 : Observation microscopique de différents marqueurs de recombinaison

A-Coloration DAPI en métaphase I d'un méiocyte mâle d'*A. thaliana*. Les bivalents avec un seul chiasma sont indiqués par une flèche et ceux avec deux chiasmas sont indiqués par un triangle. B-Immunofluorescence d'un étalement de pollen d'*A. thaliana*. Anticorps anti-ASY1 (rouge), anti-DMC1 (vert). C- Complexe synaptonémal (SC) chez la tomate en zygotène. Les nodules précoces de recombinaison (EN) sont indiqués par des flèches. D-Complexe synaptonémal chez la tomate en milieu de pachytène. Un nodule tardif de recombinaison (LN) est indiqué par une tête de flèche et un kinétochore par une flèche. E-Immunofluorescence d'un étalement de pollen de tomate. Avec des anticorps anti-MLH1 (vert), anti-SMC1 (rouge), anti CENPC (gris) et DAPI (bleu). Les foci MLH1 sont indiqués par des pointes de flèche. Figure issue de (Muyt *et al.*, 2009)

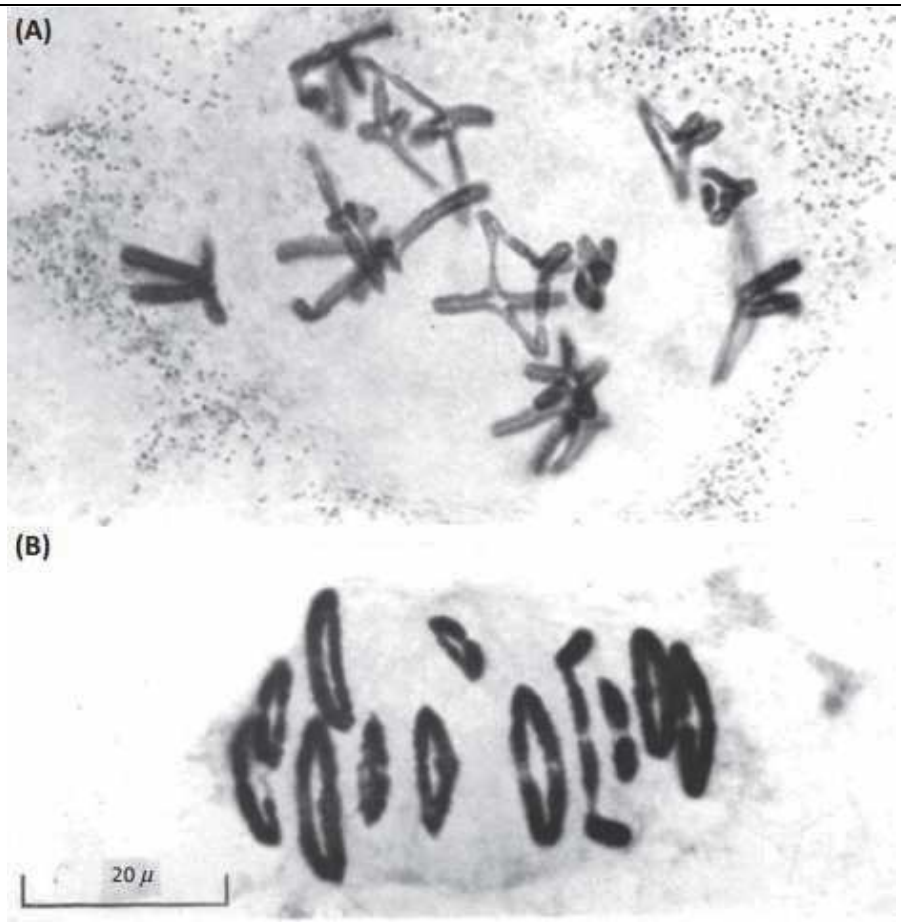


Figure 9 : Observation microscopique de chiasmas dans un noyau de méiocyte

Observation de bivalents en métaphase I de *T. helveticus*. (A) Oocyte, ou (B) spermatocyte. Chez les oocytes, la localisation des chiasmas est soit centromérique soit télomérique, formant différentes configurations de bivalents, alors que chez les spermatocytes, la localisation des chiasmas est distale ce qui forme des bivalent en forme d'anneaux. Figure issue de (Mézard *et al.*, 2015; Watson and Callan, 1963)

1.8 Résolution des chiasmas et phase post synaptique

Les chromosomes se condensent ensuite en diacinèse (**Figure 1**$_{(F)}$) et sont attachés au fuseau méiotique et entrer en métaphase I. Les deux kinétochores de chaque chromosome étant spécifiquement orientés dans le même sens en méiose, une fois les microtubules du fuseau méiotique reliées à ces kinétochores, les bivalents se placent sur le plan métaphasique. Chaque chromosome homologue est alors relié *via* son kinétochore à un pôle différent de la cellule ce qui créer une tension en sens opposé sur chaque kinétochore. Une fois tous les bivalents reliés au fuseau méiotique, l'anaphase I débute. La protéine APC/C qui est une E3 ubiquitine ligase est alors activée et va dégrader la sécurine, protéine impliqués dans le maintien de la connexion entre chromatides sœurs (e.g. Peters, 2006 ; Pesin and Orr-Weaver, 2008 ; Niu et *al.*, 2015). En méiose, cette dégradation des cohésines n'a pas lieu au niveau des centromères des chromosomes, ceux-ci étant protégés de la dégradation par la phosphatase PP2A, recrutée par la protéine SGO (Jonak *et al.*, 2017). Les chiasmas vont alors être résolus et sous l'effet des forces du fuseau méiotique, les chromosomes homologues vont se séparer et migrer vers les pôles opposés de la cellule puis se décondenser en télophase I. La première division de méiose aboutit donc généralement à la formation de deux cellules contenant chacune un lot de chromosomes formés de deux chromatides reliées entre elles au niveau des centromères par des cohésines dont essentielemnt la protéine REC8. En prophase II, les chromosomes sont condensés, ils s'alignent sur la plaque métaphasique en métaphase II, puis en anaphase II, les cohésines centromériques sont dégradées, les chromatides sœurs sont séparées et migrent chacune vers un pôle de la cellule (Gómez *et al.*, 2007, 2014). L'enveloppe nucléaire est alors formée en télophase II. On obtient ainsi quatre gamètes contenant chacun un jeu complet haploïde de chromosomes.

Nous avons maintenant une vue globale des mécanismes moléculaires impliqués dans chacune des différentes étapes de la prophase I de méiose. Je vais maintenant entrer dans le détail de la recombinaison méiotique et présenter les différentes voies moléculaires utilisées afin de réparer les cassures doubles brin de l'ADN. Je présenterai ensuite les produits de ces voies de réparation et leurs conséquences génétiques.

1.9 Les différentes voies de réparation des cassures double brin

Les lésions de l'ADN de type CDB sont nombreuses au cours de la vie cellulaire et doivent être réparées sous peine d'être délétères car elles peuvent conduire à de mauvaises ségrégations, à des réarrangements ou à l'apoptose. La réparation de ces cassures peut être faite par jonction d'extrémités

non homologues (NHEJ) ou par recombinaison homologue (RH) en utilisant un ADN matrice (**Figure 4**). La réparation de type NHEJ est courante pour les cellules mitotiques et consiste à ligaturer les deux extrémités cassées de la molécule d'ADN. Ce mécanisme ne nécessite pas d'homologie et provoque des erreurs (Le Guen *et al.*, 2014). Durant la méiose, la réparation des CDB se fait rarement *via* NHEJ mais plutôt par RH. Chez la souris, la protéine KU70, indispensable à la réparation de type NHEJ, est indétectable par cytologie en début de prophase I de méiose dans le noyau. La présence de cette protéine dans le noyau aux différentes phases cellulaires orienterait donc la réparation des CDB via NHEJ dans le cas des cellules somatiques ou via RH dans le cas de la division méiotique (Goedecke *et al.*, 1999). La réparation *via* RH nécessite un ADN matrice qui peut être trouvé sur la chromatide sœur (Callender and Hollingsworth, 2010; Goldfarb and Lichten, 2010), ne laissant pas de trace génétique, ou sur le chromosome homologue. Elle permet ainsi de reconstruire le segment d'ADN manquant. Pendant la méiose, c'est préférentiellement l'homologue qui est utilisé comme matrice pour la RH, *via* les protéines MEK1 et REC8. La réparation par RH aboutit à la formation de deux types de situations : les crossing-overs (CO) et les non crossing-overs (NCO) (**Figure 4**). Les CO conduisent à un échange réciproque entre homologues d'un long fragment d'ADN allant du point de cassure à l'extrémité du chromosome en présence d'un seul CO, ou d'un CO à l'autre s'il y en a plusieurs. Les NCO sont quant à eux des événements locaux de conversion d'un petit fragment d'ADN (Baudat and de Massy, 2007). Les CO assurent également le lien physique entre homologues indispensable pour une ségrégation correcte en anaphase I. Ainsi, il est indispensable d'avoir au minimum un CO par paire de chromosomes homologues (CO obligatoire) (Jones and Franklin, 2006), sous peine de phénomènes d'aneuploïdie des gamètes. Les mécanismes de formation des CO et NCO ne sont pas totalement élucidés, mais les modèles de RH sont basés sur la formation d'intermédiaires simples brins d'invasion. Le modèle expliquant la formation de CO et NCO est le modèle de DSBR (double strand break repair; Szostak *et al.*, 1983; Cao *et al.*, 1990) qui repose sur la formation puis la résolution d'une structure à brins croisés d'ADN appelée « Jonction de Holliday » (JH) (Holliday, 1964) (**Figure 4**). Au cœur de cette recherche d'homologie par les fragments d'ADN simple brin réside la formation des D-loop, formées par l'ouverture de l'ADN double brin de l'homologue et l'insertion de l'ADN simple brin qui a été maturé après CDB. Une fois l'homologie trouvée on passe à la synthèse d'ADN étendant le simple brin par polymérisation et utilisant l'homologue comme matrice. Cette extension pourra donc arriver jusqu'à la séquence associée à l'autre brin résultant de la CDB avec formation concomitante d'un double brin partiellement réparé. Finalement, les bases manquantes sur la chromatide sont réparées *via* « gap repair » et les extrémités sont liguées, ce qui

conduit à la formation d'une seconde jonction de Holliday. Cette double jonction de Holliday est ensuite résolue par une ou plusieurs endonucléase qui coupe symétriquement chaque côté de la molécule d'ADN qui sont ensuite re-liguées (Schwartz and Heyer, 2011). Deux des quatre brins seulement sont coupés par l'endonucléase, et en fonction des brins coupés, la résolution conduit à la formation d'un CO ou d'un NCO (**Figure 10**).Dans le cas de mutants avec des défauts de formation des CO (mutant *zmm* d'abord observés chez la levure), le nombre de CO est fortement diminué, mais le nombre de NCO reste constant (Bishop and Zickler, 2004). Ceci a conduit à la description de différents modèles successifs. Le point de vue actuel est que plusieurs voies de réparation peuvent être utilisées et conduire à la formation de CO et de NCO, ces voies de réparation n'étant pas indépendantes les unes des autres. Les facteurs influençant la réparation des CDB vers la voie conduisant à la formation de CO ou la voie conduisant à la formation de NCO sont encore peu connus (Youds and Boulton, 2011). Les CO peuvent être formés selon deux voies, impliquant ou non la résolution de doubles jonctions de Holiday (**Figure 4**). Ces deux types de CO sont donc formés en impliquant des protéines différentes (Berchowitz *et al.*, 2007; Higgins *et al.*, 2008; Macaisne *et al.*, 2011). Les CO de classe I ne se forment pas à proximité l'un de l'autre, phénomène que l'on appelle interférence, tandis que les CO de classe II sont non–interférents (Berchowitz and Copenhaver, 2010), mais ces deux types de CO peuvent cohabiter dans des proportions relatives différentes entre sexes, génotypes, et le long du génome (Basu-Roy *et al.*, 2013; Falque *et al.*, 2009; Girard *et al.*, 2014; Youds and Boulton, 2011).

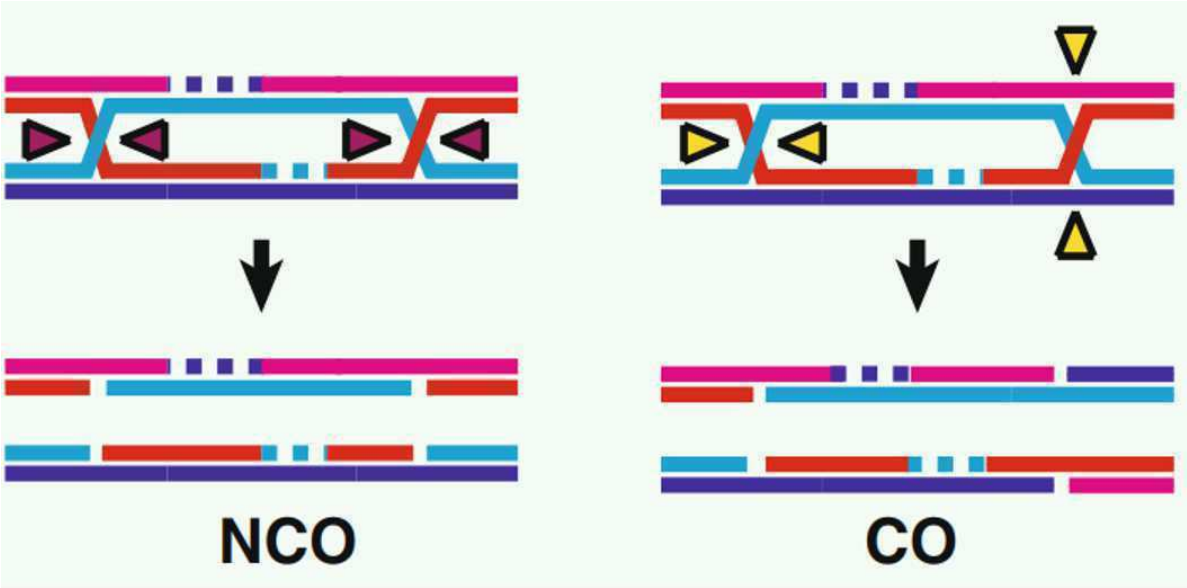


Figure 10 : Résolution des jonctions de Holliday
Figure issue de (Schwartz and Heyer, 2011)

1.9.1 La voie de formation des crossing-overs interférents

Les CO de classe I sont presque toujours majoritaires. Chez *S. cerevisiae*, ils représentent 70% de l'ensemble des CO, 85% chez *A. thaliana*, et 100% chez *C. elegans* (Börner *et al.*, 2004). Ces CO de classe I sont le produit de la réparation des CDB avec formation d'une double jonction de Holliday (DJH) qui est stabilisée par un complexe de protéines de la famille ZMM (**Figure 4**) composé de ZIP1-ZIP2-ZIP3-ZIP4-SPO16, de MSH4-MSH5 et de MER3 chez *S. cerevisiae* (Youds and Boulton, 2011; Arora and Corbett, 2018). Ce complexe a des homologues chez la plupart des autres espèces. Les mutants du complexe ZMM présentent une diminution du nombre de CO. Cependant, il y a plus de foyers ZMM que de CO en début de prophase I, ce qui laisse penser que tous les foyers ZMM (à l'exception de Zip3 chez *S. cerevisiae*) ne correspondent pas à des CO. Les doubles jonctions de Holliday sont résolues par un clivage asymétrique ce qui conduit à un échange réciproque de matériel génétique entre chromosomes (Schwartz and Heyer, 2011). La résolution des doubles jonctions de Holliday est réalisée en partie par les protéines MLH1 et MLH3, et la protéine MLH1 co-localise avec les CO dépendants des complexes ZMM (Zakharyevich *et al.*, 2012) La formation d'un CO est généralement associée avec l'échange non réciproque (appelé conversion génique) d'un court fragment d'ADN depuis l'homologue vers le fragment d'ADN portant les CDB. . Chez *S. cerevisiae*, ce fragment a une taille d'environ 2 kb (Mancera *et al.*, 2008). Ce phénomène est aussi appelé conversion génique, on peut noter qu'il provoque des changements de fréquence allélique car les allèles d'un locus hétérozygote au niveau d'une conversion ségrégeront en 3 :1 au lieu de 2 :2.

1.9.2 La voie de formation des crossing-overs non interférents

Les CO de classe II ne sont pas dépendants de la voie ZMM. Ils sont minoritaires chez la plupart des organismes exceptés pour la levure *S. pombe* pour laquelle cette voie de formation des CO est unique (Yamashita *et al.*, 2017). La formation des CO de classe II fait intervenir la protéine MUS81 qui est très conservée chez les eucaryotes (Berchowitz *et al.*, 2007; Youds and Boulton, 2011). Chez *S. cerevisiae*, MUS81 agit de pair avec MMS4 (connue sous le nom de EME1 chez les autres espèces) ; ce complexe entraînerait le clivage des deux brins de l'homologue intact avant formation de la DJH, formant alors une simple jonction de Hollyday, ce qui permettrait à ces extrémités de se ligaturer avec les extrémités simple brin invasives, entraînant alors un échange réciproque de matériel génétique entre homologues (**Figure 4**) (de los Santos *et al.*, 2001; Schwartz *et al.*, 2012).

1.9.3 La voie de formation des non crossing-overs

Les Non Crossing-Over (NCO) sont le produit de la réparation des CDB sans échange réciproque de matériel génétique entre homologues et sont observés chez *S. cerevisiae* (Mancera *et al.*, 2008a) et d'autres champignons, le maïs (Dooner, 2002) et *A. thaliana* (Lu *et al.*, 2012; Wijnker *et al.*, 2013) et les mammifères (Jeffreys et May, 2004). Leur formation peut suivre différentes voies faisant intervenir ou non une DJH. Le modèle actuel propose que les NCO sont majoritairement issus d'une voie appelée SDSA (Synthesis-Dependent Strand Annealing) (**Figure 4g**) intervenant après formation de D-Loop et avant formation de DJH (Mercier *et al.*, 2015). La molécule simple brin envahissante se dissocierait de l'homologue avant formation de la jonction de Holliday puis se réassocierait à l'autre extrémité de la CDB, formant ainsi un NCO. Une autre partie des NCO pourrait résulter de la dissolution des DJH impliquant des activités hélicase et toposiomérase portées par le complexe protéique SGS-TOP3-RMI1 chez *S. cerevisiae* (Klein and Symington, 2012). Dans un cas comme dans l'autre, un ADN re-synthétisé à partir de l'homologue vient prolonger le brin invasif. Le fragment échangé non réciproquement depuis l'homologue matrice vers le fragment d'ADN portant les CDB est plus petit que dans le cas des CO, sa taille étant comprise entre 50bp et 300bp chez la majorité des espèces (Guillon *et al.*, 2005 ; Jeffreys and May, 2004 ; Baudat and de Massy, 2007). Chez *S. cerevisiae*, ce fragment a une taille d'environ 1.8 kb, ce qui est significativement plus petit que le fragment de conversion génique formé lors des évènements de CO (Mancera *et al.*, 2008; Terasawa *et al.*, 2007) .

1.9.4 Cas de la recombinaison ectopique

La recombinaison peut se faire entre séquences non strictement homologues et se produire par exemple entre des zones répétées du génome (Lichten at Goldman, 1995 ; Opperman *et al.*, 2004 ; Pan *et al.*, 2011 ; Sasaki *et al.*, 2013 ; Yamada *et al.*, 2017) . Les régions résultant de duplication portées par exemple par des éléments transposables, présentent une homologie locale de séquence et peuvent donc produire des recombinaisons homologues non-alléliques (NAHR) (**Figure 11**). Ces recombinaisons peuvent produire des réarrangements structuraux tels que des délétions, des inversions, ou des duplications (Youds and Boulton, 2011).

La recombinaison méiotique, en fonction des différentes voies de réparation utilisées, peut donc aboutir à la formation de différents événements ayant des conséquences génétiques différentes. Ces différentes voies de réparation ne sont pas indépendantes les unes des autres, et les mécanismes orientant la réparation des CDB vers une voie plutôt qu'une autre sont peu connus.

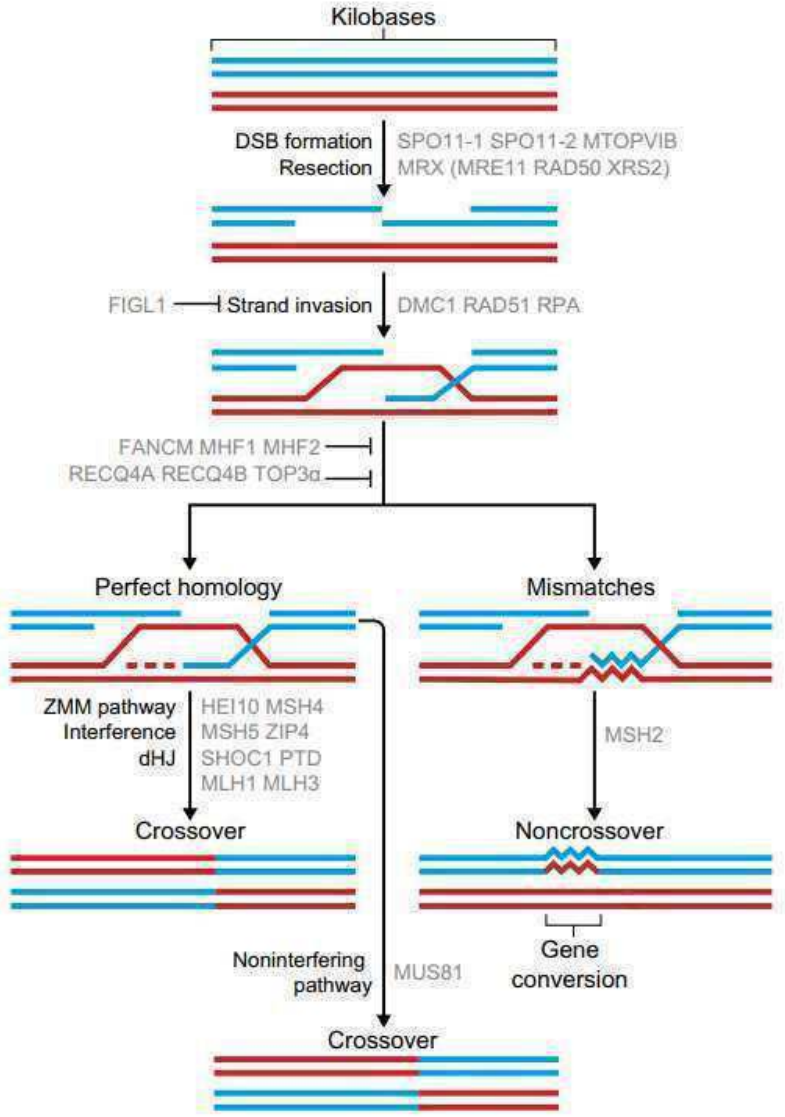


Figure 11 : Modèle de différentes voies de réparation des cassures doubles brin

Après CDB *via* le complexe SPO11-1/SPO11-2/MTOPVIB sur le chromosome bleu puis résection par le complexe MRX, des extrémités 3' simple brin sont formées. Sous l'action des recombinases DMC1 et RAD51, ces extrémités simple brin protégées par la protéine RPA envahissent le chromosome homologue coloré en rouge, formant une boucle (D-loop). Les protéines du groupe de complémentation fonctionnelle formé de FANCM, MHF1, MHF2, FIDGETINLIKE1 (FIGL1), RECQ4A, RECQ4B et TOPOISOMERASE3a (TOP3a) agissent à différents niveaux comme facteurs anti crossing over en désagrégeant ou inhibant les évènements d'invasion simple brin. Deux scénarios sont représentés : (1) en l'absence de différence de séquence entre les homologues, après formation d'une double jonction de Hollyday, la réparation peut se faire suivant la voie ZMM et conduire à la formation de crossing-over, ou bien suivre la voie MUS81 et conduire à la formation de crossing-over non interférent. (2) la présence de divergence de séquence entre les homologues inhibe la formation de la double jonction de Holliday et il n'y a pas formation d'hétéroduplexe. La réparation peut alors se faire *via* la voie MSH2 et conduire à la formation de NCO et d'un évènement de conversion génique incluant des mésappariements. Figure issue de (Ziolkowski and Henderson, 2017)

1.10 La régulation de la recombinaison méiotique

Il existe plusieurs voies de réparation des cassures double brins de l'ADN menant à différents types de produits décrits dans le paragraphe précédent. Ces mécanismes, multiples et complexes, peuvent être contrôlés à différents niveaux, ce qui permet une certaine régulation de la recombinaison, à l'échelle du génome entier ou de certaines portions du génome.

1.10.1 Les voies anti crossing-overs limitent le nombre de crossing-overs

L'ensemble des CDB ne sont pas réparées en CO. Le nombre de CDB est plus important que le nombre de CO, par exemple chez *S. cerevisiae* on a en moyenne 160 CDB et 95 CO pour un ratio DSB/CO proche de 2 (Chen *et al.*, 2008; de Massy, 2013). Chez d'autres espèces, ce ratio peut aller jusqu'à 50, chez *A. thaliana*, environ 10 CO sont formés à partir de 150 à 250 CDB (Youds and Boulton, 2011). Ainsi, on peut supposer que certains mécanismes favorisent ou inhibent la réparation des CDB en NCO plutôt qu'en CO. Toujours chez *A. thaliana*, des études de restauration de fertilité chez des mutants *zmm, zip4-2* ne présentant pas de CO de classe I on conduit à l'identification de gènes « anti-crossover » (**Figure 11**) (Girard *et al.*, 2014; Séguéla-Arnaud *et al.*, 2015, 2017). Ces études ont mis en évidence la présence de trois voies limitant le nombre de CO. Les mutants fancm présentent trois fois plus de CO que le phénotype sauvage et les doubles mutants *recq4a/recq4b* six fois plus. Les CO surnuméraires de ces deux mutants sont de classe II ce qui indique une réparation des CDB en CO de classe II chez ces mutants. La protéine FIGL1 a le même phénotype mais un mode d'action différent puisque le double mutant *figl1/fancm* a un effet non additif par rapport aux simples mutants. Le mutant *figl1* présente des modifications dans la localisation de RAD51 et DMC1 en méiose laissant penser que FIGL1 à un rôle dans le choix entre CO de classe I et NCO (**Figure 11**) (Fernandes *et al.*, 2018a). Le triple mutant *recq4a, 4b, figl1*, quant à lui, montre un taux de recombinaison augmenté de 9 fois (Fernandes *et al.*, 2018b). Cependant, la somme du nombre de CO et de NCO ne correspond toujours pas au nombre de CDB. Cette différence pourrait être expliquée par le fait que le nombre de NCO est souvent sous-estimé puisque ceux-ci ne peuvent pas être détectés sans polymorphisme. Une autre hypothèse serait qu'une partie des CDB serait réparée *via* la chromatide sœur ne laissant ainsi aucune signature détectable.

1.10.2 L'assurance d'avoir au minimum un crossing-over par paires d'homologues

Pour une ségrégation correcte des chromosomes dans les gamètes, les homologues doivent être liés par au minimum un CO. Cependant, chez de nombreuses espèces présentant un faible nombre de CO par méiose, une répartition aléatoire de ces CO sur les chromosomes ne permettrait pas que chaque paire d'homologues soit liée par un chiasma, ceci étant d'autant plus important chez les espèces présentant des chromosomes de différentes longueurs. Mais ce n'est pas ce qui est observé, les CO sont répartis sur les chromosomes de façon à ce que chaque bivalent forme au minimum un CO (le CO obligatoire*)* phénomène appelé « CO assurance » (Wang and Copenhaver, 2018).

1.10.3 L'homéostasie assure un nombre stable de crossing-overs

Chez diférents mutants de *S. cerevisiae* hypomorphes spo11, la baisse de la fréquence des CDB provoque en général peu ou pas de diminution du nombre de CO. Quelques régions du génome voient tout de même leur nombre de CO diminuer significativement, mais ceci dans une proportion bien moindre que la diminution du nombre de CDB. En revanche, le nombre des NCO diminue notablement avec la diminution des CDB chez les mutants (Martini *et al.*, 2006). Le maintien d'un nombre stable de CO, même avec un nombre de CDB réduit est un phénomène appelé homéostasie. L'homéostasie des CO a été rapportée chez différentes espèces telles que la souris, la levure, la drosophile, et *C. elegans* (Cole *et al.*, 2012; Martini *et al.*, 2006; McKim *et al.*, 1993; Mehrotra and McKim, 2006). Le comportement chez différentes variétés élites de maïs semble être différent : la régulation de la recombinaison permet d'assurer le CO obligatoire, mais une fois cette limite atteinte, le nombre de CO semble refléter linéairement le nombre de CDB (Sidhu *et al.*, 2015a).

1.10.4 L'interférence entre crossing-overs module leur répartition

La répartition des CO le long des chromosomes n'est pas aléatoire mais est dans la plupart des organismes étudiés soumise au phénomène d'interférence entre CO. L'interférence positive est le fait qu'il est moins probable d'avoir un second CO à proximité d'un premier lors d'une même méiose que s'ils étaient répartis au hasard (Berchowitz and Copenhaver, 2010). Ainsi, ce mécanisme limite le nombre de CO par méiose et par chromosome, et les CO sont plus régulièrement espacés que s'ils étaient indépendants. Les mécanismes de l'interférence restent encore mal connus. On a tout d'abord pensé que c'est la polymérisation du complexe synaptonémal autour des CO qui limitait les CO adjacents. Mais chez *S. cerevisiae*, la drosophile, et la souris, des mutants zmm et donc sans formation du complexe synaptonémal, présentent une interférence positive, ce qui suggère que le complexe synaptonémal n'est

pas indispensable au phénomène d'interférence (de Boer *et al.*, 2007; Börner *et al.*, 2004; Fung *et al.*, 2004; Page and Hawley, 2001). En observant en parallèle les nodules tardifs et les foci de la protéine MLH1 marquant les CO interférents, une partie seulement des nodules de recombinaison est également marquée par la protéine MLH1, l'autre partie des CO étant non interférents (Anderson *et al.*, 2014).Aucun cas d'interférence entre CO de classe II n'a été trouvé à ce jour, mais chez la tomate, les CO de classe II peuvent interférer avec les CO de classe I (Anderson *et al.*, 2014). Actuellement, on pense que cette interférence se fait très tôt au moment de la transition des CDB en extrémité simple brin invasive, au moment où le complexe Msh4-5 vient stabiliser les simples brins (Bishop and Zickler, 2004 ; Hunter, 2015). Chez la levure, les mutants du gène Tid1, codant une protéine impliquée dans la régulation de l'invasion des simples brins, ont un niveau normal de CO mais une interférence très réduite ce qui suggère que les CDB proches d'un premier CDB devenu CO seraient préférentiellement réparés *via* SDSA (**Figure 4g**) et deviendraient des NCO, ou seraient réparées en utilisant la chromatide soeur (Shinohara *et al.*, 2003). Les CO interférents sont générés *via* la voie (Msh4-5) et les CO non interférents *via* la voie Mus81. La proportion de ces deux types de CO varie selon les espèces, depuis *S. pombe* qui ne présente pas d'interférence, jusqu'à *C. elegans* qui présente une interférence totale avec un seul CO par paire d'homologues. Les mécanismes contrôlant le niveau d'interférence restent très peu connus, et comprendre les relations entre interférence, homéostasie et CO obligatoire serait essentiel d'un point de vue fondamental, mais aussi si l'on souhaite être capable de modifier la recombinaison pour l'amélioration génétique des espèces d'intérêt agronomique. Il est proposé que l'homéostasie, l'assurance du CO obligatoire, et l'interférence, soient les manifestations d'un même processus (Wang *et al.*, 2015). Mais cette hypothèse reste débattue, certaines observations étant contradictoires (Wang and Copenhaver, 2018).

1.10.5 Certains facteurs épigénétiques ont un effet sur la recombinaison

La molécule d'ADN des cellules eucaryotes est enroulée autour de nucléosomes qui sont des octamères de protéines (quatre histones en doublets : H2A, H2B, H3 et H4) formant la chromatine. La chromatine peut être dans un état condensé (hétérochromatine) ou décondensé (euchromatine). La transcription dans l'hétérochromatine est généralement éteinte contrairement à l'euchromatine dans laquelle se trouvent les gènes actifs. Chez les plantes, on observe généralement qu'une large partie péricentromérique et hétérochromatique est quasiment dépourvue de CO, alors que les régions euchromatiques recombinent. Cette différence de comportement fait penser que l'état chromatinien peut jouer un rôle dans la répartition des CO. Chez *Arabidopsis et S. cerevisiae*, les hotspots de

recombinaison sont corrélés avec les marques d'une chromatine active, telles que l'histone modifié γH2AX, la triméthylation de l'histone H3 (H3K4me3), une densité faible en nucléosome et en méthylation de l'ADN (Choi *et al.*, 2013 ; Borde V., and B. de Massy, 2013). Chez *Arabidopsis*, une déficience dans la méthylation de l'ADN augmente le nombre de CO dans les régions euchromatiques mais n'est pas suffisante pour provoquer la recombinaison dans les régions péricentromériques (Melamed-Bessudo and Levy, 2012; Mirouze *et al.*, 2012; Yelina *et al.*, 2015b). Chez *S. cerevisiae*, la protéine Set1 qui est une lysine méthyltransférase, modifie l'état de la chromatine en permettant la triméthylation de l'histone H3K4me3. Chez les mutants set1, les points chauds de CDB sont délocalisés et la fréquence des CDB est réduite (Borde *et al.*, 2009 ; Borde V., and B. de Massy, 2013). L'état chromatinien aurait en fait un rôle plus en amont, directement sur la répartition des CDB. Chez le maïs, il y a corrélation entre taux de recombinaison le long du génome et fréquence d'insertion de transposons *Mu.* L'hypothèse est que l'accessibilité à la chromatine joue un rôle à la fois sur la recombinaison mais aussi sur l'insertion du transposon (Liu *et al.*, 2009). Il est également montré chez le maïs que la répartition des événements de recombinaison est différente entre sexes à une échelle locale, principalement en fonction de l'emplacement des sites de transcription (TSS), des marques de chromatine telles que l'occupation des nucléosomes, et la présence de l'histone modifié H3K4me3. Les différences entre sexe peuvent donc modifier non seulement le nombre de CO, mais aussi leur répartition (Kianian *et al.*, 2018). La désignation des régions du génome où ces marques sont déposées est un processus peu décrit, et une fois ces marques épigénétiques déposées, nous avons peu de connaissances sur les mécanismes faisant le lien avec la modification du niveau de recombinaison

1.10.6 La protéine PRDM9 influence la localisation des crossing-overs chez les mammifères

Chez l'humain et la souris, il est montré qu'un acteur majeur de la spécification des hotspots de recombinaison est le gène Prdm9 (de Massy, 2013). En effet, la protéine correspondante est capable de reconnaître un motif de 13bp enrichi dans les hotspots humains (Baudat *et al.*, 2009; Myers *et al.*, 2009; Parvanov *et al.*, 2009). La protéine PRDM9 catalyse la triméthylation de l'histone H3 sur la lysine 4. Cette protéine a une expression méiose-spécifique et est essentielle pour la fertilité chez la souris (Hayashi *et al.*, 2005). Cette protéine est formée d'un domaine en doigts de zinc permettant la liaison à l'ADN et d'un motif SET-méthyl transférase impliqué dans la triméthylation de l'histone 3 (H3K4me3). La protéine PRDM9, en modifiant l'histone3, jouerait un rôle dans les processus conduisant au recrutement de Spo11.

1.10.7 Effet des modifications post traductionnelles des protéines de recombinaison

Au cours de la vie cellulaire, certaines protéines sont modifiées chimiquement par des enzymes spécialisées. Ces modifications peuvent intervenir à différents moments dans le cycle cellulaire afin de modifier la fonction de la protéine ciblée, sa localisation, ou son temps de vie avant dégradation. L'ensemble de ces modifications est appelé « modifications post-traductionnelles ». Il existe différents types de modifications post-traductionnelles telles que : (1) la sumoylation, qui est la formation d'une liaison covalente d'une protéine SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) sur une lysine de la protéine cible, (2) l'ubiquitination, qui est la fixation covalente de protéine ubiquitine sur des lysines de la protéine cible, (3) la neddylation, qui a un mode d'action similaire à l'ubiquitination, mais n'est pas un signal de dégradation de la protéine cible, et (4) la phosphorylation, qui est l'addition d'un groupe phosphate sur la protéine cible. Les protéines de la famille E3 ligase (RNF212 / HEI10) sont essentielles à la formation des CO, elles associent le synapsis des chromosomes avec les complexes protéiques de recombinaison. La localisation de ces protéines à un site de recombinaison désigne la réparation en CO. La protéine RNF212 interviendrait en stabilisant les complexes de recombinaison dont MSH4-MSH5. Elle est localisée à un sous-ensemble des sites d'initiation de la recombinaison et joue un rôle dans la désignation en CO (Reynolds *et al.*, 2013). L'orthologue de RNF212 chez la levure est la protéine Zip3, qui est également une SUMO E3 ligase. Cette protéine pourrait modifier des protéines telles que Top2, Pds5, Ycs4, et Red1, toutes également localisées sur l'axe chromosomique et impliquées dans l'assemblage du complexe synaptonémal (Cheng *et al.*, 2006 ; Page and Hawley, 2004 ; Lynn *et al.*, 2007). Les sites de CDB associés à un enrichissement relatif de la protéine Zip3 sont également principalement engagés vers la réparation des CDB en CO (Serrentino *et al.*, 2013). Enfin, la protéine Mer2, évolutivement conservée depuis les algues, les plantes, et jusqu'aux humains, intervient chez *S. cerevisiae* lors de la formation des CDB, ainsi que lors de l'assemblage des complexes d'initiation de recombinaison, et le niveau de sumoylation de cette protéine pourrait jouer un rôle dans la compaction des chromosomes après recombinaison (Tessé *et al.*, 2017).

Chez la souris, il est suggéré que le choix de la voie de réparation conduisant à la formation d'un CO ou d'un NCO peut être réalisé *via* un équilibre entre les effets opposés de la sumoylation et de l'ubiquitination, médiés respectivement par les protéines RNF212 et HEI10 (Qiao *et al.*, 2014).

Chez *Arabidopsis*, parmi une collection de mutants de méiose, les mutants de la protéine AXR1 codant pour l'enzyme E1 du complexe de neddylation sont caractérisés par une diminution du nombre de bivalents et des défauts de formation du complexe synaptonémal. Cependant, le nombre de CO n'est

pas altéré, le défaut de formation des bivalents serait dû à une répartition modifiée des CO de classe I conduisant à un défaut d'appariement. En effet, chez ces mutants, les CO tendent à se regrouper en cluster et on n'a pas la formation du CO obligatoire. La neddylation a donc un rôle essentiel de régulateur de la recombinaison, non pas en modifiant le nombre des CO, mais en modifiant leur position (Jahns *et al.*, 2014). Chez *C. elegans*, le complexe CSN/COP9 intervient dans de nombreux processus, principalement *via* la voie de dégradation des protéines par ubiquitination. Chez des mutants du complexe CSN/COP9, il y a agrégation des protéines du complexe synaptonémal qui n'est pas formé, ce qui conduit à un défaut d'appariement des chromosomes homologues. Chez ces mutants, une réduction de la neddylation permet un quasi retour au phénotype sauvage, ce qui suggère que les défauts de méiose observés chez le mutant sont dus principalement à une surexpression de la neddylation (Brockway *et al.*, 2014). Enfin, la protéine Red1, constituant de l'élement latéral du complexe synaptonémal et interagissant avec la protéine HOP1, est décrite comme jouant également un rôle dans le couplage entre recombinaison homologue et synapsis (Lin *et al.*, 2010). En résumé, les protéines de type SUMO sont localisées au niveau du complexe synaptonémal et sont nécessaires au couplage entre synapsis et formation de CO. Ces protéines sont potentiellement impliquées dans la régulation des CO en provoquant la sumoylation de protéines telles que MSH4 ce qui entrainerait leur stabilisation aux sites de recombinaison (Reynolds *et al.*, 2013). . Concernant les protéines de neddylation, celles-ci auraient un rôle de régulateur des CO en modulant leur position sur le génome. Enfin, concernant la phosphorylation, chez la souris, en zygotène et pachytène, la protéine kinase ATR n'est présente que sur les régions non synapsées des chromosomes, et la protéine kinase ATM quand à elle pourrait phosporyler l'histone H2AX, jouant ainsi un rôle important dans le déroulement de la méiose (Fernandez-Capetillo *et al.*, 2003; Turner *et al.*, 2005). Les homologues d'ATM et ATR chez *S. cerevisiae*, respectivement Mec 1 et Tel1, sont necessaires pour le passage du « checkpoint » de prophase, ceci en lien avec la protéine Hop1 qui appartient à la famille des proteines HORMA. Mec1 et Tel1 joueraient également un rôle dans le biais inter-homologues : en l'absence de phosporylation de Hop1 par Mec1 et Tel1, les CDB sont réparées majoritairement sur la chromatide sœur, conduisant à une diminution du nombre de CO. Enfin, la phosporylation de Hop1 semble recquise pour l'activation de la protéine Mek1 qui est un paralogue des protéine kinases de réponse aux dommages de l'ADN Rad53p et CHK2 (Carballo *et al.*, 2008).

1.10.8 Impact de l'organisation et de la dynamique des chromosomes dans le noyau

Chez la plupart des eucaryotes, en prophase de méiose, les chromosomes sont sujets à des mouvements importants (Koszul and Kleckner, 2009; Lee *et al.*, 2015; Shibuya *et al.*, 2014a, 2014b; Storlazzi *et al.*, 2003). Comme mentionné précédemment, en méiose, les chromosomes sont attachés par leurs télomères à l'enveloppe nucléaire (**Figure 5**) et ce *via* le complexe protéique SUN/KASH. De plus, des mouvements de va et vient très amples des chromosomes sont observés durant toute la prophase (Bass, 2003; Scherthan, 2001). Ces mouvements sont imprimés par des éléments du cytosquelette, en association directe avec les chromosomes *via* la membrane et provoquent le rassemblement des télomères en un seul endroit du noyau, ce qui porte le nom de « bouquet ». Chez *S. cerevisiae*, des mutants du gène Csm4 affectant l'attachement des télomères à l'enveloppe nucléaire montrent une progression retardée de la méiose, une augmentation du nombre de CO, et le défaut de mouvement des chromosomes peut provoquer une diminution de l'interférence (Wanat *et al.*, 2008). Chez la souris, un défaut d'attachement à l'enveloppe nucléaire des chromosomes chez un mutant Sun1 provoque un arrêt de la méiose (Ding *et al.*, 2007). Chez *Arabidopsis*, des mutants des protéines SUN et PSS1 montrent la formation normale des axes chromosomiques et des CDB, mais un synapsis incomplet sur certaines régions des chromosomes. Le nombre total de CO n'est pas affecté mais leur répartition est modifiée, les régions synapsées ayant un nombre anormalement élevé de CO et certains chromosomes n'en ayant aucun (Duroc *et al.*, 2014). Ces mouvements des chromosomes semblent donc être un aspect très important pour la bonne réalisation de la méiose, d'une part en facilitant la recherche d'homologie en éliminant les enchevêtrements de chromosomes et d'autre part en éliminant les appariements ectopiques (Koszul and Kleckner, 2009). Chez l'orge et le blé, la répartition des chiasmas reflète l'organisation spatio-temporelle de l'initiation de la recombinaison (CDB de l'ADN en début de prophase I). En effet, chez ces deux espèces, l'initiation de la recombinaison débute dans les régions distales pour finir par les régions interstitielles et proximales des chromosomes, deux régions dans lesquelles on trouve peu de chiasmas (Künzel *et al.*, 2000; Mayer *et al.*, 2011; Sandhu and Gill, 2002; Higgins *et al.*, 2012). Le même schéma s'applique chez l'humain où la fréquence des sites d'initiation de recombinaison reflète également la fréquence des CO. Ceci suggère que les premières CDB à être réparées le seraient en CO et que les suivantes le seraient en NCO (Pratto *et al.*, 2014). Le phénomène d'interférence qui réduit la probabilité d'avoir un CO à proximité d'un premier pourrait donc avoir un rôle important pour les espèces chez lesquelles l'initiation de la recombinaison peut être décalée dans le temps à différentes régions du génome. Cependant, il existe des contre-exemples comme la levure *S. pombe*, pour laquelle

les sites avec un haut niveau de CDB sont ceux ayant le moins de CO (Hyppa and Smith, 2010). Ce contre exemple ne vient toutefois pas en contradiction avec les autres modèles puisque *S. pombe* présente une méiose très atypique, sans formation de CS ni de CO de classe I (Yamashita *et al.*, 2017). Enfin, en termes de chronologie dans le processus méiotique, la recherche d'homologie ne débute que lorsque les chromosomes sont attachés par leurs télomères à l'enveloppe du noyau. Cette régulation pourrait éviter que la recherche d'homologie se fasse entre parties différentes des chromosomes et conduise à la création d'appariements ectopiques.

1.11 Le cas particulier de la méiose chez les polyploïdes

Au cours de l'évolution des eucaryotes, parfois le génome en entier a été dupliqué. Il est donc possible de retrouver dans un même noyau plus de deux jeux de chromosomes, ce que l'on appelle polyploïdie. Ce phénomène a une importance majeure dans l'évolution des angiospermes, puisqu'il permet de cumuler plusieurs génomes. Pour que les chromosomes soient répartis correctement dans les gamètes issus d'une espèce allopolyploïde, il est nécessaire que l'appariement se fasse entre chromosomes homologues, mais pas entre chromosomes homéologues (chromosomes similaires provenant d'espèces voisines, regroupés dans un même noyau par alloploïdisation). Chez le blé hexaploïde, contenant trois jeux de chromosomes suite à différents évènements d'hybridation (génomes homéologues A, B, et C), le locus Ph1 est identifié comme facteur limitant la recombinaison entre chromosomes homéologues. Ce locus exprime lors de la méiose plusieurs gènes ayant un rôle sur la condensation de la chromatine, l'appariement entre chromosomes, et la recombinaison (Griffiths *et al.*, 2006). En général, le nombre de CO par chromosome est plus élevé chez les polyploïdes que chez les diploïdes, comme par exemple entre des diploïdes et des tétraploïdes chez *Arabidopsis* (Pecinka *et al.*, 2011), entre des diploïdes et des autotétraploïdes chez le maïs (Bingham *et al.*, 1968), entre des diploïdes et des allotriploïdes ou allotétraploïdes chez les brassicacées (Leflon *et al.*, 2010). Dans le cas des brassicacées, il a été montré que chez un triploïde, la recombinaison était augmentée d'un facteur 3 par rapport à un diploïde (Pelé *et al.*, 2017a). Ceci est accompagné par une nouvelle répartition des CO, avec des CO dans des régions péricentromériques privées de CO chez le diploïde. Le niveau de ploïdie a également pour effet de diminuer le niveau d'interférence (Suay *et al.*). En couplant une estimation cytogénétique mettant en évidence les CO de classe I en marquant la protéine MLH1 et une étude génétique, il a été montré que la majorité des nouveaux CO serait de classe II (Leflon *et al.*, 2010). Mais cette observation est

contradictoire avec celle de Pelé *et al.* (2017), qui observent que ce sont les CO de classe I qui sont responsable de l'augmentation de recombinaison.

1.12 Méthodes permettant de mesurer le niveau de recombinaison

Afin d'étudier la recombinaison, il est essentiel d'être capable de phénotyper ce caractère. Je vais tout d'abord présenter comment obtenir des données expérimentales sur le nombre et la localisation des CO, puis aborder les méthodes d'analyse de ces données afin d'estimer l'intensité de l'interférence.

1.12.1 Obtenir des données sur le nombre et la localisation des crossing-overs

Méthodes cytologiques de détection des crossing-overs

Plusieurs approches permettent d'étudier le nombre et la position des CO (Mézard *et al.*, 2015a). on peut les étudier : (1) En microscopie photonique, par approche cytologique, en comptant le nombre de chiasmas (**Figure 8A**) qui sont la signature des CO en diplotène-diacinèse ou métaphase I, avec le risque de sous-estimer ce nombre car d'une part les chromosomes sont très compactés à ce stade, et d'autre part car il est impossible de distinguer deux CO proches l'un de l'autre. Il est également possible de visualiser par immunofluorescence certaines protéines impliquées dans la formation des CO en prophase I (**Figure 8 B et E**), mais ce type de marquage ne marque que les CO de classe I. (2) En microscopie électronique, le long des chromosomes en pachytène, en visualisant les nodules tardifs de recombinaison (**Figure 8 C et D**) qui sont des structures se formant au niveau des CO (Anderson *et al.*, 2003).

Estimer le taux de recombinaison méiotique en étudiant la ségrégation de marqueurs

En étudiant la ségrégation de marqueurs génétiques dans une famille de descendants issus d'un croisement, on peut étudier le nombre et la localisation des CO. Ces études peuvent se faire par séquençage ou bien en utilisant des marqueurs moléculaires. Récemment, le développement des nouvelles technologies de séquençage a permis de compter et localiser précisément les CO le long des chromosomes en détectant la recombinaison entre des bases polymorphes avec une résolution très fine. Chez *S. cerevisiae*, *A. thaliana* ou encore le Maïs, on peut par exemple séquencer les quatre produits d'une même méiose (Mancera *et al.*, 2008a). Ces techniques restent cependant encore coûteuses et

sont donc souvent limitées à un petit nombre d'échantillons. A partir des données de ségrégation de marqueurs moléculaires dans la descendance d'un croisement, il est donc possible de mesurer le taux de recombinaison entre deux marqueurs. Ce taux correspond à la fraction de descendants ayant recombiné entre les marqueurs. Cependant, avec ce type de dispositif, un nombre pair de CO n'est pas détectable. Ce biais, qui a pour conséquence de ne pas informer directement sur la présence de CO, est d'autant plus grand que les marqueurs sont génétiquement éloignés puisque la probabilité d'avoir un nombre pair de CO augmente avec la distance. Afin de corriger ce biais, le généticien britannique J.B.S Haldane a introduit dans les années 1930 une fonction de distance génétique exprimée en centiMorgan (cM) (Haldane, 1919). La fonction de Haldane s'exprime ainsi : $d_{(Haldane)} = -50 \ln(1-2r)$ avec d : distance génétique en cM, r : proportion de recombinants observée, et ln le logarithme Neperien. Cependant, cette fonction de distance suppose qu'il n'y a pas d'interférence entre les CO. D'autres fonctions existent, incluant de l'interférence, comme la fonction de Kosambi (Kosambi, 1944).

Utilisation de marqueurs fluorescents

L'étude de la ségrégation de marqueurs fluorescents dans les gamètes permet d'obtenir un jeu de données plus conséquent. Pour cela, des parents exprimant des marqueurs fluorescents sont croisés avec des génotypes sauvages pour former des hybrides hémizygotes pour les marqueurs fluorescents. Après méiose, les individus F1 produisent des gamètes dans lesquels les marqueurs fluorescents ségrégent en fonction des événements de recombinaison entre les marqueurs. C'est l'approche que j'ai suivie dans cette thèse. De telles approches ont été réalisées avec succès chez *Arabidopsis thaliana* en observant les microspores contenues dans les tétrades du mutant *quartet* (Berchowitz and Copenhaver, 2008; Francis *et al.*, 2007), ou en observant des grains de pollen en cytométrie en flux (Yelina *et al.*, 2013), ou bien encore avec des graines (Melamed-Bessudo *et al.*, 2005). Chez la levure *S. cerevisiae*, une approche similaire a été réalisée en observant des tétrades par microscopie (Thacker *et al.*, 2011).

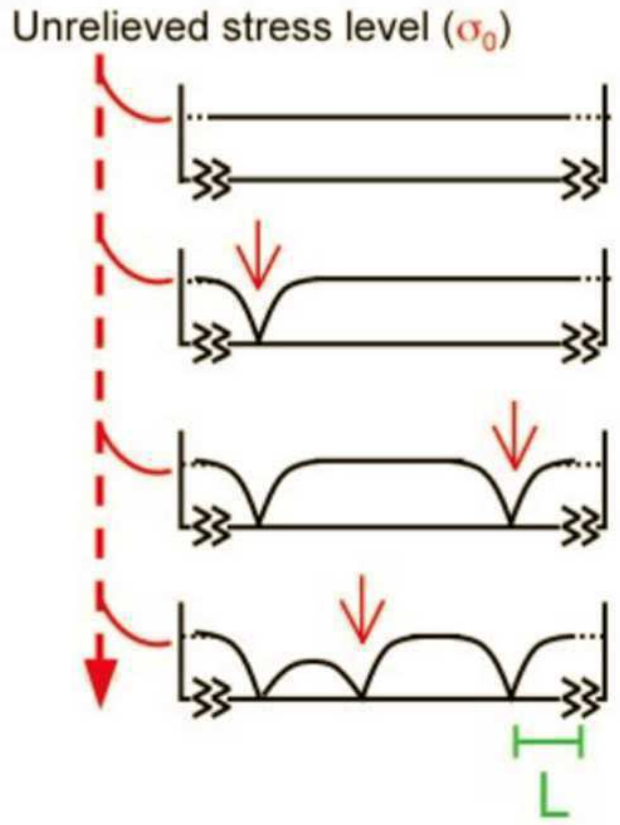


Figure 12 : Modèle « Beam-film »
Dans le modèle « Beam-fim », la répartition des CO se fait en fonction du niveau de stress physique appliqué sur l'axe chromosomique. Il est plus probable qu'une cassure ait lieu dans une région ou le stress est élevé. Lorsqu'un évènement de CO se produit, le niveau de stress devient nul à l'endroit du CO, et plus on s'éloigne du CO, plus le niveau de stress augmente. Ainsi, la probabilité d'un second évènement de CO à proximité du premier est réduite. En effet, les évènements de CO suivants tendent à se produire dans des régions où le stress est encore important, conduisant à une distribution régulière des CO. La distance (L) est la distance à laquelle le niveau de stress est réduit suite à un évènement de CO. Figure issue de (Kleckner *et al.*, 2004).

Estimer le taux de recombinaison par étude du déséquilibre de liaison

Les travaux de génétique des populations apportent des informations sur le déséquilibre de liaison et la diversité génétique des populations. La force avec laquelle les allèles sont associés dans une population (déséquilibre de liaison) nous renseigne sur le taux de recombinaison historique. En effet, ce sont les événements de recombinaison qui sont à l'origine du découplage des combinaisons d'allèles présentes dans les populations ancestrales. Un fort déséquilibre de liaison entre deux allèles indique donc le fait que peu d'événements de recombinaison ont eu lieu au cours des générations entre ces deux allèles. Ainsi, en étudiant la fréquences des haplotypes à deux locus dans une population, il est possible d'inférer le niveau de recombinaison entre ces locus (Buard and de Massy, 2007; Hellsten *et al.*, 2013)

1.12.2 Estimer le niveau d'interférence entre crossing-overs

Le coefficient de coïncidence

Concernant l'interférence, le coefficient de coïncidence (CoC) mesure le rapport entre la fréquence observée des événements de doubles recombinaisons dans deux intervalles et leur fréquence théorique s'il n'y avait pas d'interférence. Cette fréquence théorique est obtenue par le produit des fréquences de recombinaison dans chacun des deux intervalles. Ce rapport est égal à 1 dans le cas d'une interférence nulle, c'est-à-dire lorsque les CO n'interfèrent pas, les CO étant alors indépendants. Ce rapport est inférieur à 1 dans le cas d'une interférence positive, c'est-à-dire lorsqu'il est moins probable d'avoir un second CO à proximité d'un premier que si les CO étaient indépendants. Enfin, un rapport supérieur à 1 indique une interférence négative, c'est-à-dire que les CO ont tendance à être plus regroupés que s'ils étaient indépendants.

Utilisation de modèles mathématiques: les modèles « Beam-Film » et « Gamma »

L'interférence peut également être mesurée à partir des positions de CO le long des chromosomes, positions obtenues par des observations cytologiques (**Figure 8**) en immunolocalisant des protéines spécifiques des CO de classe I comme MLH1, ou avec des données génétiques de ségrégation de marqueurs. Dans les deux cas, les positions de CO observées expérimentalement sont alors utilisées pour ajuster le paramètre d'un modèle mathématique tel que le modèle « Beam film » ou le modèle « Gamma ». Le modèle « Beam-film » (**Figure 12**) est un modèle pour lequel la formation d'un CO sur le chromosome aurait pour effet de relâcher localement un stress mécanique (traction ou torsion) sur l'axe

du chromosome. Ceci gênerait la formation d'un second CO à proximité, dans la zone de l'axe chromosomique sous faible stress (Kleckner *et al.*, 2004 ; Zhang *et al.*, 2014b). Le paramètre (L) du modèle Beam-film correspond à la distance physique caractéristique à laquelle l'interférence peut se propager facilement le long du chromosome et correspond à une valeur de CoC égale à 0.5. Chez *S. cerevisiae*, cette distance est en moyenne de 0.3µm sur l'axe chromosomique en pachytène de la souche SK1 (Zhang *et al.*, 2014b). Le modèle « Gamma » a été proposé pour modéliser la répartition des distances entre CO successifs le long d'un axe (McPeek and Speed, 1995). La force de l'interférence est décrite par le paramètre *v* (nu) de la loi gamma correspondant le mieux à la répartition des distances entre CO successifs (**Figure 13**). Un paramètre *v* supérieur à 1 indique une interférence positive, aucune interférence quand *v*=1, et une interférence négative si *v* est inférieur à 1. On mesure ainsi de l'interférence positive chez de nombreuses espèces excepté chez *S. pombe* et *Aspergillus nidulans* où les CO ne montrent pas d'interférence. Ce modèle suppose que l'ensemble des CO sont soumis à la même interférence. Cependant, certains CO sont interférents et d'autres pas. Un troisième modèle intègre ces deux types de CO, il caractérise la répartition des CO comme étant un mélange de CO interférents et non-interférents en intégrant le modèle gamma et une loi exponentielle (Housworth and Stahl, 2003).

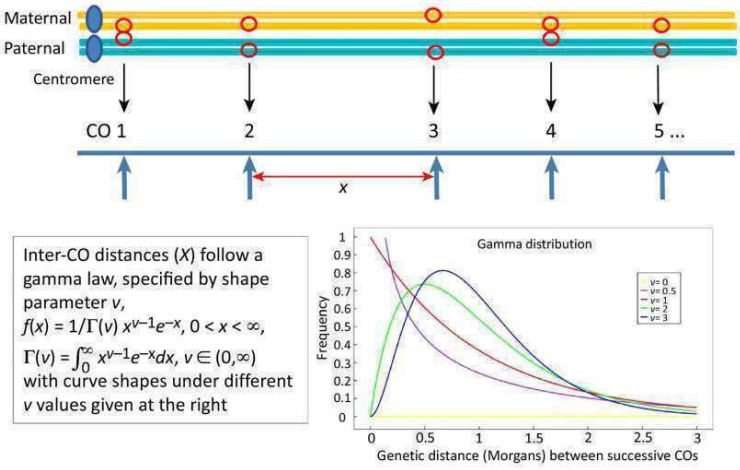


Figure 13 : Modèle « gamma » de mesure de l'interférence
Cercles rouges: position des CO sur les chromosomes homologues paternel et maternel. X: distance entre deux CO adjacents. ν: paramètre de la loi gamma. Graphique de droite: distribution de distance entre Co successifs pour différentes valeurs du paramètre ν de la loi gamma. Figure issue de (Sun *et al.*, 2017)

1.13 Diversité du niveau et du profil de recombinaison

Les avancées technologiques récentes dans le génotypage et le séquençage ont permis de caractériser très finement la recombinaison et de montrer une grande hétérogénéité du nombre et de la position des CO. Ces variations peuvent être observées à différents niveau: entre différents chromosomes, entre les individus d'une même espèce, entre les sexes, ou bien encore entre espèces. Ces variations de recombinaison se manifestent de deux manières, avec d'une part une variation du *niveau* de recombinaison (nombre de CO) et d'autre part une variation de la *répartition* de ces événements sur les chromosomes (profil de recombinaison). Dans cette partie, je vais faire un état des connaissances sur la diversité du profil de recombinaison et du niveau de recombinaison au sein des espèces, entre sexes, entre espèces, puis entre environnements. Enfin, je présenterai quelles peuvent être les déterminants génétiques de la diversité de la recombinaison, puis les conséquences pour l'évolution et l'adaptation des génomes.

1.13.1 Une répartition non aléatoire de la recombinaison sur le génome

Répartition des cassures double brin

Les CDB ne sont pas réparties uniformément le long des chromosomes mais typiquement se concentrent dans des petites régions appelées points chauds de CDB ou « hotspot », régions séparées par des régions « froides » avec peu ou pas de CDB (Grey *et al.*, 2009; Lichten and de Massy, 2011; Pan *et al.*, 2011a; Smagulova *et al.*, 2011). Chez la levure *S. cerevisiae*, les CDB se regroupent dans des hotspots dont la taille n'excède pas quelques centaines de bases. Le site de fixation à l'ADN de la protéine Spo11 ne montre pas de spécificité particulière à une séquence nucléique qui pourrait expliquer la localisation des hotspots (de Massy, 2013). Cependant, des signatures épigénétiques sont corrélées avec la répartition des CDB. Les CDB sont initiés préférentiellement dans les boucles de chromatine plutôt que la chromatine proche des axes des chromosomes (Borde and de Massy, 2013a; de Massy, 2013a). Cependant, toutes les boucles ne contiennent pas de CDB, la distance entre hotspots étant parfois plus grande que la taille moyenne d'une boucle. Un élément majeur pour l'activité de SPO11 est l'accessibilité de la chromatine. En effet, les CDB se forment préférentiellement dans les régions promotrices des gènes sensibles aux nucléases (Borde and de Massy, 2013a). La formation des CDB dans ces régions par SPO11 est également corrélée avec des marqueurs de chromatine active telles que la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 qui correspondent à une meilleur accessibilité de la chromatine (Borde and de

Massy, 2013a; Petes and Merker, 2002). La protéine SPP1 faisant partie du complexe Set1 méthyltransférase qui agit sur l' l'histone H3K4 est requise pour avoir un niveau normal de CDB et est associée aux axes des chromosomes pendant la méiose. Le domaine en doigt de zinc de cette protéine reconnaît la marque H3K4me3 à proximité des promoteurs et induirait la formation de CDB en rapprochant ces régions de l'axe chromosomique (Acquaviva et *al.*, 2012 ; de Massy, 2013; Sommermeyer *et al.*, 2013) (**Figure 6**). L'accessibilité est un prérequis mais ne suffit pas pour la formation de CDB, car la fréquence des CDB est différente selon les promoteurs. De plus, les facteurs de transcription peuvent influencer la formation des CDB à certains sites mais pas à tous (de Massy, 2013; Sommermeyer *et al.*, 2012). A l'inverse, les télomères ainsi que les régions centromériques sont des zones regroupant très peu de CDB (régions froides). Les régions répétées de l'ADN sont généralement dépourvues de CDB, permettant ainsi d'éviter des interractions non homologues, sources de délétions, duplications et autres altérations du génome (Pan *et al.*, 2011; Sasaki *et al.*, 2013). Des mécanismes actifs agissant sur le niveau de méthylation et rendant ces régions hétérochromatiniennes pourraient empêcher la formation de CDB dans les séquences répétées (Yamada *et al.*, 2017; Zamudio *et al.*, 2015). Mais il existe des contres exemples : chez *S. cerevisiae*, les séquences palindromiques longues (>50bp) sont la cible de nombreuses CDB lors de la méiose. Ces CDB sont principalement réparées par recombinaison homologue, les séquences palindromiques longues, sources d'instabilité génomique, étant ainsi éliminées du génome (Nasar *et al.*, 2000). Toujours chez *S. cerevisiae*, certaines répétitions de dinucléotides sont la cible de CDB et peuvent provoquer la formation de CO multiples (Gendrel *et al.*, 2000; Jankowski *et al.*, 2000). Chez la souris, bien que la majorité des séquences répétées présente peu de CDB, certains types de répétitions de séquence sont la cible préférentielle de CDB (sous famille de retrotransposon MULE-MuDR, TcMar-Mariner, hAT-Charlie, PiggyBac) (Yamada *et al.*, 2017). Chez l'humain, certaines classes de répétitions (L2 LINEs, éléments AluY , rétrotransposons THE1A et B) sont enrichies en séquence cible de la protéine PRDM9 (Myers *et al.*, 2008, 2010), ce qui permettrait d'empêcher leur expansion dans le génome (Yamada *et al.*, 2017). Ainsi, il existerait un compromis entre un nombre élevé de CDB dans les séquences répétées permettant d'éviter l'expansion de ces séquences dans le génome, et le fait que les CDB dans les régions répétées peuvent être sources de réarrangement chromosomiques délétères ainsi que d'une mauvaise ségrégation des chromosomes (Yamada *et al.*, 2017). Les régions péricentromériques, avec une chromatine ouverte, regroupent quant à elles de nombreux hotspots de CDB. Au niveau de la séquence nucléique, les CDB se forment principalement dans les régions inter-géniques, mais à proximité des promoteurs. Cependant, le niveau de transcription

ne reflète pas la répartition des CDB. Chez la souris, les CDB sont localisées préférentiellement loin des sites de début de transcription. Chez la plupart des mammifères, la protéine PRDM9 possède un site de liaison spécifique à l'ADN qui explique une grande partie de la localisation des CDB. En mutant le domaine SET de PRDM9, la fréquence des CDB est réduite, et les sites les plus affectés sont ceux qui étaient enrichis en H3K4me3 chez le sauvage (Borde and de Massy, 2013a). Mais la corrélation entre les niveaux de H3K4me3 et la fréquence de CDB est faible en contexte sauvage ce qui sous-tend qu'il existe d'autres facteurs contrôlant l'activité des hotspots de CDB (de Massy, 2013). La répartition des CDB le long du génome ne se fait donc pas aléatoirement. De plus, les sites de CDB sont répartis de façon plus homogène qu'une répartition faite au hasard (Buhler *et al.*, 2007) Ceci suppose une zone d'inhibition autour d'un premier événement de cassure qui empêche la formation d'une seconde cassure à proximité de la première. Ce phénomène est appelé « interférence » entre CDB (de Boer *et al.*, 2006).

Répartition des événements de recombinaison

Tout comme la répartition des CDB, la répartition des CO et NCO est non uniforme. Des régions « hotspots » de 1 à 2 Kb du génome regroupent un grand nombre de CO et sont entourées par des zones « froides » d'environ 50-100 Kb Cette répartition est observée chez de nombreuses espèces telles que *A. thaliana* (Choi *et al.*, 2013), la drosophile (Comeron *et al.*, 2012), la levure *S. cerevisiae* (Mancera *et al.*, 2008a), ou chez l'humain (Myers *et al.*, 2006). Que ce soit chez *S. cerevisiae* (Chen *et al.*, 2008), *A. thaliana* (Choi *et al.*, 2013), le blé (Consortium (IWGSC), 2014), ou l'humain (Myers *et al.*, 2005), plus de 80% des événements de recombinaison ont lieu dans moins d'un quart du génome. La fréquence des CO est faible dans les régions centromériques et péricentromériques, ceci chez l'humain tout comme chez *S. cerevisiae*. Chez la levure, cette réduction de recombinaison dans les régions centromériques serait la conséquence d'un nombre limité de CDB dans ces zones, et que la réparation de ces CDB s'y ferait préférentiellement en utilisant la chromatide sœur (Chen *et al.*, 2008). Bien que les CDB soient associées aux régions promotrices chez la levure, seulement 25% des CO se font dans des régions promotrices. La localisation préférentielle des CO dans les régions géniques et/ou intergéniques est variable selon les espèces. En effet, les CO sont en règle générale localisés dans les régions géniques ou intergéniques et éloignés des sites de début de transcription chez l'humain (Coop *et al.*, 2008; Myers *et al.*, 2005), alors qu'ils sont localisés principalement dans les régions intergéniques chez *A. thaliana* (Kim *et al.*, 2007), ou encore dans les promoteurs des gènes chez le chien (Auton *et al.*, 2013), avec une localisation encore différente chez *D. melanogaster* où il n'y a pas de biais de localisation entre les régions géniques et intergéniques (Comeron *et al.*, 2012) ; voir revue de de Massy, (2013). Enfin chez la souris, les CO sont

rares dans les régions promotrices des gènes ainsi que dans les régions fonctionnelles du génome, l'étude de mutants suggèrant que la protéine PRDM9 guiderait la machinerie de recombinaison hors de ces régions (Brick *et al.*, 2012). . La répartition des CO serait également fonction de l'état de la chromatine, tout comme les CDB (de Massy, 2013). Des mutants des gènes impliqués dans la condensation de la chromatine ont une fréquence de recombinaison augmentée ainsi qu'une répartition modifiée (Kirik *et al.*, 2006; Tsai *et al.*, 2008). Chez *A. thalia*na, les hotspots de CO sont corrélés avec l'état de condensation de l'ADN (Choi *et al.*, 2013). Enfin, chez l'humain, un motif nucléique est associé avec les hotspot de CO. Ce motif est présent pour 40% des CO et est une cible de la protéine PRDM9 (de Massy, 2013). Malgré la corrélation observée entre les sites de fixation de la protéine PRDM9 et les sites de hotspot de recombinaison, les mécanismes sous-jacents sont encore mal connus. En effet, d'une part, les motifs nucléotidiques de fixation à PRDM9 ne montrent que peu de spécificité (Pratto *et al.*, 2014), et d'autre part, la cascade de réaction depuis la fixation de la protéine PRDM9 à la formation de hotspots de recombinaison n'est que peu décrite. Enfin, concernant les régions avec beaucoup d'éléments transposables, il est décrit que ces régions présentent un faible taux de CO.

Ces observations sur l'emplacement des CDB et des CO nous montrent que la répartition de ces événements le long du génome n'est pas aléatoire. La recombinaison génétique est en effet un mécanisme régulé à l'échelle du génome, ceci par l'intermédiaire des différentes voies de formation et de réparation des CDB (*cf*. le paragraphe sur la régulation de la recombinaison méiotique).

1.13.2 La diversité de la recombinaison au sein des espèces

Au sein de nombreuses espèces, la recombinaison présente un certain niveau de diversité. Chez la drosophile, l'étude de la recombinaison sur le chromosome 3 montre des différences entre souches de laboratoire et entre souches issues de populations naturelles (Levine and Levine, 1954, 1955). Lorsqu'une région du génome est introgressée dans différents fonds génétiques, le taux de recombinaison de cette région montre un taux de recombinaison variable. La région introgressée étant identique pour tous les fonds génétiques, cette observation met en évidence un effet du contexte génomique sur la recombinaison (Wu and Lichten, 1995 ; Cattani *et al.*, 2012). Toujours chez la drosophile, au sein d'un panel de 205 lignés représentatives de la diversité de l'espèce, la recombinaison (mesure basée sur des marqueurs phénotypables) dans une région de 33cM du chromosome X et une région de 20.4cM du chromosome 3R, montre une variation allant jusqu'à un facteur deux entre lignés

du panel. Par étude d'association entre les variations de recombinaison des souches du panel, cinq gènes ont été identifiés comme contribuant à cette variation (Hunter *et al.*, 2016). Concernant les mammifères, l'étude de cartes génétiques de différentes populations humaines originaires de l'Utah, du nord et de l'est de l'Europe et du Nigéria, montre des différences dans la répartition de la recombinaison, principalement dans des régions du génome décrites comme cibles de la sélection naturelle (Kong *et al.*, 2010). La recombinaison entre populations Afro-Américaine et Européenne présente également des différences, avec 2500 hotspots identifiés dans les populations Afro-Américaines mais quasiment inactifs dans la population Européenne. Les hotspots identifiés présentent une séquence de 17bp, ciblée par l'allèle de la protéine PRDM9 majoritaire présent dans la population Afro-Américaine (Hinch *et al.*, 2011) . Des variations intra-espèces sont également observées chez la souris où différentes souches de laboratoire montrent des différences significatives de recombinaison (Dumont *et al.*, 2009). Concernant les espèces d'intérêt agronomique, chez le maïs, l'étude de la recombinaison des hybrides entre 22 lignées de maïs Européen montre des différences significatives du taux de recombinaisons à l'échelle du génome, entre chromosomes et au sein des chromosomes, aussi bien entre populations qu' entre lignées (Bauer *et al.*, 2013). De même, la recombinaison de 25 lignées de maïs croisées avec la lignée de référence B73, varie entre les familles et est influencée par des effets cis. Les différences de niveau de recombinaison seraient expliquées par de nombreux effets ayant un impact mineur sur la recombinaison, plutôt que par des QTL avec de larges effets (McMullen *et al.*, 2009). Chez le blé, la recombinaison étudiée dans un croisement type « Nested Association Mapping » entre 29 lignées montre des variations avec un nombre de CO moyen allant de 38 CO par méiose à 56 CO par méiose (Jordan *et al.*, 2018). Enfin, chez la levure *S. cerevisiae*, le taux de recombinaison de diploïdes issus de croisement entre quatre souches représentatives de la diversité de l'espèce varie de 48 à 65 CO par méiose (Cubillos *et al.*, 2011a). Pour deux des croisements, le taux de recombinaison est réduit de 25% par rapport à la moyenne de tous les croisements. L'étude de la répartition des CO le long du génome montre que parmi les hotspots qui n'avaient jamais été détectés, la plupart sont spécifiques d'un seul croisement. A l'inverse, certains hotspots et coldspots sont conservés dans tous les croisements. Certaines région du génome montrent une variation du taux de recombinaison entre croisements, allant jusqu'à une augmentation de 60% de la recombinaison.

1.13.3 Les différences de niveau de recombinaison entre sexes

Chez les espèces hétérogamétiques, les individus de sexes différents produisent des gamètes de type différents. On observe par ailleur des différences de taux de recombinaison et de longueur des axes chromosomiques entre sexes, ce que l'on appelle hétérochiasmie. Chez l'humain, les oocytes ont plus de CDB et également plus de CO que les spermatocytes (Gruhn *et al.*, 2013). La comparaison des cartes génétiques mâle et femelle montre que 15% des hotspots de recombinaison sont spécifiques à un sexe. La recombinaison chez le mâle est plus forte dans les exons que la recombinaison en méiose femelle qui a lieu majoritairement entre gènes (Kong *et al.*, 2010). Une étude d'association basée sur les différences de recombinaison entre homme et femme identifie la région du gène RNF212 comme un des facteur impliqué dans les différences entre sexes (Fledel-Alon *et al.*, 2011). Chez *A. thaliana*, le nombre et la répartition des CO diffèrent également entre sexes, avec une carte génétique de longueur 575cM en méiose mâle et 332cM en méiose femelle, et une localisation différente des évènements de recombinaison. Les corrélations entre le taux de recombinaison et certaines caractéristiques génomiques (richesse en GC, densité en gène, densité en éléments transposables, ratio de CpG) sont également différentes en méiose mâle et femelle (Giraut *et al.*, 2011). Enfin, chez la grenouille européenne *Hyla arborea*, la méiose mâle montre une recombinaison quasi nulle de la paire de chromosomes sexuels et un niveau de recombinaisons 14 fois plus bas sur les autosomes en comparaison à la méiose femelle. Cette observation suggère que la recombinaison mâle est fortement réduite sur les chromosomes hétérogamétiques par des facteurs affectant également le niveau de recombinaison des autosomes (Berset-Brändli *et al.*, 2008). Cette réduction de recombinaison est à son paroxysme chez la drosophile et chez le vers à soie, la variation de recombinaison entre sexes étant extrême avec un des deux sexes ne recombinant plus en méiose (Gowen and Gowen, 1922; Morgan, 1914; Tanaka, 1953).

1.13.4 La diversité de la recombinaison entre espèces

Sur un graphique représentant le nombre moyen de CO (donné par la longueur génétique en cM) sur chaque chromosome en fonction de sa taille physique chez divers eucaryotes (***Figure 14***), nous constatons que le nombre des CO par chromosome semble contraint à la fois par une limite haute et par une limite basse. Ces valeurs limites ne dépendent pas de la taille physique des chromosomes. Pour exemple, le chromosome 3B du blé de taille physique de 1Gb a en moyenne 3 CO par bivalent, valeur équivalente au chromosome le plus grand de *A. thaliana* ayant une taille physique de 31Mb ou au

chromosome le plus petit chez *S. cerevisiae* ayant une taille de 0.3Mb (Mercier *et al.*, 2015). En limite basse, les chromosomes ont une longueur génétique d'un minimum de 50 cM, ce qui correspond à un minimum de un CO par paire de chromosomes. Ce minimum, correspondant au CO obligatoire, est indispensable à une ségrégation correcte des chromosomes dans les gamètes. Des mutations causant une réduction du nombre de CO présentent d'ailleurs de nombreux cas d'aneuploïdie (Hassold *et al.*, 2000; Louis and Borts, 2003). Certaines espèces telles que *C. elegans* n'ont pas plus d'un CO par paire de chromosomes, avec une interférence infinie et tous les CO formés *via* la voie Msh4-Msh5 (Meneely *et al.*, 2002). Pour la plupart des espèces, le nombre moyen de CO par paire de chromosomes est compris entre un et trois. Il existe cependant des espèces remarquables par leur nombre élevé de CO, telles que la levure *S. pombe*, avec entre 10 et 19 CO par paire d'homologues. Cette espèce présente une méiose particulière, avec à la fois une absence de formation du complexe synaptonémal et une absence d'interférence, avec la majorité des CO formés par la voie Mus81 (Smith *et al.*, 2003). La limitation haute du nombre de CO par chromosome n'est pas la conséquence d'un nombre limité de CDB puisque chez la plupart des espèces, le nombre de CDB est bien plus grand que le nombre de CO, avec un nombre de CDB jusqu'à 44 fois supérieur au nombre de CO chez *A. fistulosum* (Muyt *et al.*, 2009). De plus, chez un triple mutant (HEI10, *recq4a, recq4b*), montrant une augmentation d'un facteur quatre du nombre de CO, le nombre de CDB est inchangé, ce qui montre que le nombre de CDB n'est pas un caractère limitant au nombre de CO (Serra *et al.*, 2018). L'ensemble de ces observations suggère que le nombre de CO par homologue est un caractère finement régulé, que ce soit avec une limite basse à un CO à une limite haute à 3 CO pour la majorité des espèces.

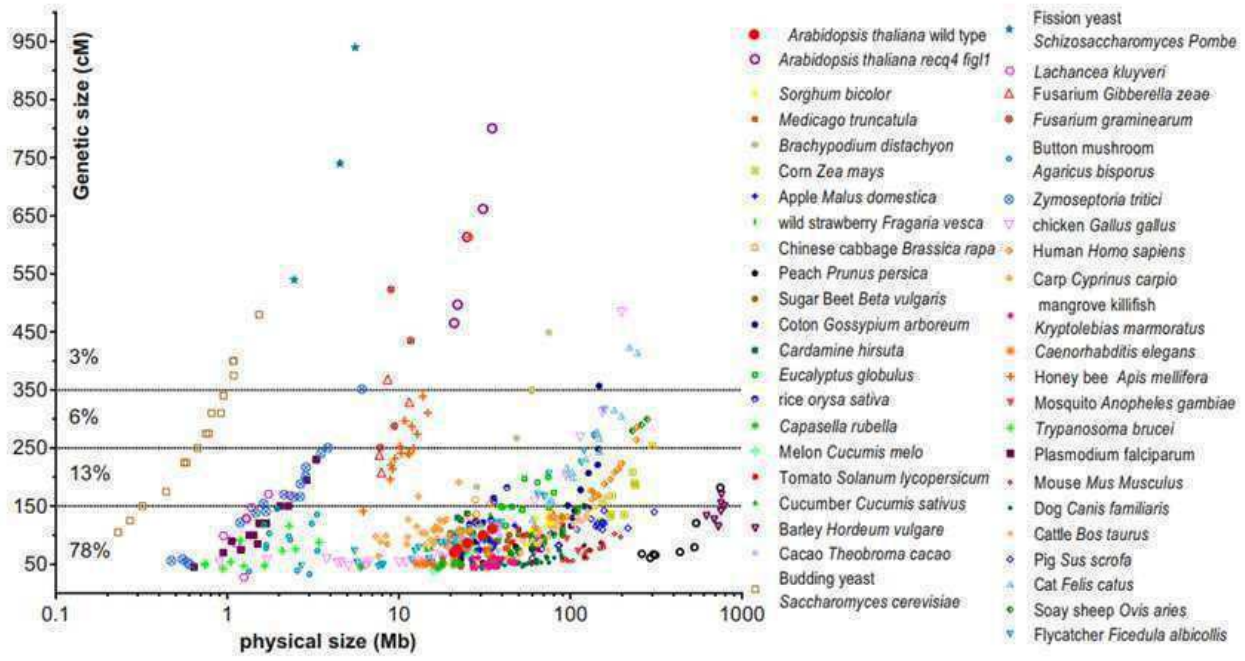


Figure 14 : Diversité de la recombinaison de diverses espèces

Graphique représentant la longueur génétique (cM) de chromosomes de diverses espèces en fonction de leur taille physique (Mb, échelle logarithmique). Les chromosomes sexuels ont été écartés de ce graphique. Figure issue de (Fernandes *et al.*, 2018). La taille génétique en cM étant calculée au niveau des gamètes et non des bivalents, il faut la diviser par 50 et non par 100, pour obtenir le nombre de CO au niveau du bivalent, tel que l'on peut l'observer en cytologie

Concernant la limite basse, on comprend très bien la nécessité d'avoir au minimum un CO par paire de chromosomes pour la ségrégation correcte de chromosomes et l'obtention de gamètes viables. Mais la limitation à un nombre élevé de CO est plus mystérieuse. Une hypothèse suggère qu'un nombre élevé de CO pourrait engendrer des contraintes topologiques empêchant une ségrégation correcte des chromosomes (Louis and Borts, 2003). Cependant, ce n'est le cas ni chez *S. pombe* ni chez les abeilles, où un grand nombre de CO par chromosome ne gêne pas une ségrégation correcte (Beye *et al.*, 2006 ; Munz, 1994 ; Smith *et al.*, 2003). Chez *S. cerevisiae*, les mutants partiels du gène SGS1 voient une augmentation de 50% du nombre de CO qui ne semble pas perturber la ségrégation des chromosomes (Rockmill *et al.*, 2003). Chez *A. thaliana*, une augmentation d'un facteur huit du nombre de CO ne provoque qu'une faible diminution de fertilité (Fernandes *et al.*, 2018b). Toutes ces observations ne vont pas dans le sens de l'hypothèse de départ. La limitation haute du nombre de CO n'est pas due à des contraintes topologiques empêchant une ségrégation correcte. Une autre hypothèse vient du fait que l'amplitude de la variation du nombre de CO est similaire entre espèces, ce qui suggère que le niveau de

recombinaison serait un caractère sous sélection (Ritz *et al.*, 2017). Les pressions évolutives pourraient ainsi influencer des mécanismes modulant le nombre de CO, tels que ceux présentés dans le paragraphe sur les mécanismes moléculaire modulant le nombre et la répartition des CO, et/ou en contrôlant le ratio CDB/CO, CO/NCO, et/ou encore en influençant le mécanisme d'interférence entre CO.

Le taux de recombinaison est très variable entre espèces et en intra-espèce, et comprendre les mécanismes générant cette diversité du taux de recombinaison est essentiel pour étudier l'évolution des génomes. Cependant, les causes et conséquences de cette variabilité restent encore méconnues. Dans la suite de cette partie, je vais donc présenter quelles peuvent être les origines de la diversité de recombinaison observée, puis je présenterai les hypothèses quant aux conséquences évolutives de cette diversité.

1.14 Origines de la diversité du niveau et du profil de recombinaison

Chez la majorité des espèces, on a au moins 1 CO par homologue, le « CO obligatoire ». Un mécanisme de contrôle « homéostasie des CO » permet, en régulant la recombinaison, d'assurer la présence de ce CO obligatoire, et un niveau de recombinaison « optimal ». Nous avons vu que chez la majorité des espèces, le nombre de CO dépasse rarement plus de 3 par bivalent, mais cette limitation n'est pas due à une limitation du nombre de CDB. En effet, chez les plantes on observe entre 10 et 50 fois plus de CDB que de CO (Muyt *et al.*, 2009), chez la levure 2.5 fois plus, et la répartition des CO le long des chromosomes n'est pas parfaitement corrélée à la répartition des CDB, avec même chez *S. pombe* une corrélation négative entre CDB et CO (Hyppa et Smith, 2010). Enfin, chez *S. cerevisiae*, le ratio CO/DSB varie en fonction de la localisation sur le génome. Les hotspots de CDB ne sont donc pas forcément des hotspots de CO (Serrentino *et al.*, 2013).

1.14.1 Origine génétique

Effet de la divergence de séquence entre chromosomes homologues

En génétique des populations, on suppose que les régions du génome qui présentent le plus de diversité sont aussi celles qui recombinent le plus. En effet, la recombinaison, en générant de la diversité génétique, a une conséquence évolutive sur le génome des individus. Dans ce paragraphe, je vais présenter la relation entre divergence de séquence et recombinaison, non pas à l'échelle d'une population qui évolue, mais en considérant les possibles conséquences mécaniques de la divergence de séquence (hétérozygotie) sur le mécanisme de recombinaison homologue. Certains organismes

présentent des génomes avec de nombreuses séquences répétées. Ceci est particulièrement le cas chez les plantes qui contiennent un grand nombre d'éléments transposables et sont parfois polyploïdes, contenant deux génomes différents ou plus. La recombinaison homologue entre séquences non alléliques du génome peut entraîner des réarrangements structuraux. De tels événements, délétères, doivent donc être évités. De plus, il est montré que l'isolation reproductive est majoritairement liée à la divergence de séquence entre chromosomes homologues qui rend les individus stériles, plus qu'à des effets de différences majeures entre gènes qui réduirait la viabilité des hybrides (Maheshwari et Barbash, 2011). Ce phénomène d'isolation reproductive peut être partiel au sein de différentes populations d'une même espèce. Chez l'espèce *S. cerevisiae*, il est montré que la relation entre isolation reproductive et divergence est monotone, jusqu'à un niveau de divergence plus élevé qu'entre *S. cerevisiae* et *S. paradoxus,* deux espèces distinctes (Liti *et al.*, 2006). Il est donc nécessaire, d'une part, d'éviter l'appariement entre séquences non homologues, et d'autre part, de réparer ces éventuels appariements ectopiques par des voies autres que la recombinaison homologue. Ainsi, des mécanismes méiotiques doivent être capables d'éviter les appariements stables entre deux séquences trop divergentes (**Figure 11**) (Ziolkowski and Henderson, 2017). Chez le blé, le locus Ph1 est identifié comme facteur limitant la recombinaison entre chromosomes homéologues (*Cf* paragraphe 1.11) (Griffiths *et al.*, 2006). Chez *S. cerevisiae*, les événements de recombinaison entre séquences divergentes sont évités grâce à un complexe composé de la protéine Msh2, de l'hélicase Sgs1, et de la toposiomérase Top3-Rmi1, ce complexe étant capable de reconnaître les hétéroduplexes d'ADN. Un phénomène appelé « rejet de l'hétéroduplexe » se met alors en place et empêche la réparation par recombinaison homologue (Chakraborty *et al.*, 2015). Les événements de CO sont plus sensibles à la longueur d'homologie entre séquences que les événements de conversion génique, ce qui laisse supposer que les appariements ectopiques seraient réparés préférentiellement par conversion génique (Jinks-Robertson *et al.*, 1993). Mais à partir de quel niveau de divergence les appariements ectopiques sont-ils écartés de la réparation par recombinaison homologue ? Chez la levure *S. cerevisiae*, en utilisant des hétéroallèles du gène URA3, il a été montré que la relation entre longueur de séquence d'homologie et taux de recombinaison est linéaire, que la longueur minimale de séquence homologue nécessaire pour une recombinaison efficace est de 250bp, et que les premiers mésappariements côté 3' ont un effet plus fort que les suivants sur le taux de recombinaison (Datta *et al.*, 1997). En utilisant un hybride possédant un homologue du chromosome III de l'espèce *S. cerevisiae* et l'autre homologue du chromosome III provenant de *S. paradoxus*, la recombinaison globale est diminuée d'un facteur 3. Les spores issues de

ces hybrides présentent des problèmes de viabilité liés à des disomies pour le chromosome III. Les tétrades possédant trois ou quatre spores viables présentent un taux de recombinaison plus élevé que les autres tétrades. Dans cette expérience, il est montré que le gène Msh2 intervient dans la voie de reconnaissance des appariements ectopiques (Hunter *et al.*, 1996a). Chez un double mutant msh2 pms1, l'augmentation du niveau de recombinaison chez les tétrades possédant 3 spores viables est encore plus forte, laissant penser que ces deux gènes interviennent dans des voies différentes (Chambers *et al.*, 1996). En utilisant *in vitro* des cellules de singe (lignée CV1P) contenant un plasmide, un minimum de 14 bases homologues sur 243 est nécessaire pour commencer à détecter un faible taux de recombinaison, ce taux augmentant avec l'augmentation de la longueur d'homologie (Rubnitz and Subramani, 1984). Chez la tomate, il a été observé chez des hybrides interspécifiques que la recombinaison peut être réduite d'un facteur 200 dans certains segments chromosomiques très divergents (Chetelat *et al.*, 2000), voire totalement abolie dans les régions très peu homologues des chromosomes (Rick, 1969). Chez *Arabidopsis*, un pourcentage de divergence de séquence de 0.16% (une mutation sur un fragment de 618 bp dans cette expérience) diminue par trois le taux de recombinaison, et ce quelle que soit la position de ce mismatch dans la séquence (Opperman *et al.*, 2004). Passé ce premier nucléotide divergent, l'ajout d'autres nucléotides divergents, et donc l'augmentation progressive du pourcentage de divergence, a un effet plus faible sur le taux de recombinaison, jusqu'à une valeur de 0.5% de divergence où le taux de recombinaison atteint un plateau bas. Il est également montré dans cette expérience que le type de mésappariement ne modifie pas la relation entre pourcentage de divergence et recombinaison. Chez *Arabidopsis* toujours, des régions hétérozygotes ont un taux de recombinaison plus fort lorsqu'elles sont situées à proximité de régions homozygotes, qui réciproquement ont un taux de recombinaison qui diminue (Ziolkowski *et al.*, 2015). Ceci peut être expliqué si le nombre de CO global est maintenu du fait de l'homéostasie: une variation de recombinaison dans une région du génome serait donc compensée dans une autre région. En utilisant des mutants où les proportions de CO de classe I et II sont modifiées, on observe que la modification de la recombinaison aux jonctions homozygotes-hétérozygote est due aux CO de classe I et que la voie non interférente est inefficace dans les régions hétérozygotes. En conséquence, les régions hétérozygotes montreraient une interférence plus forte que les autres régions. Cependant, le niveau de divergence de séquence n'explique pas toute la variation du taux de recombinaison. Chez la levure *S. cerevisiae*, un modèle de prédiction des emplacements de hotspots de recombinaison en fonction du niveau de divergence a une précision de prédiction de 80% (Liu *et al.*, 2012).

Effet de la diversité génétique des protéines de recombinaison

Concernant le gène PRDM9, chez les bovins, des variations de séquence (mutation affectant des résidus dans le domaine de liaison à l'ADN) sont corrélées avec la diversité du taux de recombinaison et ces variations ont une influence sur la répartition des points chauds de recombinaison (Sandor *et al.*, 2012). De même chez l'humain et la souris, de nombreuses études montrent que la protéine PRDM9 joue un rôle important dans la localisation des CO (Baudat *et al.*, 2009; Fledel-Alon *et al.*, 2011; Kong *et al.*, 2010, 2013; Myers *et al.*, 2010; Parvanov *et al.*, 2009). Toujours chez l'humain, de nombreuses études ont montré l'importance du variant PRDM9 A, fréquent dans les populations européennes, et du variant PRDM9 B, fréquent dans les populations africaines, sur la recombinaison. Ces variants du gène PRDM9 ont un effet tel que des individus avec des allèles différents du gène PRDM9 montrent une localisation des points chauds de CO différente, même au sein d'une même population, bien que les séquences cibles prédites des variants du gène PRDM9 soient les mêmes (Berg *et al.*, 2011; Hinch *et al.*, 2011). Ceci montre à quel point les interactions entre la protéine PRDM9 et les séquences cibles sont complexes, voir revue Grey *et al.*, (2018). Des variants de la séquence de la protéine RNF212, orthologue de la protéine ZIP3 de *S. cerevisiae*, ont également été identifiés, et les variations de séquence sont corrélées avec les variations de recombinaison ente sexes (Kong *et al.*, 2008). Cette corrélation est inversée entre sexes, l'haplotype formé par deux SNP est corrélé avec un taux de recombinaison élevé chez le mâle et un taux de recombinaison faible chez la femelle. En population, si la fréquence de l'haplotype augmente, la recombinaison mâle augmente et la recombinaison femelle diminue, avec une moyenne pour les deux sexes qui ne varie pas. Chez les bovins, en méiose mâle, d'après une expérience de détection de QTL du taux de recombinaison, il est montré que des variations génétiques des gènes REC8 et RNF212 influencent le taux de recombinaison à l'échelle du génome (Sandor *et al.*, 2012). Enfin, en utilisant des accessions naturelles d'*Arabidopsis*, des QTL majeurs de recombinaison ont été identifiés. Ces deux QTL expliquent 57% de la variance observée dans une population Col×Ler. Le premier QTL correspond à un polymorphisme semi-dominant dans le gène HEI10 qui code pour une E3 ubiquitine ligase. Les mutants hei10 sont haplo-insuffisants et l'ajout d'une copie surnuméraire de HEI10 provoque un doublement du nombre de CO dans l'euchromatine, la recombinaison dans les centromères restant quant à elle inhibée. L'augmentation la plus forte de la recombinaison se produit au niveau des parties subtelomériques euchromatiniennes. Le gène sauvage HEI10 est donc un régulateur positif de la recombinaison (Ziolkowski *et al.*, 2017).

1.14.2 Facteurs de l'environnement modifiant la recombinaison

De nombreux facteurs abiotiques sont décrits comme pouvant affecter la recombinaison.

Concernant l'effet de la température sur la méiose, il est montré dès 1917 chez la drosophile qu'une élévation de la température peut entraîner une élévation du nombre de CO (Plough, 1917). Il en est de même chez la plante *Tradescantia bractea*, une augmentation de température modifie la répartition des chiasmas (Dowrick, 1957). Chez l'orge, une élévation de température au moment de la méiose provoque une modification dans la polarisation des sites d'initiation de recombinaison (les premiers sites d'initiation de la recombinaison interviennent dans les régions distales des chromosomes) (Higgins *et al.*, 2012). Lorsque les plantes sont cultivées à une température plus élevée que le groupe témoin, la polarisation est réduite et accompagnée par une modification de la répartition des chiasmas avec une augmentation dans les régions proximales des chromosomes. Toujours chez l'orge, il est montré qu'une élévation de température modifie le nombre et la répartition des CO de classe I en méiose mâle uniquement, ceci étant accompagné par un allongement de la longueur du complexe synaptonémal. Le nombre moyen de CO par méiose passe ainsi de 19.7 CO à 15°C à 22.3 CO à 25°C, et à 27.2 CO à 30°C, les CO étant également déplacés vers les régions proximales quand la température augmente. La longueur de l'axe des chromosomes 2H et 3H passe quant à elle respectivement de 98.3µm (15°C) à 112.9µm (25°C) et de 87.0µm (15°C) à 95.4µm (25°C). Cela montre que la formation des CO est plastique et qu'il existe un lien entre le nombre de CO et la longueur du complexe synaptonémal (Phillips *et al.*, 2015a). Concernant d'autres effets du milieu, il est montré chez la plante *Lolium temulentum* qu'une augmentation des concentrations en potassium et en calcium du milieu peuvent avoir un effet sur la recombinaison. Cet effet est fonction de la température de culture puisqu' observé à 30°C mais pas à 20°C (Law, 1963). Chez le riz, différents stress environnementaux (attaque pathogène, température, sècheresse, UV) peuvent conduire à une augmentation du nombre de CO. Une partie seulement des individus soumis au stress montre un taux de recombinaison augmenté, avec au maximum un rapport de 1.5 par rapport aux individus témoins. (Si *et al.* 2015). Mais les mécanismes moléculaires contrôlant la recombinaison en réponse à l'environnement ne sont pas décrits. Plusieurs hypothèses sont proposées : (1) la variation de facteurs épigénétiques en réponse à un stress environnemental pourrait avoir un impact sur la recombinaison. (2) la température, en induisant indirectement un allongement du complexe synaptonémal, pourrait modifier la recombinaison. (3) la température, en modifiant le niveau

d'expression de certains gènes de méiose, pourrait également avoir un effet sur la recombinaison (Wang and Copenhaver, 2018).

1.15 Relations entre recombinaison, adaptation, et évolution des génomes

L'hypothèse que le taux de recombinaison serait contrôlé puisqu'il est un caractère adaptatif est encore débattue. De récentes études montrent que l'amplitude des variations du taux de recombinaison est similaire entre les espèces (voir figure 1 dans Ritz *et al.*, 2017). Cette similarité de variance du taux de recombinaison entre des espèces parfois très distantes suggère que les bénéfices et coûts liés à la recombinaison et encadrant son niveau puisse être les mêmes pour la majorité des espèces. Il existe une corrélation entre les gènes impliqués dans la réponse aux facteurs environnementaux et les zones du génome à recombinaison élevée (Si *et al.*, 2015). Ceci suggère que la recombinaison, en créant de la diversité génétique soumise ensuite à sélection naturelle, pourrait avoir une importance dans l'adaptation à de nouveaux environnements. Cependant, la recombinaison peut également détruire les combinaisons génétiques favorables déjà existantes et être contre séléctionnée. Ainsi, le niveau de recombinaison serait contraint dans certaines limites. De plus, les gènes impliqués dans l'adaptation à l'environnement sont souvent dupliqués en tandem, ce qui permet de créer de la diversité génétique tout en conservant une copie active du gène. Ces duplications en tandem pourraient être le fruit de CO inégaux, comme cela a été observé chez *Arabidopsis* (Hanada *et al.*, 2009). Concernant l'évolution de la recombinaison elle-même, il existe un paradoxe entre recombinaison et évolution, le mécanisme de réparation de CDB suggérant que les hotspots devraient s'autodétruire. En effet, chez la souris et l'humain, la réparation par conversion génique de ces régions entraîne un biais de contenu en GC de la séquence, et provoque la disparition des séquences nucléiques reconnues par la protéine PRDM9 (Grey *et al.*, 2018; de Massy, 2013). De plus, il est montré qu'au niveau des points chauds de recombinaison, une des deux chromatides a une probabilité plus élevée que l'autre d'être réparée par conversion génique ce qui a pour conséquence une sur-transmission de l'allèle porté par la chromatide ayant une faible probabilité d'être réparée par conversion génique (Jeffreys and Neumann, 2002). Si tel était le cas, les points chauds de CDB devraient progressivement disparaître, et le niveau de recombinaison dans ces régions diminuer au cours de l'évolution. Mais ce n'est pas ce qui est observé, ce que l'on nomme le « paradoxe de l'érosion des hotspots ». Une hypothèse avancée est le fait que la protéine PRDM9

pourrait contourner la perte de hotspots *via* des mutations dans le domaine à doigts de zinc de liaison à l'ADN (Myers *et al.*, 2010). Les nouveaux allèles de la protéine PRDM9 trouveraient alors de nouvelles cibles nucléotidiques, créant ainsi de nouveaux points chauds. Ainsi, il est proposé que la relation entre destruction des hotspot de CDB et évolution de la protéine PRDM9 permettant la création de nouveaux hotspots de CDB suive le modèle de dynamique de la course à l'armement. Dans ce modèle appelé « Reine rouge », en référence au deuxième volet de « Alice au pays des merveilles », l'adaptation serait toujours à recommencer (úBeda and Wilkins, 2011). *« Mais, Reine Rouge, c'est étrange, nous courons vite et le paysage autour de nous ne change pas ? » Et la reine répondit : « Ici il faut courir pour rester à la même place. Pour aller quelque part, il faudrait courir deux fois plus vite »* (Lewis Carroll, À travers le miroir, Chapitre 2). Le fait que la protéine PRDM9 soit sous sélection positive chez les primates et les souris vient étayer cette hypothèse (Buard *et al.*, 2014; Cole *et al.*, 2014; Grey *et al.*, 2018)

1.16 Modifier le nombre et la position des crossing-overs

1.16.1 Intérêt

Les CO sont des événements essentiels pour un grand nombre d'études génétiques telles que la construction de cartes génétiques, les études de déséquilibre de liaison ou encore la détection de QTL. De plus, les CO sont le moteur du brassage intra-chromosomique permettant de créer de nouvelles combinaisons d'allèles, et ce brassage est à la base l'évolution naturelle et de la sélection variétale. Cependant, le nombre et la position des CO sont fortement régulés. Chez les céréales, par exemple, la recombinaison est quasiment inexistante dans les partie péri-centromériques des chromosomes, les CO se produisant principalement dans les régions distales. La densité en gène le long des chromosomes montre que la majorité des gènes sont localisés dans les régions distales. Cependant, une proportion non négligeable de gènes se trouve dans des régions non recombinantes, comme chez le blé (Sandhu and Gill, 2002) ou l'orge, avec plus de 30% des gènes situés dans des régions faiblement recombinantes (Mayer *et al.*, 2011). Ceci a pour conséquence une diversité génétique réduite dans ces régions, limite la résolution des cartes génétiques, et rend très difficile le clonage positionnel (Higgins *et al.*, 2012).
Augmenter le nombre de CO pourrait permettre de plus facilement casser des associations défavorables entre allèles, de créer des combinaisons favorables d'allèles, ou bien d'augmenter la résolution des cartes génétiques. Ainsi, augmenter la recombinaison a un grand intérêt, que ce soit en recherche fondamentale ou appliquée. Diverses approches visent donc à augmenter le nombre de CO à une échelle globale ou plus locale, par exemple pour que des CO aient lieu dans les régions froides. Certaines

approches visent, à l'inverse, à supprimer la recombinaison méiotique. Cela permettrait, d'une part de créer des lignées parentales homozygotes à partir de plantes hétérozygotes (Wijnker *et al.*, 2012), ou d'autre part, de multiplier par reproduction clonale des graines en mimant le phénomène d'apomixie (Marimuthu *et al.*, 2011). Chez *A. thaliana*, il est par exemple possible, à partir d'un individu hybride issu du croisement entre deux lignées, d'obtenir des descendants homozygotes identiques aux lignées parentales (Wijnker *et al.*, 2012).

1.16.2 Méthodes permettant de modifier la recombinaison

Modification ciblée du génome et utilisation de mutants

Les avancées récentes dans la compréhension des mécanismes de la méiose ont permis l'identification de facteurs anti CO, ce qui ouvre la voie vers l'augmentation de la recombinaison dans les programmes de sélection variétale (Crismani *et al.*, 2013). Pour contrôler les gènes modifiant le niveau de recombinaison, il est possible d'utiliser différentes méthodes telles que la méthode CRISPR-CAS9 permettant d'éditer finement le génome, ou des ARN interférents. Ces méthodes pourraient être appliquées sur des individus élites afin d'éditer les gènes anti-crossover connus, tels que FANCM, RECQ4A, RECQ4B, et FIGL1 ainsi que les gènes de facteurs épigénétiques modulant la répartition de la recombinaison, tels que les protéines RNF212, PRDM9, et HEI10. Ainsi, la recombinaison serait augmentée à la fois dans les régions euchromatiniennes et les régions hétérochromatiniennes. Chez *A. thaliana*, un double mutant *figl1 recq4* montre un taux de recombinaison multiplié par 8 à l'échelle du génome (Fernandes *et al.*, 2018b).

Une adaptation de la méthode, couplant la protéine CRISPR et un gène codant pour la protéine SPO11, pourrait permettre une augmentation des CDB et éventuellement des CO tout en ciblant très précisément une région du génome (Choi, 2017). Cependant, les méthodes que je viens de décrire font toutes appel à l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) et dans un contexte médiatique dans lequel le recours à ces méthodes est critiqué, on peut se demander s'il est raisonnable d'espérer pouvoir utiliser de telles plantes en agriculture en Europe.

Variation des conditions du milieu

Comme nous l'avons vu, les conditions du milieu peuvent influencer la recombinaison méiotique.

Ainsi, la température modifie le taux de recombinaison (Francis *et al.*, 2007; Zhong & Priest, 2011; Phillips *et al.*, 2015). Mais ces variations restent faibles et les CO

surnuméraires se concentrent dans des zones déjà pourvues de CO (Higgins *et al.*, 2012), ce qui rend ce phénomène difficile à exploiter en amélioration génétique, bien que cela aurait été plus facilement accepté que l'utilisation d'OGM.

Variation du niveau de ploïdie

Le niveau de ploïdie peut également avoir un impact sur la recombinaison. En effet, la présence de plusieurs génomes dans un organisme peut influer sur le taux de recombinaison, et cela chez plusieurs organismes (Desai *et al.*, 2006; Leflon *et al.*, 2010; Pecinka *et al.*, 2011; Suay *et al.*, 2014). Ainsi, des colza triploïdes ont vu augmenter fortement la recombinaison dans les régions péricentromériques, qui n'ont normalement pratiquement aucun CO chez les diploïdes. Cependant, cette relocalisation de la recombinaison s'accompagne d'une diminution de 50% de la viabilité du pollen et d'une diminution de 20% du nombre de graines par rapport à un hybride diploide. On pourrait donc penser que la relocalisation observée résulte d'une sélection post-méiotique, mais cette hypothèse implique un niveau de sélection non compatible avec celui observé et n'est donc pas suffisante pour expliquer les changements observés (Pelé *et al.*, 2017a). Cependant, la manipulation du niveau de ploïdie ne peut pas se faire chez toutes les espèces, et les impacts d'un changement de ploïdie sur la recombinaison sont différents entre les régions du génome. Il semble donc très difficile avec cette méthode de cibler spécifiquement une zone du génome en particulier.

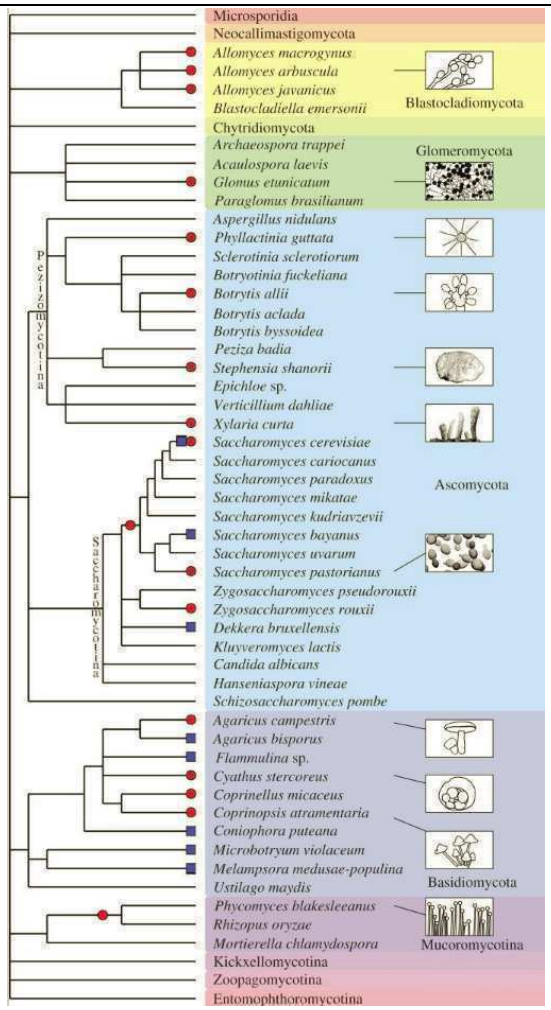


Figure 15 : Classification phylogénétique des champignons

Représentation schématique de la classification phylogénétique des champignons. Les ronds rouges indiquent des polyploïdies suspectées, les carrés bleus des lignées avec des individus qui ont des origines hybrides. Figure issue de (Albertin and Marullo, 2012)

1.17 La levure : organisme modèle pour étudier la recombinaison

La levure *S. cerevisiae* est un microorganisme unicellulaire eucaryote faisant partie du règne des champignons et appartenant à l'embranchement des ascomycètes qui sont caractérisés par la présence d'asques dans lesquels se forment des ascospores (**Figure 15**) (Hibbett *et al.*, 2007). Dans le milieu naturel, on retrouve cette espèce dans diverses niches écologiques telles que sur les arbres, les fruits, les insectes, et chez l'humain. *S. cerevisiae* a été domestiquée pour son usage agroalimentaire (panification, vinification, brassage de la bière ; Sicard and Legras, 2011), essentiellement car c'est un organisme fermentaire (Cavalieri *et al.*, 2003; Fay and Benavides, 2005). L'espèce a également été domestiquée plus récemment dans l'industrie du bioéthanol, la production d'insuline et de vaccins. Mais

cette espèce est aussi un modèle en biologie des eucaryotes, que ce soit à un niveau cellulaire, moléculaire, génomique (Botstein and Fink, 2011), et en génétique des populations (Liti *et al.*, 2009). En effet, *S. cerevisiae* est une espèce très facile à manipuler et à étudier en laboratoire. Elle présente l'avantage d'être facilement cultivable avec un temps de génération court. En condition de croissance favorable, *S. cerevisiae* se multiplie végétativement par mitose, mais en condition de milieu défavorable, les cellules diploïdes sont capables de se diviser par méiose et former quatre spores haploïdes regroupées dans une structure (asque) entourée d'une paroi que l'on nomme couramment une tétrade de spores (**Figure 16**). Il est donc possible de produire des hybrides, de compléter un cycle sexuel en laboratoire et ainsi d'obtenir un très grand nombre de descendants, ce qui en fait un modèle très utilisé en génétique. Enfin, nous avons à disposition un large choix d'outils de biologie moléculaire. C'est également le premier organisme eucaryote à avoir été séquencé (Goffeau *et al.*, 1996). La création de collections de souches mutantes pour chaque gène a permis de comprendre la fonction de nombre d'entre eux (Giaever *et al.*, 2002), ce qui en fait un modèle de choix pour mener des études sur la relation entre génotype et phénotype (Fay, 2013). Son génome de petite taille (12Mb) est un atout pour les études de génomique, transcriptomique et métabolomique, et il est très facile d'éditer des régions ciblées du génome en utilisant les mécanismes endogènes de recombinaison homologue, ce qui rend l'utilisation de la transgénèse extrêmement rapide et efficace. Les techniques nouvelles de séquençage ont permis de séquencer les génomes d'un grand nombre de souches provenant d'origines très diverses, révélant une large diversité génétique et une structure de population complexe (Peter *et al.*, 2018)

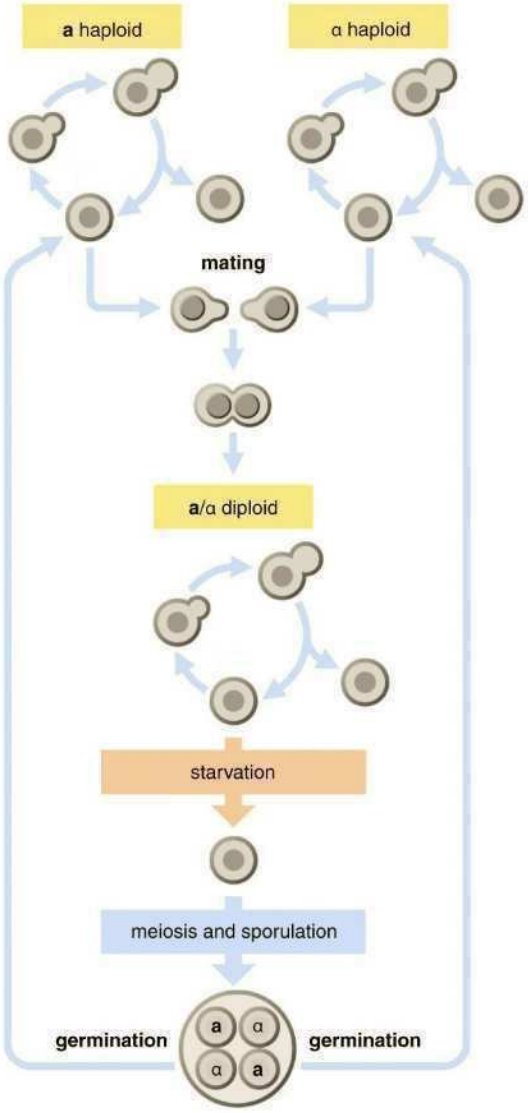


Figure 16 : Cycle cellulaire de la levure S. cerevisiae (ex d'une souche hétérothallique)
Les cellules haploïdes de la levure *S. cerevisiae* peuvent être de type sexuel a ou α. Ces cellules haploïdes végétatives produisent des phéromones et récepteurs respectivement à leur type sexuel. Les phéromones d'un type sexuel sont reconnues par les récepteurs de l'autre type sexuel et inversement. Ceci permet la fusion de deux cellules haploïdes de type sexuel opposé et la formation d'une cellule diploïde a / α qui peut se diviser de manière végétative dans un milieu riche, ou bien entrer en méiose, si le milieu s'appauvrit, et produire quatre spores haploïdes qui ne commenceront à se diviser que quand les conditions de milieu seront meilleures. Figure issue de (Sun and Heitman, 2011)

Les données obtenues permettent de conduire des études d'association pangénomiques mettant en évidence les variants génétiques. On peut ainsi étudier l'architecture génétique de caractères d'intérêt, et également comprendre les différents parcours évolutifs ayant conduit à la diversité de l'espèce observée aujourd'hui (Peter *et al.*, 2018). L'arbre phylogénétique basé sur la divergence de séquence montre différents groupes génétiques distincts regroupant principalement les souches en fonction de leur origine géographique : Europe, Amérique du nord, Asie et Afrique de l'ouest (**Figure 17**) (Liti *et al.*, 2009).

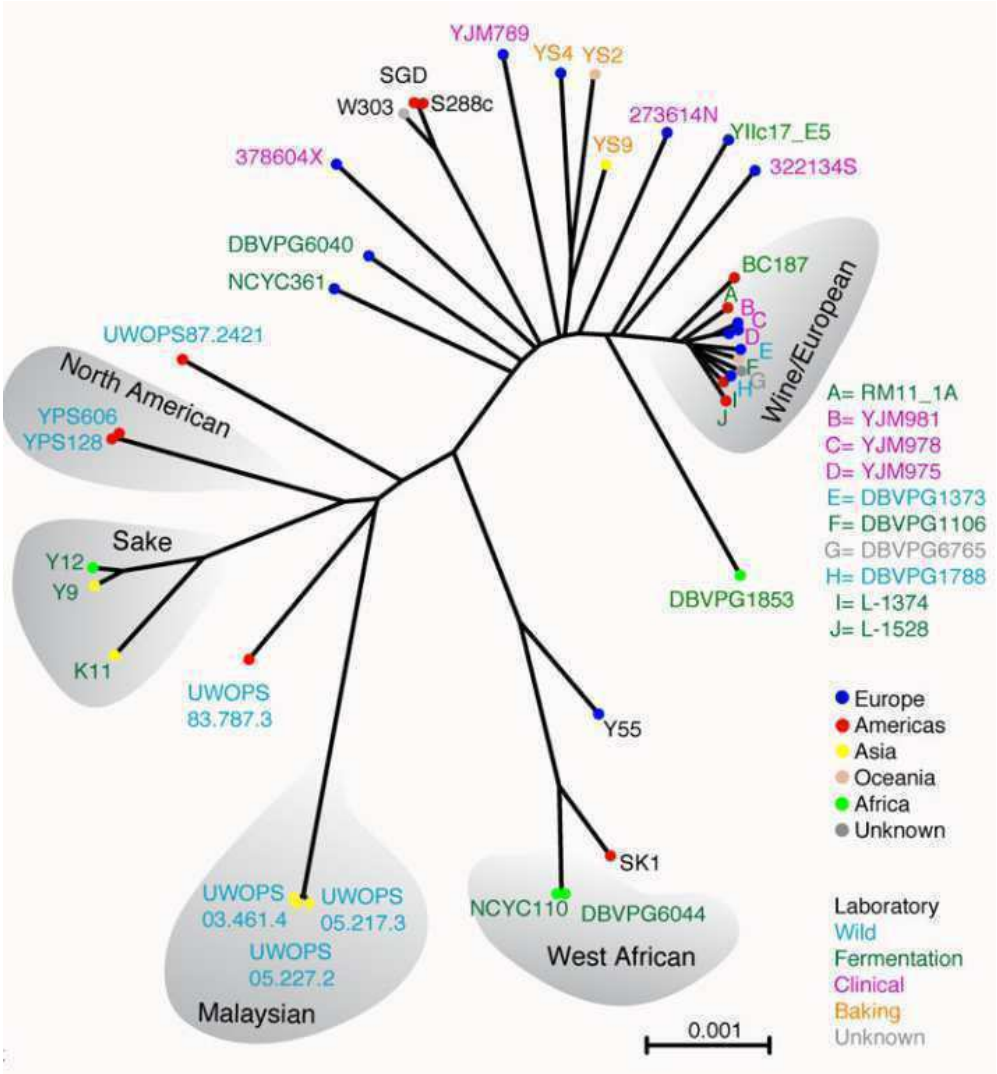


Figure 17 : Arbre phylogénomique d'une collection de souches de *S. cerevisiae*

Arbre phylogénomique basé sur le principe du minimum d'évolution (NJ) à partir de données de polymorphisme nucléotidique (SNP) d'une collection de souches de la levure *S. cerevisiae*. Les groupes phylogénétiques sont entourés en gris, avec la couleur du nom de la souche indiquant la source et la couleur des points indiquant l'origine géographique. Figure issue de (Liti *et al.*, 2009).

Le cycle de vie de la levure *S. cerevisiae* est de type haplodiplophasique (**Figure 16**). La reproduction par division donne à partir d'une cellule « mère » deux cellules filles identiques en ce qui concerne leur matériel génétique nucléaire mais différentes en ce qui concerne le volume du cytoplasme. Lors de la reproduction sexuée, on obtient des spores avec un nouveau génotype qui vient du brassage chromosomique et de la recombinaison homologue lors de la méiose.
Le contrôle génétique de la reproduction chez *S. cerevisiae* met en jeu de nombreux gènes dont un groupe de gènes principaux (master genes) portés par les cassettes HML, HMR et MAT (**Figure 18**). La cassette MAT peut porter une des deux informations suivantes : MATa ou MATα. Dans le cas du diploïde, un des chromosomes porte une cassette MATa et l'autre une cassette MATα. L'expression des gènes de la cassette MAT (α ou a ou les deux dans le cas des diploïdes) entraîne une cascade de régulation de gènes a spécifiques, α spécifiques ou diploïde spécifiques (**Figure 19**). Les protéines α 1 et α 2 ainsi que a1 sont des facteurs de transcription qui agissent en collaboration avec la protéine Mcm1 pour réguler de nombreux gènes spécifiques. Chez les haploïdes, la cassette MAT porte soit le gène spécifique du type sexuel a (a1) soit les gènes spécifiques du type sexuel α (α1 et α2). Les souches haploïdes de *S. cerevisiae* sont capables de changer de type sexuel *via* la coupure de la cassette MAT à des sites spécifiques de l'endonucléase codée par le gène HO (**Figure 20**) (Connolly *et al.*, 1988). Suite à cette coupure, on a une recombinaison homologue au locus MAT avec le locus HMLα ou le locus HMRa. Chez l'espèce *S. cerevisiae*, il existe des souches homothalliques (gène HO fonctionnel) et des souches hétérothalliques (gène HO non fonctionnel). Pour les études de génétique, les souches utilisées sont soit hétérothalliques naturellement, soit rendues hétérothallique en inactivant le gène HO par modification génétique. Pour l'ensemble de ces caractéristiques, la levure *S. cerevisiae*, est un modèle très utilisé en génétique, et nous l'avons choisi comme modèle pour répondre aux objectifs de mon travail de thèse.

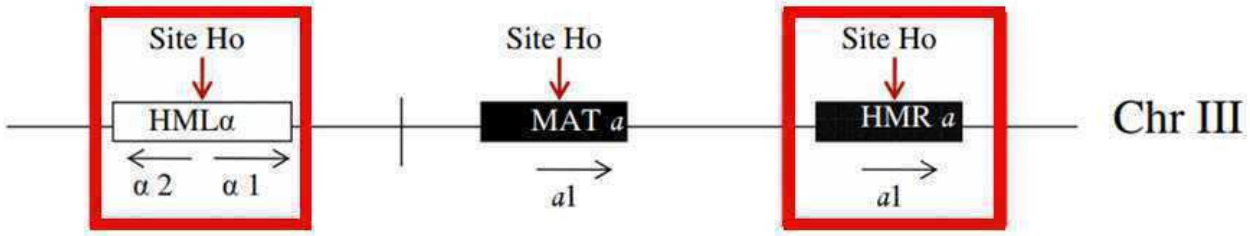


Figure 18 : Structure des cassettes sexuelles de S. cerevisiae chez une cellule MATa

Les deux cadres rouges indiquent les cassettes réprimées. La cassette HMLα porte l'information MATα et la cassette HMRa porte l'information MATa. La cassette MAT peut porter l'information MATα ou MATa. α1 et α2 = gènes portés par la cassette HMLα ; a1= gène porté par la cassette HMRa ; site Ho= site reconnu et coupé par l'endonucléase Ho ; MAT= Mating type.

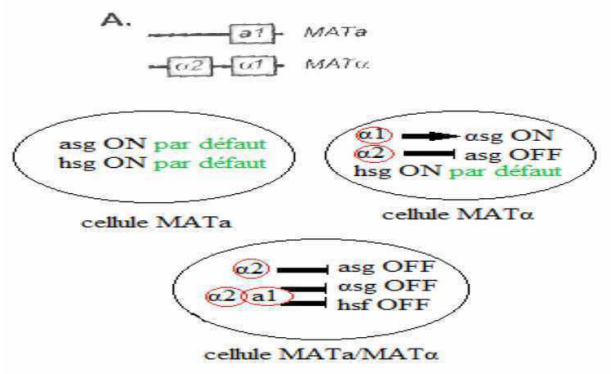


Figure 19 : Schéma du contrôle du locus Mat sur l'identité cellulaire chez *S. cerevisiae*

Structure des chromosomes au locus MATa et MATα . Régulation des gènes : asg (gènes a-spécifiques), αsg (gènes α-spécifiques) et hsg (gènes haploïde-spécifiques). ON expression des gènes. OFF pas d'expression des gènes. D'après Brynne C. Stanton (2007) Sex in fungi

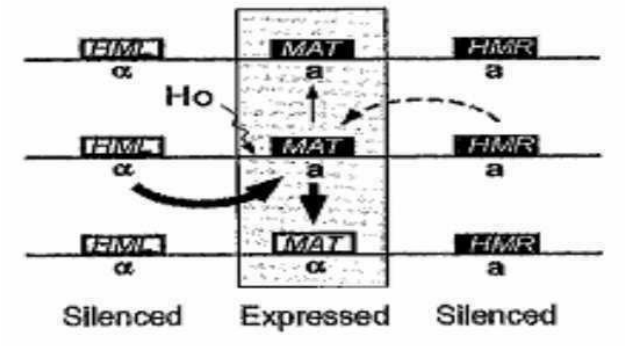


Figure 20 : Schéma simplifié du changement de type sexuel chez *S. cerevisiae*.

Deuxième partie

2 High throughput measurement of recombination rates and genetic interference in *S. cerevisiae*

Received: 9 February 2018 | Revised: 12 March 2018 | Accepted: 14 March 2018
DOI: 10.1002/yea.3315



RESEARCH ARTICLE

WILEY Yeast

High-throughput measurement of recombination rates and genetic interference in *Saccharomyces cerevisiae*

Xavier Raffoux[1] | Mickael Bourge[2] | Fabrice Dumas[1] | Olivier C. Martin[1] | Matthieu Falque[1]

[1] GQE– Le Moulon, INRA, Univ. Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91190, Gif-sur-Yvette, France
[2] Cytometry / Electronic Microscopy / Light Microcopy Facility, Imagerie-Gif, Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 91198, Gif-sur-Yvette cedex, France

Keywords: meiosis, yeast, fluorescent tag, crossing-over, flow cytometry

2.1 Abstract

Allelic recombination due to meiotic crossovers is a major driver of genome evolution, as well as a key player for the selection of high-performing genotypes in economically important species. Therefore, we developed a high throughput and low cost method to measure recombination rates and crossover patterning (including interference) in large populations of the budding yeast *S. cerevisiae*. Recombination and interference were analyzed by flow cytometry, which allows escaping time-consuming steps such as tetrad microdissection or spore growth. Moreover, our method can also be used to compare recombination in wild-type *vs* mutant individuals or in different environmental conditions, even if the changes in recombination rates are small. Furthermore, meiotic mutants often present recombination and/or pairing defects affecting spore viability but our method does not involve growth steps and thus avoids filtering out non-viable spores.

2.2 Introduction

Meiotic recombination is a major driver of genome dynamics and evolution in sexually reproducing organisms, generating new allelic combinations that can be subject to natural selection. The numbers of crossing-over (CO) events per meiosis is tightly regulated (Hunter, 2015; Mézard, Tagliaro Jahns, & Grelon, 2015; Zickler & Kleckner, 2016). Moreover, their positions along the chromosomes are also influenced by the phenomenon of interference: occurrence of a CO in one site of the chromosome reduces the probability of another CO being formed in its vicinity (Muller, 1916; Sturtevant, 1915). However, the mechanisms involved in interference are still not well understood. Therefore, getting more insights into the regulation of recombination rates and crossover distribution along chromosomes would be beneficial for fundamental and applied genetics, and also to improve the efficiency of breeding (Li *et al.*, 2016). Different approaches are used to determine both number and positions of COs along homologous chromosomes (Mézard *et al.*, 2015a): (1) Counts of chiasmata, the cytological signatures of COs at metaphase I (Sidhu *et al.*, 2015b), with the risk of missing some chiasmata and thus COs due to the highly compacted state of metaphase chromosomes. (2) Analysis of protein complexes associated with COs along the less compacted pachytene chromosomes by electron microscopy (EM; observation of late recombination nodules; (Anderson *et al.*, 2003) or by fluorescence microscopy using immunolocalization (Anderson, Reeves, Webb, & Ashley, 1999). Measuring distances between COs remains, however, time-consuming. Moreover, some of the proteins used for immunolocalization of COs sometimes reveal only a subset of COs as illustrated recently in a parallel observation of late recombination nodules in EM and MLH1 foci by immunofluorescence on the same chromosome samples. Only a fraction of the recombination nodules seen in EM was also marked by MLH1 (Anderson *et al.*, 2014). (3) Segregation of alleles in gametes or progenies can be studied by sequencing or using molecular markers. The development of high-density genotyping technologies (including genotyping by sequencing) allows the counting and localization of COs along chromosomes with high resolution. However genotyping or sequencing large numbers of samples remains expensive and is thus often limited to relatively small populations. (4) An efficient approach to score COs in very large populations is to score the segregation of fluorescent markers in their gametes; this requires the previous development of genetically transformed parents expressing genes encoding fluorescent proteins. Crossing these parents with a wild type genotype produces F1 individuals which are hemizygous for the fluorescent markers. After meiosis, these F1 individuals produce gametes in which the fluorescent colors segregate depending on recombination events. Using such approaches,

recombination has been studied in *Arabidopsis thaliana* by observing microspore tetrads of the *quartet* mutant (Berchowitz and Copenhaver, 2008; Francis *et al.*, 2007), by analyzing pollen grains by flow cytometry (Yelina *et al.*, 2013), or by imaging seeds (Melamed-Bessudo *et al.*, 2005). Similar approaches have been successfully achieved in *S. cerevisiae* tetrads (Thacker *et al.*, 2011). However analyzing individual spores by flow cytometry on very large populations was never done in budding yeast. To fill this gap, we set up a high-throughput method to measure crossover rates and interference in *S. cerevisiae* by fluorescence-based approaches. Using three distinct markers delimiting two adjacent intervals offered us the possibility to study CO interference because frequencies of rare events of double COs can be measured accurately thanks to the large population sizes allowed by the method. A total of 14 intervals were covered on chromosomes I, VI, and XI to get a collection of seven different strains that we called “testers” (see Materials and Methods). In the diploids obtained by crossing these testers with wild-type strains, we measured (1) recombination rates on 14 genomic segments covering entirely chromosomes VI and XI and part of chromosome I, and (2) crossover interference in the corresponding seven pairs of adjacent intervals. All tester strains and DNA constructs developed in this study are freely available upon request to matthieu.falque@inra.fr, and the associated scripts for data analysis are provided as **Supplementary Text 1**.

2.3 Materials and methods

2.3.1 Fluorescent strains

The SK1 and W303 *S. cerevisiae* strains used in this study come from the Saccharomyces Genome Resequencing Project (Cubillos, Louis, & Liti, 2009). We used the strains numbered 3590 (mat a) and 3615 (mat α) for SK1, and the strain numbered 3583 (mat a) for W303, which were kindly provided by F. Cubillos, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. The SK1-ORT7217 *S. cerevisiae* strain (Mat a ho lys2 ura3(PstI-SmaI)::hisG arg4::kanMX::URA3 leu2::hisG his4B::LEU2 trp1::hisG) was kindly provided by C. Fairhead, Université Paris-Sud, Orsay, France. Constructs were PCR-amplified from fluorescent strains kindly provided by Roy Kishony, Harvard Medical School, Boston (DeLuna, Springer, Kirschner, & Kishony, 2010). We used the three following constructs: TDH3prom-mCherry-*KanMX (hereafter named RFP)*, TDH3prom-yECerulean-*NatMX* (*hereafter named* CFP), and TDH3prom-Venus-*NatMX* (*hereafter named* YFP). For DNA extraction, the strains were grown overnight at 30°C 200rpm in 5 ml YPD, pelleted at 4500 rpm for 10 min, digested for one hour at 37°C with 10 units of zymolyase

(Euromedex, Souffelweyersheim, France) in 0.5 ml of sorbitol 1 M and Na_2EDTA 0.1 M pH 7.5, pelleted again at 10 000 rpm for 5 minutes, and then further steps followed the « DNeasy Blood and Tissue » protocol (Qiagen, Hilden, Germany) with the final elution in 100 µL ultra-pure water. PCR amplifications were carried out using (1) a forward primer with a 5' tail of 50bp corresponding to the sequence upstream the insertion site, followed by 5'-CGCCAGCTGAAGCTTCGTA-3' corresponding to the TDH3prom region of the construct, and (2) a reverse primer with a 5' tail of 50bp corresponding to the sequence downstream the insertion site, followed by 5'-CGACAGCAGTATAGCGACCA-3' corresponding to the KanMX and NatMX terminator region of the construct (see all primer sequences in **Supplementary Table 1**). PCR amplifications were carried out in 50 µL final volume with 1x colorless GoTaq flexi buffer, 0.5mM of each primer, 0.2mM of each dNTP, 3mM MgCl2, 1.25 unit of GoTaq G2 flexi DNA polymerase (Promega, Madison, USA), and 5µL of template DNA. Thermal cycling was: 95°C 2 min, 10 cycles of (95°C 30 s, touch down from 60°C to 50°C for 30 s, and 72°C 3 min), then 25 cycles of (95°C 30 s, 50°C 30 s, and 72°C 3 min), and finally 72°C 5 min. Amplicons were checked for correct sequence by Sanger-sequencing both strands (Genoscreen, Lille, France), purified using Qiagen QIAquick Gel Extraction Kit, and used to transform haploid strains (LiAc protocol following (Cubillos *et al.*, 2009). Transformed cells were selected on YPD medium containing 100mG/L G418 or 30mG/L nourseothricin depending on the construction used. Correct fluorescence of transformed colonies was checked by fluorescence microscopy. After transformation, the position of the inserted sequence was checked by Sanger-sequencing PCR products obtained with (1) primers surrounding the insertion locus (see all primer sequences in **Supplementary Table 2**), (2) one forward primer upstream the insertion locus and one reverse primer (5'-CCTATGAACTGATGGTTGGTGAAG-3') in the TDH3prom region of the construct, and (3) one forward primer upstream the insertion locus and one reverse primer (5'-TATTACCCTGTTATCCCTAG-3') located in the KanMX terminator region of the constructs. Marker insertion positions were chosen in intergenic regions surrounded on both sides by at least 100bp of unique sequence in the genome, based on Saccharomyces Genome Database (S288c_reference_genome_R57-1-1; SGD, (Cherry *et al.*, 2012). We chose insertion positions so that estimated genetic distances between adjacent markers were close to 30cM (corresponding to about 80kbp), as we calculated this distance to be close to the optimal interval length for minimizing the coefficient of variation of inferred genetic distances (see **Supplementary Methods**). All insertion sites are described in **Supplementary Table 3**.

2.3.2 Construction of tri fluorescent testers

Tri-fluorescent tester strains were produced by crossing mono-fluorescent strains and sorting recombinant spores with a fluorescence-activated cell sorter (FACS: MoFlo ASTRIOS; Beckman-Coulter, Villepinte, France). For instance, let us consider a tester carrying on chromosome I (denoted I in our tester nomenclature) the mCherry marker (denoted R in our tester nomenclature) at locus 2 (see **Supplementary Table 3**), the yECerulean marker (denoted C in our tester nomenclature) at locus 3, and the Venus marker (denoted Y in our tester nomenclature) at locus 4. This tester will then be named with the suffix 'I-R2C3Y4' and similarly for other testers. To produce this tester, we first crossed a SK1-ORT7217 Mat a I-R2 strain with a SK1-3615 Mat α I-C3 strain. To do so, we co-patched both haploid strains on solid YPD to obtain diploids, then spores were produced as described below, and recombinant bi-fluorescent SK1-I-R2C3 spores (**Supplementary Figure 1**) were sorted by FACS. During cell sorting, single spores were dropped in each well of a 96-well plate on 100µL solid YPD. The plates were incubated for 48 hours at 30°C and the mating type of each colony was determined by PCR as described in (Gerstein, Chun, Grant, & Otto, 2006). To add the third marker, a SK1-I-R2C3 Mat a strain and a SK1-3615 Mat α I-Y4 strain were crossed, and tri-fluorescent SK1-I-R2C3Y4 spores were sorted as described above. The unicity of marker insertion was finally checked by verifying the Mendelian segregation of spores produced by the SK1-I-R2C3Y4 Mat α × SK1-3590 Mat a diploid. Using this procedure, we constructed the following seven testers: SK1-I-R2C3Y4, SK1-VI-C1Y2R3, SK1-VI-R3Y4C5, SK1-XI-Y3R4C5, SK1-XI-R4C5Y6, SK1-XI- Y6C7R8, and SK1-XI- R8Y9C10 (**Supplementary Figure 2**). An eighth tester, SK1-XI-R1C2Y3 was constructed in a way that the first two markers were physically very close to each other (5,557bp). All physical distance between markers are given in **Supp Table 3.**

2.3.3 Flow cytometry analysis of spores

To induce sporulation, diploid strains were grown overnight at 30°C 200 rpm in 50mL Falcon tubes with 5mL liquid YPD, then cells were centrifuged 2 min at 2000 rpm, pellets resuspended in 600µL ddH2O and 150µL was spread on four different Petri dishes with solid SPOR medium (2.5% bacto yeast extract, 1% glucose, 10% potassium acetate, 20% agar). The four dishes were placed at different positions in the incubator to provide four replicates possibly capturing variation due to environmental heterogeneity. After ten days at 30°C, cells were picked up from the lawn by scraping one quarter of the Petri dish surface with a bended pipette tip, and suspended in 96 rack tube strips (Macherey Nagel, Hoerdt, France) containing 750 µL of ddH20 with 5mg/mL 100T zymolyase (Euromedex,

Souffelweyersheim, France) and 100µL glass beads suspension (0.5 mm diameter, Dutscher 67172 Brumath Ref 1606106). To disrupt tetrads, the tube racks were vortexed one minute at a frequency of 23 rev/sec using a Qiagen TissueLyzer II grinder, incubated 60 min at 30°C, vortexed again in the same conditions, centrifuged 5 min at 4500 rpm, and then the pellets were resuspended by vortexing in 200µL ddH_2O. The suspension, mostly containing vegetative cells, was discarded. Spores, which adhere to the tube plastic, were stripped by vortexing the tubes containing 600µL ddH20 with 0.01% NONIDET NP40 (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) following (Rockmill, Lambie, & Roeder, 1991). The spore suspensions were then analyzed with a MoFlo ASTRIOS flow cytometer and the associated software Summit. We first selected events corresponding to the size of spores using a gate in the SSC-Height-Log *vs* FSC-Height-Log graph **(Supplementary Figure 3)**, then we discarded events containing more than one cell using a gate in the SSC-Height-Log *vs* SSC-Area-Log graph **(Supplementary Figure 4)**. Finally we analyzed the fluorescence intensity of each spore in mCherry, yECerulean, and Venus channels (excitation at 561, 405, and 488 nm respectively, emission at 614/20, 448/59, and 526/52 nm respectively).

2.3.4 Marker fluorescence analysis

Let's consider spores produced by a diploid strain hemizygote for markers A, B, and C distributed in that order along one chromosome. Each marker can be present (denoted 'A', 'B', or 'C') or absent (wild type phenotype denoted '+'), defining eight different classes of fluorescence (**Figure 1**). Each class is named with a string of three consecutive characters corresponding to loci A, B, and C respectively, thereby defining classes ABC and +++ (parental spores), A++ and +BC (spores recombinant between A and B), AB+ and ++C (spores recombinant between B and C), and A+C and +B+ (double-recombinant spores) (**Figure 1**).

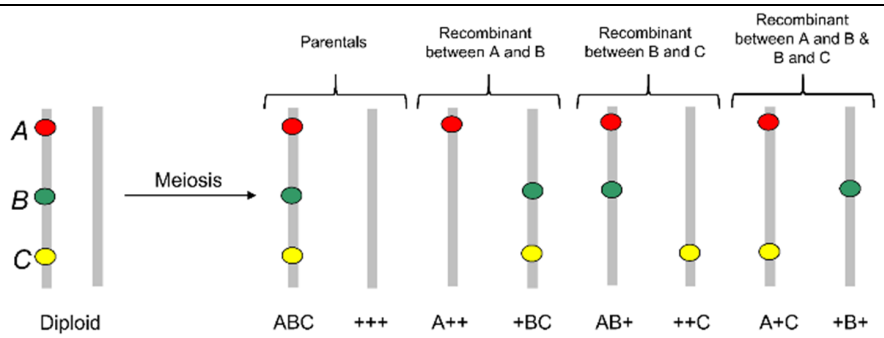


Figure 1: Segregation of three linked markers in spores after meiosis.

Each class is named with a string of three consecutive characters corresponding to loci A, B, and C respectively, thereby defining classes ABC and +++ (parental spores), A++ and +BC (spores recombinant between A and B), AB+ and ++C (spores recombinant between B and C), and A+C and +B+ (double-recombinant spores).

Since it is not possible to define selection gates in a 3D graph, we used three projections, each of them representing fluorescence intensities of two fluorescent markers (**Figure 2**), the notation [X/+] indicating that the marker at locus X may be present or absent. By selecting quadrants in each of these three graphs and applying the rules below, we assigned each spore to one of the eight possible classes of fluorescence which correspond to the eight possible genotypes at the three marker loci.

ABC : spores in quadrants AB[C/+] and A[B/+]C and [A/+]BC

+++ : spores in quadrants ++[C/+] and +[B/+]+ and [A/+]++

A++ : spores in quadrants A+[C/+] and A[B/+]+ and [A/+]++

+BC : spores in quadrants +B[C/+] and +[B/+]C and [A/+]BC

AB+ : spores in quadrants AB[C/+] and A[B/+]+ and [A/+]B+

++C : spores in quadrants ++[C/+] and +[B/+]C and [A/+]+C

A+C : spores in quadrants A+[C/+] and A[B/+]C and [A/+]+C

+B+ : spores in quadrants +B[C/+] and +[B/+]+ and [A/+]B+

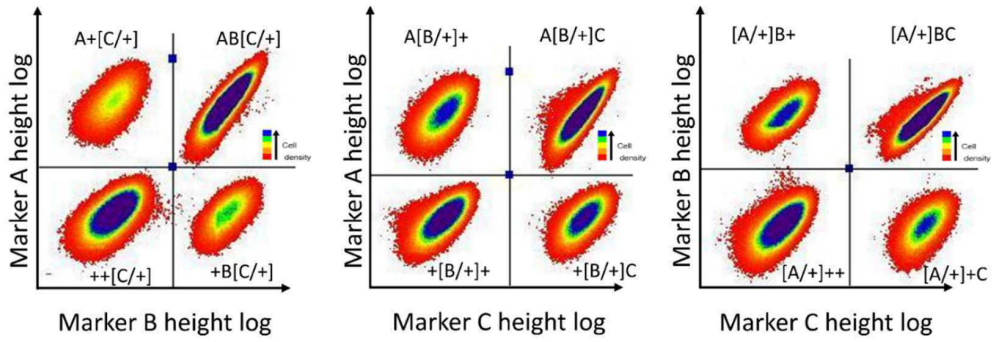


Figure 2: Fluorescence intensities of marker A *vs* marker B (left), marker A *vs* marker C (middle), and marker B *vs* marker C (right).

Warm colors indicate lowest density of spores. Each marker can be present (denoted 'A', 'B', or 'C') or absent (wild type phenotype denoted '+'), the notation [X/+] indicating that the marker at locus X may be present or absent.

2.3.5 Calculation of Mendelian segregation ratios to assess possible biases

Single locus segregation ratios of individual markers were calculated as:

$$\text{Marker A: ratio} = \frac{N_{ABC} + N_{A++} + N_{AB+} + N_{A+C}}{N}$$

$$\text{Marker B: ratio} = \frac{N_{ABC} + N_{+BC} + N_{AB+} + N_{+B+}}{N}$$

$$\text{Marker C: ratio} = \frac{N_{ABC} + N_{+BC} + N_{++C} + N_{A+C}}{N}$$

where N is the total number of spores counted and N_{XYZ} the number of spores of class XYZ.

Two locus segregation ratios of two linked loci (see Figure 1) were calculated as:

$$\text{Markers A and B in parentals: ratio} = \frac{N_{ABC} + N_{AB+}}{N_{ABC} + N_{AB+} + N_{+++} + N_{++C}}$$

$$\text{Markers A and B in recombinants: ratio} = \frac{N_{A++} + N_{A+C}}{N_{A++} + N_{A+C} + N_{+B+} + N_{+BC}}$$

$$\text{Markers B and C in parentals: ratio} = \frac{N_{ABC} + N_{+BC}}{N_{ABC} + N_{+BC} + N_{+++} + N_{A++}}$$

$$\text{Markers B and C in recombinants: ratio} = \frac{N_{+B+} + N_{AB+}}{N_{+B+} + N_{AB+} + N_{++C} + N_{A+C}}$$

Three locus segregation ratio was calculated as:

$$\text{Double recombinants: ratio} = \frac{N_{A+C}}{N_{A+C} + N_{+B+}}$$

2.3.6 Calculation of recombination rates

The recombination rate (R_{AB}) in centiMorgan (cM) per kilobase between two linked markers A and B was calculated as $\boldsymbol{R_{AB}(cM/kbp)} = \frac{\boldsymbol{-50\ln\left(1-2\left(f_{A+[C/+]}+f_{+B[C/+]}\right)\right)}}{\boldsymbol{d_{AB}}}$ (Eq 1)

, where d_{AB} is the physical distance in kbp between marker A and B and f_{XYZ} the frequency of spores of class XYZ.

To assess possible biases (see Results), the following estimates of R_{AB} were also calculated, based on part of the data only:

$$R'_{AB}(cM/kbp) = \frac{-50\ln\left(1-4\left(f_{A+[C/+]}\right)\right)}{d_{AB}} \text{ and } R''_{AB}(cM/kbp) = \frac{-50\ln\left(1-4\left(f_{+B[C/+]}\right)\right)}{d_{AB}}$$

Caution: the notation R′ and R'' refer to different estimates of R but there is no relation with any first or second derivative.

2.3.7 Calculation of the coefficient of coincidence (CoC)

$$CoC = \frac{f_{A+C}+f_{+B+}}{R_{AB}\cdot R_{BC}} \qquad \textbf{(Eq2)}$$

To assess possible biases (see **Results**), the following estimates of CoC were also calculated, based on part of the data only:

$$CoC' = \frac{2\cdot f_{A+C}}{R_{AB}\cdot R_{BC}}$$

$$CoC'' = \frac{2\cdot f_{+B+}}{R_{AB}\cdot R_{BC}}$$

Caution: the notation CoC' and CoC'' refer to different estimates of CoC but there is no relation with any first or second derivative.

2.3.8 Sporulation efficiency

SK1 and W303 strains were first crossed with the Mat α tester SK1-XI-R1C2Y3 to produce a diploid. At days 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, and 11 of incubation on SPOR medium at 30°C, cells were picked up and resuspended in 10µl H_2O on a microscope slide to count tetrads and vegetative cells at 1000x magnification.

2.3.9 Spore viability

At day 10 of the sporulation efficiency experiment, we scraped one quadrant of the SK1×SK1 and SK1×W303 lawns and prepared spores as described above for FACS sorting. We then sorted spores from vegetative cells based on SSC and FSC as described above, and distributed one spore per well in two 96-wells plates containing 100µL solid YPD medium. After 48 hours incubation at 30°C, we counted the number of wells in which a colony grew. In rare cases, two colonies were observed in the same well and these events were discarded from further analyses.

2.3.10 Study of fluorescence extinction

We crossed strains SK1 and W303 with the tester SK1-XI-R1C2Y3 and sorted spores fluorescent for RFP and YFP but not for CFP. From each cross, 288 spores were sorted in 96-wells solid YPD plates. After 48 hours incubation at 30°C, we picked up 38 colonies from SK1×SK1 diploids and 29 colonies from SK1×W303 hybrids to check RFP, CFP, and YFP fluorescence intensity by flow cytometry. We then PCR-amplified the middle locus (where CFP marker was inserted) using (1) forward 5'-CCACTTTGCACTTCCGGATT-3' and reverse 5'-CCGCAACTGTTTCCCAATCA-3' primers surrounding the insertion site (-1495bp and +870), and (2) one forward primer in the promoter of the NatMX selection cassette 5'-CTGTCGCCCGTACATTTAGC-3' and one reverse primer 5'-TTGAGTGGACAGTACCATTCGT-3' downstream of the insertion site. PCR products were sized on agarose gel and some of them were Sanger-sequenced.

2.3.11 Estimating fluorescence extinction frequencies, recombination rates, and interference strength by maximum likelihood

Let's consider a tester with three markers A, B, and C at adjacent positions on the chromosome. We constructed a mathematical model based on Mendelian hypotheses expressing the frequencies of the eight classes of fluorescent spores as a function of the following six parameters: the two frequencies of recombination, between markers A and B (r_{AB}) and between markers B and C (r_{BC}), the coefficient of coincidence (CoC: ratio between observed frequencies of double recombinants and expected frequencies of double recombinants in the absence of crossover interference), and the three frequencies of fluorescence extinction for markers A (A_{ext}), B (B_{ext}), and C (C_{ext}). Using the observed numbers of spores belonging to each of the eight classes of fluorescence, we inferred the six parameters described above by maximum likelihood. Specifically, we constructed the likelihood as the probability of the numbers of spores in the eight classes of fluorescence, given the six parameters of the mathematical model described above. We then numerically searched for the combination of parameters which maximizes the logarithm of the likelihood, by using the "optim" function in R with the "L-BFGS-B" algorithm(R script available as **Supplementary Text 1**). To guard against possible convergence of the algorithm to local optima, we repeated the analysis 1000 times using initial values of the parameters uniformly drawn between zero and 0.5 for recombination frequencies, between zero and three for CoC, and between zero and one for fluorescence extinction frequencies. We took the estimated values of the parameters as the mode of the distributions generated by the 1000 trials. To check the relevance of including fluorescence extinction parameters in the model, we verified that the model presented above (with six parameters) had a lower Bayesian Information Criterion than the model without extinction parameters. To check the quality of the model and to assess its usefulness as compared to standard estimations of recombination rate and CoC, we simulated spore numbers in each of the eight classes of fluorescence using the model described above with the following parameters: $r_{AB} = r_{BC}$ ranging between 0 and 0.5, CoC ranging between 0.1 and 1.0, and $A_{ext} = B_{ext} = C_{ext}$ ranging between 0 and 0.05. We then estimated recombination rate, CoC, and extinction frequencies of these simulated data using equation Eq1 and Eq2 (hereafter referred to as naive estimation) or by maximum likelihood using the model (**Supplementary Text 1**).

2.4 RESULTS

We first monitored the progression of meiosis using sporulation rate and ascospore (hereafter referred to as spore) viability as proxies. In the SK1 and W303 crosses with SK1, sporulation rates reached a plateau at respectively 73% and 70% (**Supplementary Figure 5**), and the spore viability rate was respectively 90% and 84%.

2.4.1 Spore isolation

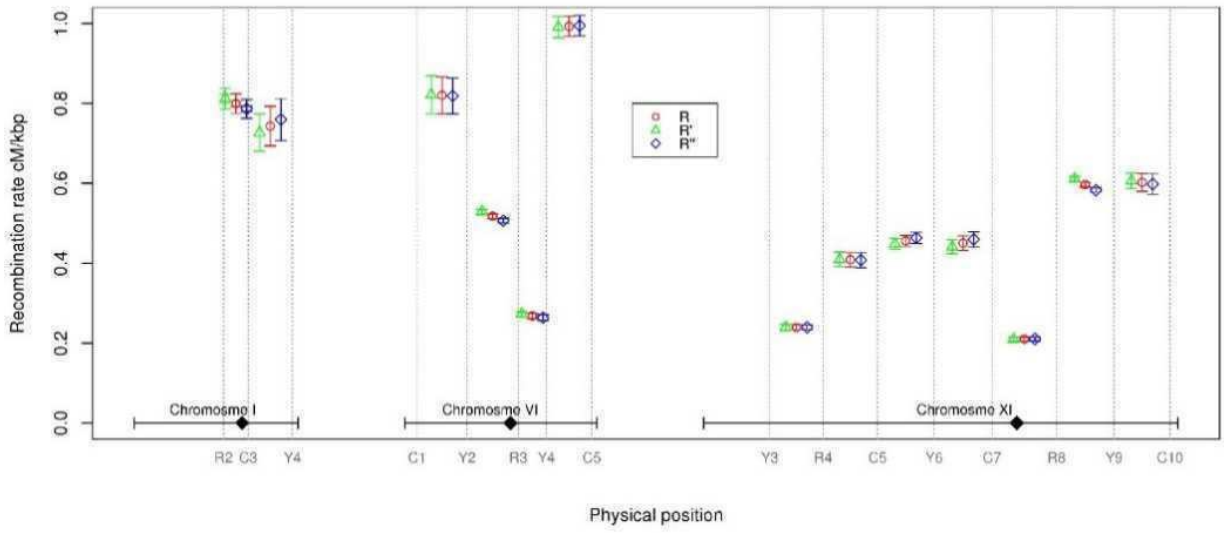
Since the percentage of sporulation never reached 100%, remaining vegetative diploid cells were always present and had to be removed before cytometry analysis. We thus isolated spores from vegetative diploid cells using a method adapted from (Rockmill *et al.*, 1991). Moreover, residual vegetative cells were filtered out during the cytometry analysis using their cell size, shape, and content (indicated by Side Scatter (SSC) and Forward Scatter (FSC); see Materials and Methods) to distinguish them from the spores. To assess the overall efficiency of discriminating vegetative cells, we analyzed a synthetic mixture of 35% TDH3prom-mCherry-*KanMX (*RFP) vegetative cells, 32.5% TDH3prom-yECerulean-*NatMX* (CFP) spores, and 32.5% non-fluorescent spores. After spore isolation from this mixture and flow cytometry analysis, only 0.55% residual RFP vegetative cells were observed, confirming that our selection method for spores is very efficient.

2.4.2 Checks for Mendelian segregation

Many biological (e.g. selection) or technical (e.g. overlapping fluorescence spectra leading to spore miss-assignment) phenomena may bias the Mendelian segregation of alleles. Such bias is called segregation distortion, and can result in inaccurate measurement of recombination and interference. To check for possible biases in our method, we designed the following tests for Mendelian segregation: (1) *Single locus segregation* was checked for each fluorescent marker in spores produced by a diploid SK1 strain and by a SK1xW303 hybrid, both hemizygous for fluorescent markers. All results were close to the expected 1:1 segregation for fluorescent *vs* non-fluorescent spores. Specifically, with SK1 diploids, the measured frequencies of the fluorescent allele ranged from 0.498 (sd=0.001) to 0.507 (sd=0.001) for CFP markers, from 0.499 (sd=0.001) to 0.507 (sd=0.003) for RFP markers, and from 0.494 (sd=0.001) to 0.504 (sd=0.001) for TDH3prom-Venus-*NatMX* (YFP) markers. Similarly, with SK1×W303 hybrids, the measured frequencies ranged from 0.484 (sd=0.006) to 0.507 (sd=0.001) for

CFP markers, from 0.496 (sd=0.001) to 0.512 (sd=0.003) for RFP markers, and from 0.480 (sd=0.001) to 0.502 (sd=0.002) for YFP markers (**Supplementary Figure 6)**. (2) *Segregation of two independent loci* was then checked on SK1 diploids hemizygous for both CFP-I-3 and RFP-VI-3 markers located on different chromosomes. We obtained frequencies of 0.249 for CFP, 0.245 for RFP, 0.255 for CFP-RFP, and 0.250 for non-fluorescent spores, thus close to the expected 1:1:1:1 segregation. (3) *Segregation of two linked loci* was further checked by considering the haplotype frequencies, which are expected to be equal whatever the genetic distance between the markers (See Materials & Methods). With spores from SK1 diploids, the ratios calculated when using parental spores ranged from 0.495 (sd=0.001) to 0.508 (sd=0.001), and it ranged from 0.484 (sd=0.001) to 0.509 (sd=0.003) for spores originating from SK1×W303 hybrids (**Supplementary Figure 7A**). The ratio calculated considering recombinant spores ranged from 0.483 (sd=0.001) to 0.517 (sd=0.005) in spores from SK1 diploids, and from 0.460 (sd=0.001) to 0.594 (sd=0.002) in spores originated from SK1×W303 hybrids (**Supplementary Figure 7B**). (4) Finally, *interference between two independent intervals* was measured on diploid SK1 cells obtained by crossing SK1-I-R2C3 with SK1-VI-C3Y4 haploid strains. Among the 16 possible haplotypes, four classes of spores were unambiguously distinguishable in our conditions (**Supplementary Figure 8**): non-fluorescent spores (parental-type), RFP fluorescent spores (recombinants between I-R2 and I-C3), YFP-fluorescent spores (recombinants between VI-C3 and VI-Y4), and RFP- and YFP-fluorescent spores (double recombinants). Recombination frequencies were: 0.125 between markers I-R2 and I-C3, 0.301 between markers VI-C3 and VI-Y4, and 0.078 for double recombinants, which corresponds to a coefficient of coincidence (CoC) equal to 1.01. The CoC is the ratio between observed fraction of double recombinants and expected fraction of double recombinants if crossovers were independent from each other. So a CoC of 1 indicates absence of interference, and increasing interference strength leads to decreasing CoCs. Thus, our results were consistent with marker intervals being on different chromosomes. Altogether, our four controls showed the expected Mendelian segregations, giving good credence that our approach allows reliable measurements of both recombination rates and interference.

A : SK1 x SK1



B: SK1 x W30

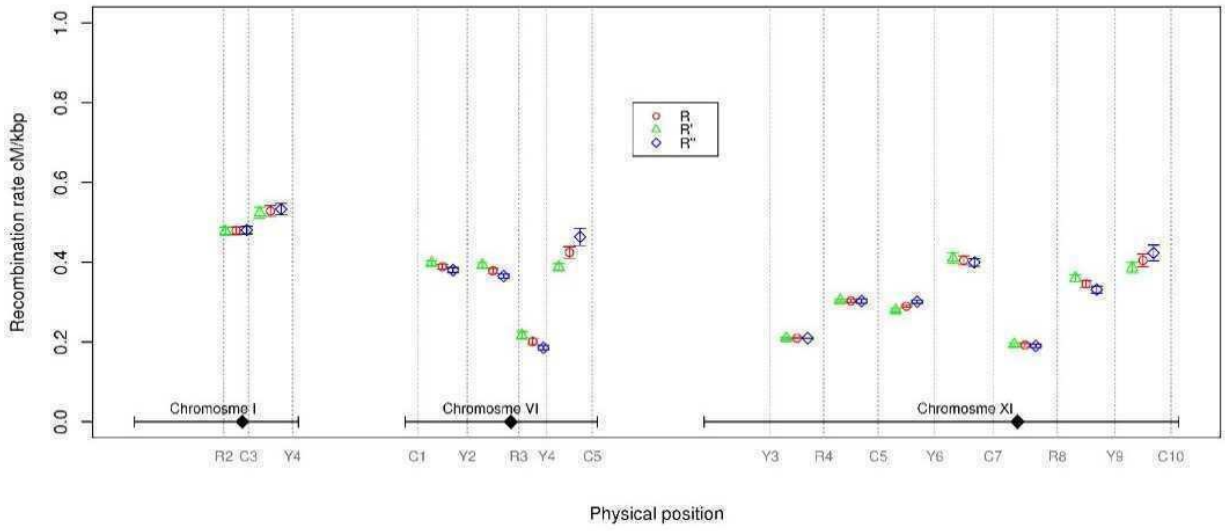
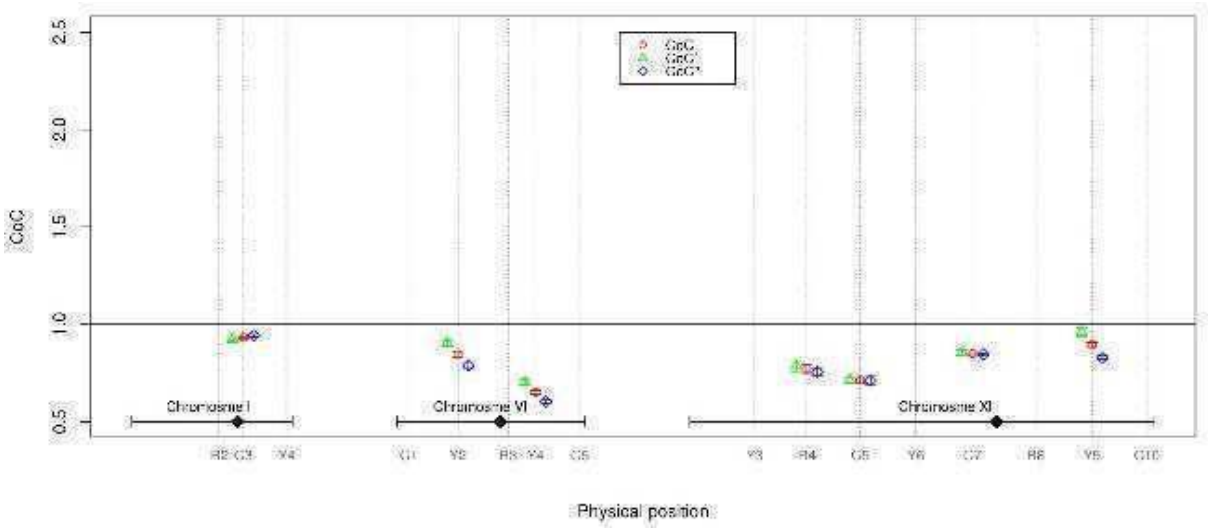


Figure 3: Recombination rate of SK1 diploids (A) and SK1×W303 hybrids (B), hemizygote for A, B, and C markers, calculated in three different ways (see Materials and Methods): (1) *R* = using the two classes of recombinant spores, (2) *R*' = using only the first class of recombinant spores, and (3) *R*'' = using only the other class of recombinant spores. Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graphs.

2.4.3 Measurement of recombination rate

Recombination rates (*R;* See Materials & Methods) ranged from 0.21 cM/kbp (sd=0.005) to 0.99 cM/kbp (sd=0.026) among the 14 intervals on chromosomes I, VI, and XI for the homozygous SK1 diploid, and from 0.19 cM/kbp (sd=0.005) to 0.53 cM/kbp (sd=0.014) for the hybrid SK1×W303 (**Figure 3**). To test a possible impact of segregation distortion on the measurement of recombination rate, we also calculated recombination rates *R*' and *R*'', based on only one or the other of the two fluorescent classes of recombinant spores (See Materials & Methods). In the absence of segregation distortion, one expects *R*=*R*'=*R*''. Otherwise, the segregation distortion is expected to bias R' and R'' towards opposite directions. For instance, considering **Figure 1** for recombination between markers A and B, extinction of marker A creates false +BC recombinants from the most abundant ABC class (which increases R''), and decrease the A++ recombinant class (which decreases R'). Similar reasoning applies for CoCs. We observed no significant difference between *R*, *R*', and *R*'' with homozygous SK1 diploids (**Figure 3A)**, but found significant differences in SK1×W303 hybrids (**Figure 3B)**, especially in the last interval of chromosome VI.

A : SK1 x SK1



B: SK1 x W303

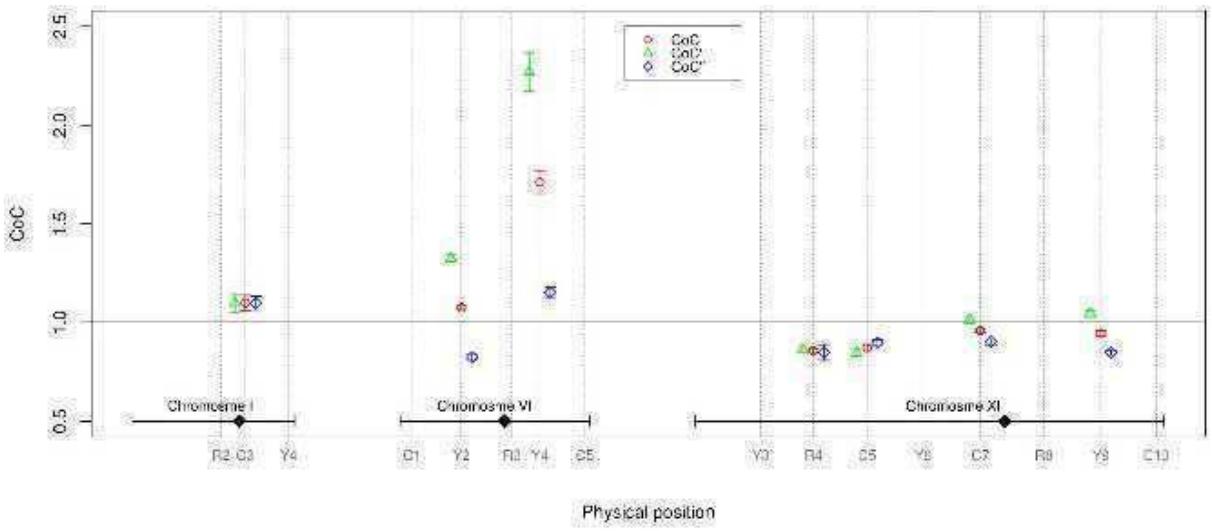


Figure 4: CoC measurement of SK1 diploids (A) and SK1×W303 hybrids (B), hemizygote for A, B, and C markers, calculated by three different way (see Materials and Methods): (1) CoC = using the two classes of double recombinant spores, (2) CoC' = using only one class (A+C) of recombinant spores, and (3) CoC'' = using only the other class (+B+) of recombinant spores. Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graphs.

2.4.4 Measurement of CO interference

CoC measurements and thus interference ranged from 0.71 (sd=0.017) to 0.93 (sd=0.006) for homozygous SK1 diploids, and from 0.85 (sd=0.013) to 1.71 (sd=0.06) for SK1×W303 hybrids (**Figure 4**). To test the impact of segregation distortion on CoC measurement, we also calculated CoC' and CoC'', based respectively on only one of the two A+C and +B+ classes of double recombinants (See Materials & Methods). Some genomic regions showed significantly different values of CoC, CoC', and CoC''. For instance along chromosome VI in SK1×W303 hybrids (**Figure 4B**), we found CoC=1.71 (sd=0.060), CoC' = 2.27 (sd=0.099), and CoC'' = 1.15 (sd=0.026). CoC' was always higher than CoC or CoC'', suggesting that the number of double recombinant A+C spores could be over-estimated. Such biases could originate from a small proportion of ABC spores, which are no longer fluorescent for marker B. We therefore tested this hypothesis by a *three-locus analysis* (See Materials & Methods). If the fluorescence defect is the cause of the bias, when using a tester with three markers genetically linked to each other, one expects an excess of spores with the two external markers only as compared to spores with the central marker only. As fluorescence extinction is expected to affect single recombinant and double recombinant spores at the same rate, this "external markers *vs* central marker" bias between the two classes of double-recombinant spores is expected to be stronger than biases observed in other classes of spores because double recombination events are rarer than single ones. In the *three-locus analysis* the ratio between frequencies of spores with external markers only and spores with the central marker only ranged from 0.495 (*sd*=0.002) to 0.537 (sd=0.007) for SK1×SK1 hybrids, and from 0.48 (sd=0.002) to 0.66 (sd=0.007) for SK1×W303 hybrids (**Supplementary Figure 9**). Outliers showing an excess of spores with only the two external markers were again observed in the SK1×W303 hybrids, particularly on chromosome VI. These results are consistent with the hypothesis that some parental-type tri-fluorescent spores lost the fluorescence phenotype of the central locus.

2.4.5 Analysis of fluorescence extinction

To investigate possible causes of this fluorescence loss, we analyzed the spores from a diploid SK1 strain hemizygote for three linked consecutive fluorescent markers A, B, and C, and sorted A+C fluorescent spores by FACS. To increase the probability of observing spores having lost the central marker by fluorescence extinction and not by a double recombination event, we used a tester strain in

which the markers A and B were very close to each other (physical distance: 5,557 bp), whereas markers B and C were separated by 80,303 bp, which is in the same range as the other intervals used in this study (see Materials and Methods). The A+C spores gave 38 colonies among which 35 displayed the expected A+C fluorescence in SK1×SK1 hybrids, and 26 among which 15 displayed the expected A+C fluorescence in SK1×W303 hybrids. PCR and fragment size analysis showed that for SK1×SK1 hybrids, 14 colonies corresponded to double recombination events and 21 colonies corresponded to loss of marker B, whereas for SK1×W303 hybrids, 6 colonies corresponded to double recombination events and 9 colonies corresponded to loss of marker B. For both crosses, we sequenced one A+C colony supposed to correspond to a double recombination event based on PCR results, and observed a wild-type sequence at the central B locus, indicating a true double CO. We sequenced three A+C spores originating from SK1×SK1 hybrids, for which PCR product lengths suggested a loss of the central B marker, and we observed for two of them that the sequence of the B marker (CFP) was replaced by the sequence of the external A marker (RFP). For the third spore, the sequence of the B marker was replaced by the sequence of the external C marker (YFP). In SK1×W303, four colonies A+C for which PCR product lengths suggested a loss of the central B marker were sequenced. They revealed a replacement of the sequence of marker B (CFP) by the sequence of marker A (RFP) for three of them, and by the sequence of marker C (YFP) for the fourth spore. This result can be explained by homologous recombination events due to the fact that markers A, B, and C share large stretches of identical sequences, particularly in their promoter and terminator regions.

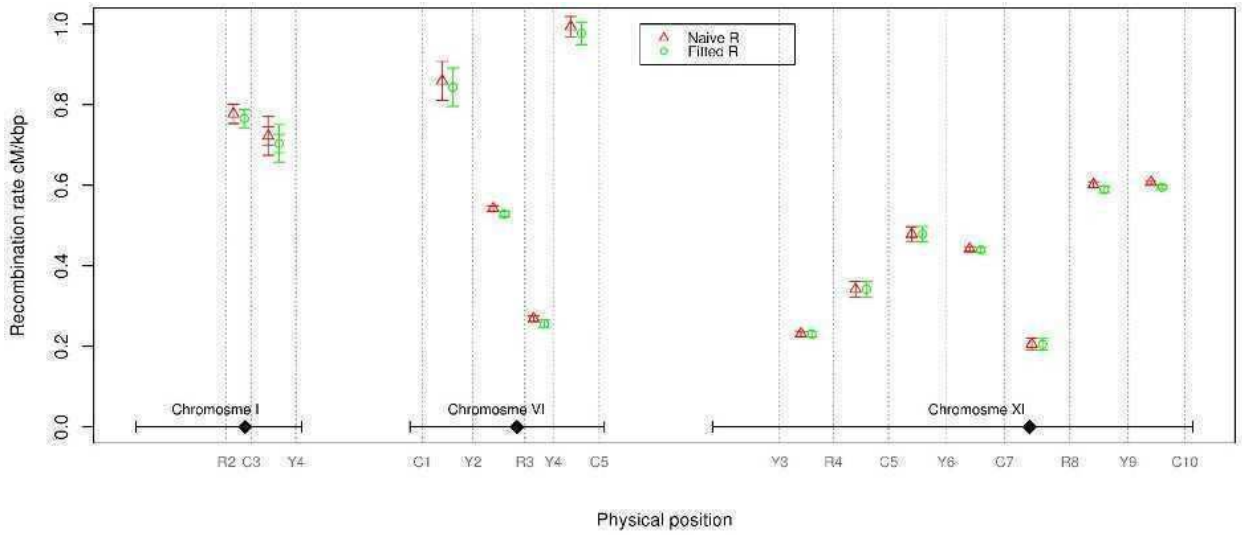
2.4.6 Correction of fluorescence extinction

Such fluorescence “extinction” is expected to impact the estimation of recombination rate and especially the interference measurements based on rare double events. To overcome this problem we designed a mathematical model (See Materials & Methods) that allows to simultaneously estimate fluorescence extinction frequencies and recombination rates as well as CoC from flow cytometry data. From simulated data (See Materials & Methods), we observed that naive estimations of recombination rate (using equation Eq1) are overestimated when fluorescence extinction frequency is high (**Supplementary Figure 10A**). This overestimation is even higher for CoC, with for example a CoC estimation (using equation Eq2) of 1.63 for a simulated CoC of 0.8 with r=0.1, and 5% fluorescence extinction (**Supplementary Figure 11A**). On the other hand, the parameters inferred with the model perfectly matched the values used to simulate the data. (**Supplementary Figure 10B and 11B**). Using

this model, the extinction frequencies estimated for the three consecutive markers of a tester ranged respectively from 0 to 0.015 (sd=0.007) for SK1×SK1 diploids, and from 0 to 0.038 (sd=0.002) for SK1×W303 hybrids (**Supplementary Figure 12**). As expected, the highest extinction rates were obtained for the SK1×W303 hybrid, which shows the strongest segregation distortion. To provide an experimental measurement of such extinction frequencies, we analyzed by flow cytometry spores from tri-fluorescent homozygous SK1 diploids in which all spores are expected to be fluorescent at the three loci. However we found fluorescence extinction rates ranging between 0.1% and 1%, which is in accordance with the frequencies of extinction predicted by the mathematical model. Consequently, this model allows to reliably estimate recombination rates and interference even in the presence of fluorescence extinction, whatever its biological explanation might be.

When comparing the naïve calculations of recombination rates using Eq 1 with fitted estimations using the model, no significant differences were found for SK1×SK1 diploids (**Figure 5A**), but for SK1×W303 hybrids (**Figure 5B**), naïve calculations of recombination rate were significantly higher than the corresponding estimations using the model. This is particularly the case for chromosome VI, which also shows the highest segregation distortions. Fitted estimations of recombination rates across the seven testers ranged from 0.20 (sd=0.005) to 0.98 (sd=0.028) for SK1×SK1 diploids, and from 0.15 (sd=0.014) to 0.49 (sd=0.011) for SK1×W303 hybrids. Finally, we compared the naïve calculations and fitted estimations of CoC and observed significant differences on the last part of chromosome VI for SK1×SK1 diploids (**Figure 6A**), but also, more dramatically and in more chromosomal regions, for SK1×W303 hybrids (**Figure 6B**). Fitted estimations of CoC across the seven testers ranged from 0.61 (sd=0.022) to 0.92 (sd=0.005) for SK1×SK1 diploids, and from 0.85 (sd=0.014) to 1.39 (sd=0.020) for SK1×W303 hybrids. CoC decreases as CO interference increases, and CoC=1 indicates absence of interference. We thus observed significant interference in most intervals, especially in the SK1×SK1 diploids.

A: SK1 x SK1



B: SK1 x W303

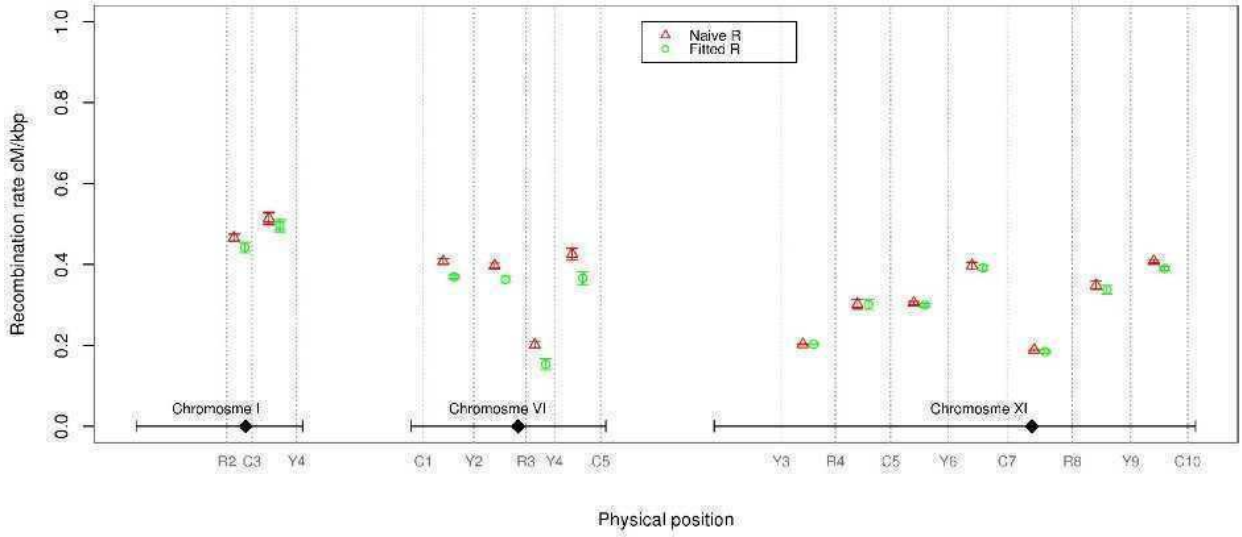
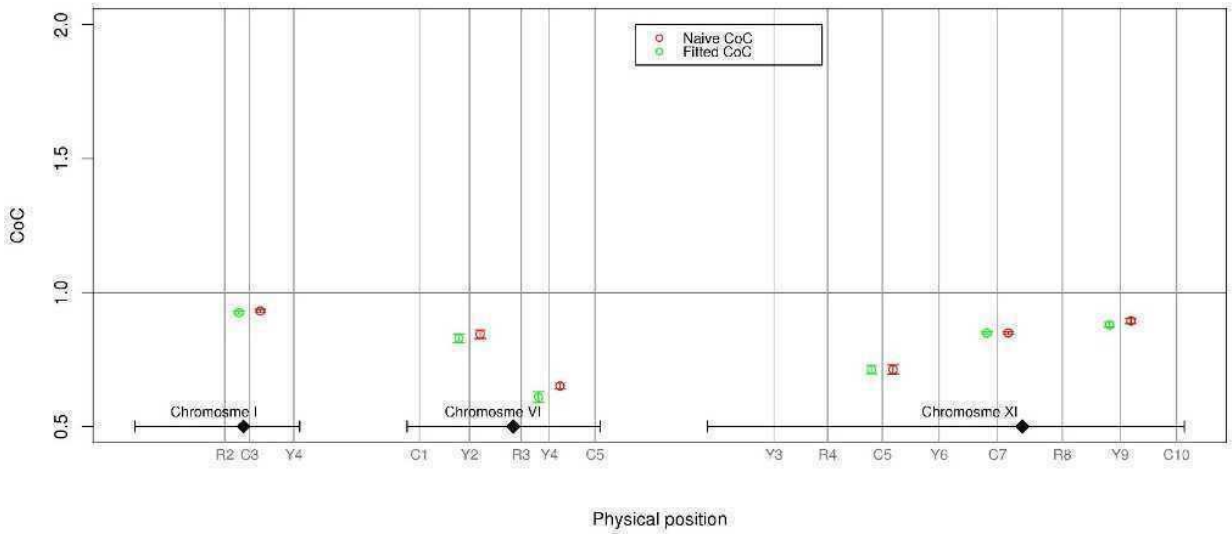


Figure 5: Comparison between naive estimation and fitted estimation

(using the extinction model; see Materials & Methods) of recombination rate (R) of SK1 diploids (A) and SK1×W303 hybrids (B). Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graphs.

A: SK1 x SK1



B: SK1 x W303

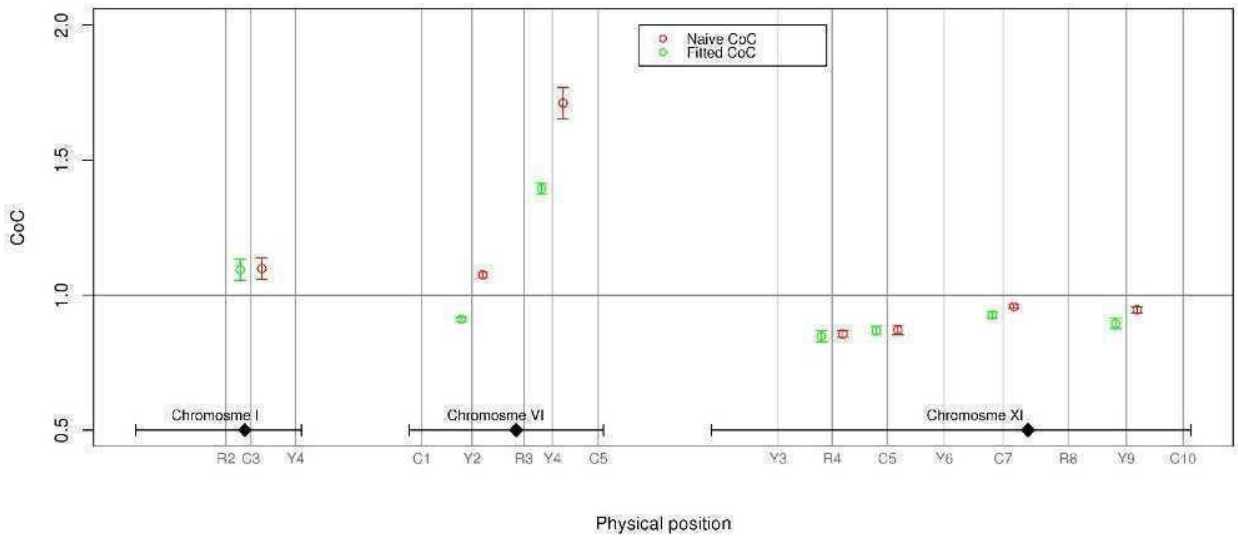


Figure 6: Comparison between naive estimation and fitted estimation of CoC for SK1 diploids (A) and SK1×W303 hybrids (B).

Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graphs.

2.5 DISCUSSION

Our new method of analyzing recombination rates observes the meiotic products, thereby eliminating effects arising downstream from spore non-viability. Classical analyses rely on spore growth, which filters out non-viable spores (10% to 16% in our results) from the recombination calculations. Such spores are possibly aneuploid because of meiosis defects, and our method without growth step allows to keep this information. Another keystone of our method is that the only fluorescent proteins visible in the spore cytoplasm are those encoded by the genome of the spore. This was not obvious beforehand because remaining cytoplasmic proteins from the parent diploid cells could still be present in the cytoplasm of the spores. We checked this extensively by (1) observing non fluorescent spores coming from hemizygous diploids using fluorescence microscopy (see example in **Supplementary Figure 1**): no putative remaining fluorescent proteins was ever observed in the spore cytoplasm, and (2) analyzing the distributions of fluorescence intensity in spores by flow cytometry (see example in **Supplementary Figure 13**): no peak overlap was observed in these distributions, so our fluorescence classes are reliable. This finding indicates also that during the meiotic process, fluorescent proteins expressed in the diploid parent cells are either not transferred to the cytoplasm of the spore or degraded during meiosis as previously observed in the case of cell cycle-related proteins (Tan, Lewandowski, Mallory, Strich, & Cooper, 2013). Then spore expression is due to autonomous expression of proteins as soon as the four spores resulting from meiosis are isolated by a membrane as previously shown (Neiman, 2005). Similar approaches have been successfully achieved in *S. cerevisiae* tetrads (Thacker *et al.*, 2011). These authors described a method based on microscope observations of fluorescent tetrads, which limits the achievable number of observations. On the other hand, flow cytometry allows the analysis of millions of spores within a few minutes, but analyzing individual spores by flow cytometry on very large populations was never done in budding yeast. Thacker *et al.* (2011) reported unsuccessful attempts; the cytometry results presented in their figure 1 show surprisingly overlapping distributions of fluorescence intensity between fluorescent and non-fluorescent individual spores, whereas their fluorescence microscopy images of the corresponding tetrads are extremely well contrasted. Several factors might cause similar issues, such as suboptimal filters in the flow cytometer, expression instability in the isolated spores, or inadequate FSC/SSC gating of spores *vs* vegetative cells or debris. In analogy with what has already been described in *A. thaliana* (Yelina *et al.*, 2013), we observed that some of our flow cytometry data showed segregation distortion. This bias was very low for SK1×SK1 diploids and had a negligible impact on recombination rate and

interference measurements. However, our data also indicated clearly that estimation of recombination rates and interference in hybrids must be analyzed carefully because of higher segregation distortion. Distortion could be due to various features such as (1) ambiguous levels of fluorescence leading to mis-assignments of spores to fluorescent *vs* non-fluorescent classes, (2) loss of a fluorescent marker by gene conversion, or (3) loss or color replacement of a fluorescence marker due to an intra-chromosomal homologous recombination between markers that share long stretches of identical sequences in their promoter and selection cassettes. Our analysis can exclude the first hypothesis because the distributions of fluorescence intensity were non-overlapping between fluorescent and non-fluorescent spores (**Supplementary Figure 13**). Gene conversion (2) is difficult to estimate when the number of SNPs in the converted region is low; we did however not observe gene conversions in our PCR analyses of 30 spores. Instead, our sequencing results revealed that the bias is mostly due to events described in the third hypothesis. Technical factors related to flow cytometry are probably not a cause of fluorescence extinction because our sequencing results never showed a valid marker sequence in the spores for which the corresponding fluorescence was extinct. Furthermore, the presence of such events can explain most of our observed segregation distortions. Whatever the exact mechanism responsible for this bias, we overcame it by developing a mathematical model which incorporates a certain level of fluorescence extinction. This model was fitted to flow cytometry data to estimate fluorescence extinction frequencies as well as recombination rates and CoCs. We obtained fluorescence extinction frequency estimates ranging from 0.6% to 3.8%, which is in agreement with our experimental estimation of fluorescence extinction based on spores from a diploid carrying fluorescent markers in the homozygous state. Significant differences observed between R, R', and R'' and between CoC, CoC', and CoC'' (these are the values of recombination rates and coefficients of coincidence obtained using different fluorescence classes, *cf* Results section) show that segregation distortion can bias measurements of recombination rate and interference, but again we overcame this bias by using an appropriate mathematical model. With this correction, the estimations of recombination rates for both SK1×SK1diploids and SK1×W303 hybrids are consistent with previous estimations in budding yeast genome-wide: 0.4 cM/kbp (Cubillos *et al.*, 2011b)), 0.61 cM/kbp (Mancera *et al.*, 2008b), or from 0.29 to 0.63 cM/kbp specifically for chromosome VII left arm (Malkova *et al.*, 2004). Also, we always observed significant positive CO interference for diploids SK1×SK1, which is in accordance with previous studies reporting positive interference in *S. cerevisiae* (Chen *et al.*, 2008; de los Santos *et al.*, 2003; Malkova *et al.*, 2004; Stahl *et al.*, 2004). We also observed

significant variation of CoC values along chromosomes, which may reflect a variation of the CO/NCO ratio, as already reported in *S. cerevisiae* (Mancera *et al.*, 2008b; Zhao *et al.*, 1995) and in *Arabidopsis thaliana* (Basu-Roy *et al.*, 2013). However, CoC values of SK1×W303 hybrids showed apparent negative (or absence of) CO interference (CoC > 1), especially on chromosome VI. Negative interference has been previously described in a *S. cerevisiae* mutant affecting the synaptonemal complex formation (Tsubouchi, Zhao, & Roeder, 2006, p. 2), as well as in wild-type wheat (Peng *et al.*, 2000), and maize (Auger & Sheridan, 2001). Different interpretations have been proposed to explain negative interference, among which the possibility that CoC > 1 may result from several factors including "apparent negative interference" (Pritchard, 1960; Sall & Bengtsson, 1989).

In conclusion our new method developed here has several advantages. (1) Although the data we presented are limited to two entire chromosomes and part of a third one, our method can potentially cover the entire genome. Producing many additional testers would require a substantial initial investment, but further analysis procedures, including spore preparation and flow cytometry, can be efficiently automated. (2) The disadvantage of using single spores in flow cytometry is compensated by the possibility to analyses of very large numbers of progenies. However our method lacks the genetic information potentially given by analyses of tetrads, that is all four products of meiosis (Mancera *et al.*, 2008b; Thacker *et al.*, 2011). (3) Moreover, our method allows measurements of recombination rates and interference strength with an unprecedented high-throughput at a very low cost per sample once a flow cytometer is available. (4) The fact that the different fluorescent markers are expressed in the spores allows accurate estimations of recombination rate and CoC in very large samples of wild type, hybrid and mutant strains without the growing steps required in other methods. (5) Finally, we showed that the segregation distortion due to the loss of fluorescent markers can be faithfully overcome by using the mathematical model developed for our data analysis.

2.6 Acknowledgements

The authors thank Denise Zickler for helpful comments on the manuscript. The present work has benefited from the Cytometry / Electronic Microscopy / Light Microscopy facility of Imagerie-Gif, (http://www.i2bc.paris-saclay.fr), member of IBiSA (http://www.ibisa.net), supported by "France-BioImaging" (ANR-10-INBS-04-01), and the Labex "Saclay Plant Science" (ANR-11-IDEX-0003-02). This work was also partly funded by CNRS (PEPS and IFR87).

2.7 REFERENCES

Abrahan Hernández-Hernández, Rosario Ortiz Hernádez, and Gerardo H. Vázquez-Nin (2012). Epigenetics of the Synaptonemal Complex. In Meiosis - Molecular Mechanisms and Cytogenetic Diversity, p.

Acquaviva, L., Szekvolgyi, L., Dichtl, B., Dichtl, B.S., Saint Andre, C. d. L.R., Nicolas, A., and Geli, V. (2012). The COMPASS Subunit Spp1 Links Histone Methylation to Initiation of Meiotic Recombination. Science *339*, 215–218.

Aggarwal, D.D., Rashkovetsky, E., Michalak, P., Cohen, I., Ronin, Y., Zhou, D., Haddad, G.G., and Korol, A.B. (2015). Experimental evolution of recombination and crossover interference in Drosophila caused by directional selection for stress-related traits. BMC Biol. *13*, 101.

Aklilu, B.B., Soderquist, R.S., and Culligan, K.M. (2014). Genetic analysis of the Replication Protein A large subunit family in Arabidopsis reveals unique and overlapping roles in DNA repair, meiosis and DNA replication. Nucleic Acids Res. *42*, 3104–3118.

Albertin, W., and Marullo, P. (2012). Polyploidy in fungi: evolution after whole-genome duplication. Proc. Biol. Sci. *279*, 2497–2509.

Anderson, L.K., Reeves, A., Webb, L.M., and Ashley, T. (1999). Distribution of Crossing Over on Mouse Synaptonemal Complexes Using Immunofluorescent Localization of MLH1 Protein. Genetics *151*, 1569–1579.

Anderson, L.K., Doyle, G.G., Brigham, B., Carter, J., Hooker, K.D., Lai, A., Rice, M., and Stack, S.M. (2003). High-resolution crossover maps for each bivalent of Zea mays using recombination nodules. Genetics *165*, 849–865.

Anderson, L.K., Lohmiller, L.D., Tang, X., Hammond, D.B., Javernick, L., Shearer, L., Basu-Roy, S., Martin, O.C., and Falque, M. (2014). Combined fluorescent and electron microscopic imaging unveils the specific properties of two classes of meiotic crossovers. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *111*, 13415–13420.

Auger, D.L., and Sheridan, W.F. (2001). Negative Crossover Interference in Maize Translocation Heterozygotes. Genetics *159*, 1717–1726.

Bass, H.W. (2003). Telomere dynamics unique to meiotic prophase: formation and significance of the bouquet. Cell. Mol. Life Sci. CMLS *60*, 2319–2324.

Basu-Roy, S., Gauthier, F., Giraut, L., Mézard, C., Falque, M., and Martin, O.C. (2013). Hot regions of noninterfering crossovers coexist with a nonuniformly interfering pathway in Arabidopsis thaliana. Genetics *195*, 769–779.

Baudat, F., and de Massy, B. (2007). Regulating double-stranded DNA break repair towards crossover or non-crossover during mammalian meiosis. Chromosome Res. *15*, 565–577.

Baudat, F., Buard, J., Grey, C., Fledel-Alon, A., Ober, C., Przeworski, M., Coop, G., and de Massy, B. (2009). PRDM9 Is a Major Determinant of Meiotic Recombination Hotspots in Humans and Mice. Science *327*, 836–840.

Bauer, E., Falque, M., Walter, H., Bauland, C., Camisan, C., Campo, L., Meyer, N., Ranc, N., Rincent, R., Schipprack, W., *et al.* (2013). Intraspecific variation of recombination rate in maize. Genome Biol. *14*, R103.

Berchowitz, L.E., and Copenhaver, G.P. (2008). Fluorescent Arabidopsis tetrads: a visual assay for quickly developing large crossover and crossover interference data sets. Nat. Protoc. *3*, 41–50.

Berchowitz, L.E., and Copenhaver, G.P. (2010). Genetic Interference: Don't Stand So Close to Me. Curr. Genomics *11*, 91–102.

Berchowitz, L.E., Francis, K.E., Bey, A.L., and Copenhaver, G.P. (2007). The Role of AtMUS81 in Interference-Insensitive Crossovers in A. thaliana. PLoS Genet. *3*.

Berg, I.L., Neumann, R., Sarbajna, S., Odenthal-Hesse, L., Butler, N.J., and Jeffreys, A.J. (2011). Variants of the protein PRDM9 differentially regulate a set of human meiotic recombination hotspots highly active in African populations. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *108*, 12378–12383.

Berset-Brändli, L., Jaquiéry, J., Broquet, T., Ulrich, Y., and Perrin, N. (2008). Extreme heterochiasmy and nascent sex chromosomes in European tree frogs. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. *275*, 1577–1585.

Bevan, M.W., Uauy, C., Wulff, B.B.H., Zhou, J., Krasileva, K., and Clark, M.D. (2017). Genomic innovation for crop improvement. Nature *543*, 346–354.

Bingham, E.T., Burnham, C.R., and Gates, C.E. (1968). Double and single backcross linkage estimates in autotetraploid maize. Genetics *59*, 399–410.

Birdsell, J.A., and Wills, C. (2003). The Evolutionary Origin and Maintenance of Sexual Recombination: A Review of Contemporary Models. In Evolutionary Biology, (Springer, Boston, MA), pp. 27–138.

Bishop, D.K., and Zickler, D. (2004). Early Decision: Meiotic Crossover Interference prior to Stable Strand Exchange and Synapsis. Cell *117*, 9–15.

de Boer, E., Stam, P., Dietrich, A.J.J., Pastink, A., and Heyting, C. (2006). Two levels of interference in mouse meiotic recombination. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *103*, 9607–9612.

Borde, V., and de Massy, B. (2013a). Programmed induction of DNA double strand breaks during meiosis: setting up communication between DNA and the chromosome structure. Curr. Opin. Genet. Dev. *23*, 147–155.

Borde, V., and de Massy, B. (2013b). Programmed induction of DNA double strand breaks during meiosis: setting up communication between DNA and the chromosome structure. Curr. Opin. Genet. Dev. *23*, 147–155.

Börner, G.V., Kleckner, N., and Hunter, N. (2004). Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation, and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis. Cell *117*, 29–45.

Borts, R.H., and Haber, J.E. (1987). Meiotic recombination in yeast: alteration by multiple heterozygosities. Science *237*, 1459–1465.

Botstein, D., and Fink, G.R. (2011). Yeast: an experimental organism for 21st Century biology. Genetics *189*, 695–704.

Brisson, N., Gate, P., Gouache, D., Charmet, G., Oury, F.-X., and Huard, F. (2010). Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. Field Crops Res. *119*, 201–212.

Brockway, H., Balukoff, N., Dean, M., Alleva, B., and Smolikove, S. (2014). The CSN/COP9 Signalosome Regulates Synaptonemal Complex Assembly during Meiotic Prophase I of Caenorhabditis elegans. PLoS Genet. *10*.

Brown, M.S., and Bishop, D.K. (2014). DNA strand exchange and RecA homologs in meiosis. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. *7*, a016659.

Brown, M.S., Lim, E., Chen, C., Nishant, K.T., and Alani, E. (2013). Genetic Analysis of mlh3 Mutations Reveals Interactions Between Crossover Promoting Factors During Meiosis in Baker's Yeast. G3 GenesGenomesGenetics *3*, 9–22.

Buard, J., and de Massy, B. (2007). Playing hide and seek with mammalian meiotic crossover hotspots. Trends Genet. TIG *23*, 301–309.

Buard, J., Rivals, E., Dunoyer de Segonzac, D., Garres, C., Caminade, P., de Massy, B., and Boursot, P. (2014). Diversity of Prdm9 zinc finger array in wild mice unravels new facets of the evolutionary turnover of this coding minisatellite. PloS One *9*, e85021.

Bürger, R. (1999). Evolution of genetic variability and the advantage of sex and recombination in changing environments. Genetics *153*, 1055–1069.

Callender, T.L., and Hollingsworth, N.M. (2010). Mek1 suppression of meiotic double-strand break repair is specific to sister chromatids, chromosome autonomous and independent of Rec8 cohesin complexes. Genetics *185*, 771–782.

Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., and Madden, T.L. (2009). BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics *10*, 421.

Cao, L., Alani, E., and Kleckner, N. (1990). A pathway for generation and processing of double-strand breaks during meiotic recombination in *S. cerevisiae*. Cell *61*, 1089–1101.

Carpenter, A.T.C. (1975). Electron microscopy of meiosis in Drosophila melanogaster females: II: The recombination nodule—a recombination-associated structure at pachytene? Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *72*, 3186–3189.

Cattani, M.V., Kingan, S.B., and Presgraves, D.C. (2012). Cis- and trans-acting genetic factors contribute to heterogeneity in the rate of crossing over between the Drosophila simulans clade species. J. Evol. Biol. *25*, 2014–2022.

Cavalieri, D., McGovern, P.E., Hartl, D.L., Mortimer, R., and Polsinelli, M. (2003). Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine. J. Mol. Evol. *57 Suppl 1*, S226-232.

Chakraborty, P., Pankajam, A.V., Lin, G., Dutta, A., Krishnaprasad, G.N., Tekkedil, M.M., Shinohara, A., Steinmetz, L.M., and Nishant, K.T. (2017). Modulating Crossover Frequency and Interference for Obligate Crossovers in *Saccharomyces cerevisiae* Meiosis. G3 GenesGenomesGenetics *7*, 1511–1524.

Chakraborty, U., George, C.M., Lyndaker, A.M., and Alani, E. (2015). A Delicate Balance Between Repair and Replication Factors Regulates Recombination Between Divergent DNA Sequences in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics genetics.115.184093.

Chambers, S.R., Hunter, N., Louis, E.J., and Borts, R.H. (1996). The mismatch repair system reduces meiotic homeologous recombination and stimulates recombination-dependent chromosome loss. Mol. Cell. Biol. *16*, 6110–6120.

Chaney, L., Sharp, A.R., Evans, C.R., and Udall, J.A. (2016). Genome Mapping in Plant Comparative Genomics. Trends Plant Sci. *21*, 770–780.

Charlesworth, B., and Charlesworth, D. (1985a). Genetic variation in recombination in Drosophila. I. Responses to selection and preliminary genetic analysis. Heredity *54*, 71–83.

Charlesworth, B., and Charlesworth, D. (1985b). Genetic variation in recombination in Drosophila. II. Genetic analysis of a high recombination stock. Heredity *54*, 85–98.

Charlesworth, D., and Willis, J.H. (2009). The genetics of inbreeding depression. Nat. Rev. Genet. *10*, 783–796.

Chen, S.Y., Tsubouchi, T., Rockmill, B., Sandler, J.S., Richards, D.R., Vader, G., Hochwagen, A., Roeder, G.S., and Fung, J.C. (2008). Global Analysis of the Meiotic Crossover Landscape. Dev. Cell *15*, 401–415.

Cherry, J.M., Hong, E.L., Amundsen, C., Balakrishnan, R., Binkley, G., Chan, E.T., Christie, K.R., Costanzo, M.C., Dwight, S.S., Engel, S.R., *et al.* (2012). Saccharomyces Genome Database: the genomics resource of budding yeast. Nucleic Acids Res. *40*, D700–D705.

Chetelat, R.T., Meglic, V., and Cisneros, P. (2000). A genetic map of tomato based on BC(1) Lycopersicon esculentum x Solanum lycopersicoides reveals overall synteny but suppressed recombination between these homeologous genomes. Genetics *154*, 857–867.

Chinnici, J.P. (1971). Modification of Recombination Frequency in Drosophila. I. Selection for Increased and Decreased Crossing over. Genetics *69*, 71–83.

Choi, K. (2017). Advances towards Controlling Meiotic Recombination for Plant Breeding. Mol. Cells *40*, 814–822.

Choi, K., Zhao, X., Kelly, K.A., Venn, O., Higgins, J.D., Yelina, N.E., Hardcastle, T.J., Ziolkowski, P.A., Copenhaver, G.P., Franklin, F.C.H., *et al.* (2013). Arabidopsis meiotic crossover hotspots overlap with H2A.Z nucleosomes at gene promoters. Nat. Genet. *45*.

Cole, F., Baudat, F., Grey, C., Keeney, S., de Massy, B., and Jasin, M. (2014). Mouse tetrad analysis provides insights into recombination mechanisms and hotspot evolutionary dynamics. Nat. Genet. *46*, 1072–1080.

Comeron, J.M., Ratnappan, R., and Bailin, S. (2012). The Many Landscapes of Recombination in Drosophila melanogaster. PLOS Genet. *8*, e1002905.

Connolly, B., White, C.I., and Haber, J.E. (1988). Physical monitoring of mating type switching in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol. Cell. Biol. *8*, 2342–2349.

Consortium (IWGSC), T.I.W.G.S. (2014). A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (Triticum aestivum) genome. Science *345*, 1251788.

Coop, G., Wen, X., Ober, C., Pritchard, J.K., and Przeworski, M. (2008). High-Resolution Mapping of Crossovers Reveals Extensive Variation in Fine-Scale Recombination Patterns Among Humans. Science *319*, 1395–1398.

Crismani, W., Girard, C., Froger, N., Pradillo, M., Santos, J.L., Chelysheva, L., Copenhaver, G.P., Horlow, C., and Mercier, R. (2012). FANCM limits meiotic crossovers. Science *336*, 1588–1590.

Crismani, W., Girard, C., and Mercier, R. (2013). Tinkering with meiosis. J. Exp. Bot. *64*, 55–65.

Cubillos, F.A., Louis, E.J., and Liti, G. (2009). Generation of a large set of genetically tractable haploid and diploid Saccharomyces strains. FEMS Yeast Res. *9*, 1217–1225.

Cubillos, F.A., Billi, E., Zörgö, E., Parts, L., Fargier, P., Omholt, S., Blomberg, A., Warringer, J., Louis, E.J., and Liti, G. (2011a). Assessing the complex architecture of polygenic traits in diverged yeast populations. Mol. Ecol. *20*, 1401–1413.

Cubillos, F.A., Billi, E., ZöRgö, E., Parts, L., Fargier, P., Omholt, S., Blomberg, A., Warringer, J., Louis, E.J., and Liti, G. (2011b). Assessing the complex architecture of polygenic traits in diverged yeast populations: YEAST COMPLEX TRAITS. Mol. Ecol. *20*, 1401–1413.

Cubillos, F.A., Parts, L., Salinas, F., Bergstrom, A., Scovacricchi, E., Zia, A., Illingworth, C.J.R., Mustonen, V., Ibstedt, S., Warringer, J., *et al.* (2013a). High-Resolution Mapping of Complex Traits with a Four-Parent Advanced Intercross Yeast Population. Genetics *195*, 1141–1155.

Cubillos, F.A., Parts, L., Salinas, F., Bergström, A., Scovacricchi, E., Zia, A., Illingworth, C.J.R., Mustonen, V., Ibstedt, S., Warringer, J., *et al.* (2013b). High-Resolution Mapping of Complex Traits with a Four-Parent Advanced Intercross Yeast Population. Genetics *195*, 1141–1155.

Cubillos, F.A., Brice, C., Molinet, J., Tisné, S., Abarca, V., Tapia, S.M., Oporto, C., García, V., Liti, G., and Martínez, C. (2017). Identification of Nitrogen Consumption Genetic Variants in Yeast Through QTL Mapping and Bulk Segregant RNA-Seq Analyses. G3 GenesGenomesGenetics *7*, 1693–1705.

Datta, A., Hendrix, M., Lipsitch, M., and Jinks-Robertson, S. (1997). Dual roles for DNA sequence identity and the mismatch repair system in the regulation of mitotic crossing-over in yeast. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *94*, 9757–9762.

DeLuna, A., Springer, M., Kirschner, M.W., and Kishony, R. (2010). Need-Based Up-Regulation of Protein Levels in Response to Deletion of Their Duplicate Genes. PLOS Biol. *8*, e1000347.

Ding, X., Xu, R., Yu, J., Xu, T., Zhuang, Y., and Han, M. (2007). SUN1 Is Required for Telomere Attachment to Nuclear Envelope and Gametogenesis in Mice. Dev. Cell *12*, 863–872.

Dooner, H.K. (2002). Extensive interallelic polymorphisms drive meiotic recombination into a crossover pathway. Plant Cell *14*, 1173–1183.

Dowrick, G.J. (1957). The influence of temperature on meiosis. Heredity *11*, 37–49.

Dumont, B.L., Broman, K.W., and Payseur, B.A. (2009). Variation in Genomic Recombination Rates Among Heterogeneous Stock Mice. Genetics *182*, 1345–1349.

Duroc, Y., Lemhemdi, A., Larchevêque, C., Hurel, A., Cuacos, M., Cromer, L., Horlow, C., Armstrong, S.J., Chelysheva, L., and Mercier, R. (2014). The kinesin AtPSS1 promotes synapsis and is required for proper crossover distribution in meiosis. PLoS Genet. *10*, e1004674.

edited by Richard E. Michod and Bruce R. Levin (1988). The Evolution of sex : an examination of current ideas (Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, [1988] ©1988).

Edlinger, B., and Schlögelhofer, P. (2011). Have a break: determinants of meiotic DNA double strand break (DSB) formation and processing in plants. J. Exp. Bot. *62*, 1545–1563.

Egel, R., and Penny, D. (2007). On the Origin of Meiosis in Eukaryotic Evolution: Coevolution of Meiosis and Mitosis from Feeble Beginnings. In Recombination and Meiosis, (Springer, Berlin, Heidelberg), pp. 249–288.

Falque, M., Anderson, L.K., Stack, S.M., Gauthier, F., and Martin, O.C. (2009). Two Types of Meiotic Crossovers Coexist in Maize. Plant Cell *21*, 3915–3925.

Fay, J.C. (2013). The molecular basis of phenotypic variation in yeast. Curr. Opin. Genet. Dev. *23*, 672–677.

Fay, J.C., and Benavides, J.A. (2005). Evidence for domesticated and wild populations of *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS Genet. *1*, 66–71.

Fernandes, J.B., Duhamel, M., Seguéla-Arnaud, M., Froger, N., Girard, C., Choinard, S., Solier, V., De Winne, N., De Jaeger, G., Gevaert, K., *et al.* (2018a). FIGL1 and its novel partner FLIP form a conserved complex that regulates homologous recombination. PLoS Genet. *14*, e1007317.

Fernandes, J.B., Séguéla-Arnaud, M., Larchevêque, C., Lloyd, A.H., and Mercier, R. (2018b). Unleashing meiotic crossovers in hybrid plants. Proc. Natl. Acad. Sci. *115*, 2431–2436.

Fledel-Alon, A., Leffler, E.M., Guan, Y., Stephens, M., Coop, G., and Przeworski, M. (2011). Variation in Human Recombination Rates and Its Genetic Determinants. PLoS ONE *6*, e20321.

Forterre, P., Gribaldo, S., Gadelle, D., and Serre, M.-C. (2007). Origin and evolution of DNA topoisomerases. Biochimie *89*, 427–446.

Francis, K.E., Lam, S.Y., Harrison, B.D., Bey, A.L., Berchowitz, L.E., and Copenhaver, G.P. (2007). Pollen tetrad-based visual assay for meiotic recombination in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *104*, 3913–3918.

Fransz, P., Linc, G., Lee, C., Aflitos, S.A., Lasky, J.R., Toomajian, C., Ali, H., Peters, J., van Dam, P., Ji, X., *et al.* (2016). Molecular, genetic and evolutionary analysis of a paracentric inversion in Arabidopsis thaliana. Plant J. *88*, 159–178.

Garcia, V., Phelps, S.E.L., Gray, S., and Neale, M.J. (2011). Bidirectional resection of DNA double-strand breaks by Mre11 and Exo1. Nature *479*, 241–244.

Garrett, K.A., Dendy, S.P., Frank, E.E., Rouse, M.N., and Travers, S.E. (2006). Climate change effects on plant disease: genomes to ecosystems. Annu. Rev. Phytopathol. *44*, 489–509.

Gerstein, A.C., Chun, H.-J.E., Grant, A., and Otto, S.P. (2006). Genomic Convergence toward Diploidy in *Saccharomyces cerevisiae*. PLOS Genet. *2*, e145.

Gerton, J.L., DeRisi, J., Shroff, R., Lichten, M., Brown, P.O., and Petes, T.D. (2000). Global mapping of meiotic recombination hotspots and coldspots in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Proc. Natl. Acad. Sci. *97*, 11383–11390.

Giaever, G., Chu, A.M., Ni, L., Connelly, C., Riles, L., Véronneau, S., Dow, S., Lucau-Danila, A., Anderson, K., André, B., *et al.* (2002). Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome. Nature *418*, 387–391.

Girard, C., Crismani, W., Froger, N., Mazel, J., Lemhemdi, A., Horlow, C., and Mercier, R. (2014). FANCM-associated proteins MHF1 and MHF2, but not the other Fanconi anemia factors, limit meiotic crossovers. Nucleic Acids Res. *42*, 9087–9095.

Giraut, L., Falque, M., Drouaud, J., Pereira, L., Martin, O.C., and Mézard, C. (2011). Genome-Wide Crossover Distribution in *Arabidopsis thaliana* Meiosis Reveals Sex-Specific Patterns along Chromosomes. PLOS Genet *7*, e1002354.

Goffeau, A., Barrell, B.G., Bussey, H., Davis, R.W., Dujon, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J.D., Jacq, C., Johnston, M., *et al.* (1996). Life with 6000 Genes. Science *274*, 546–567.

Goldfarb, T., and Lichten, M. (2010). Frequent and efficient use of the sister chromatid for DNA double-strand break repair during budding yeast meiosis. PLoS Biol. *8*, e1000520.

Golubovskaya, I.N., Hamant, O., Timofejeva, L., Wang, C.-J.R., Braun, D., Meeley, R., and Cande, W.Z. (2006). Alleles of afd1 dissect REC8 functions during meiotic prophase I. J. Cell Sci. *119*, 3306–3315.

Gómez, R., Valdeolmillos, A., Parra, M.T., Viera, A., Carreiro, C., Roncal, F., Rufas, J.S., Barbero, J.L., and Suja, J.A. (2007). Mammalian SGO2 appears at the inner centromere domain and redistributes depending on tension across centromeres during meiosis II and mitosis. EMBO Rep. *8*, 173–180.

Gómez, R., Viera, A., Berenguer, I., Llano, E., Pendás, A.M., Barbero, J.L., Kikuchi, A., and Suja, J.A. (2014). Cohesin removal precedes topoisomerase IIα-dependent decatenation at centromeres in male mammalian meiosis II. Chromosoma *123*, 129–146.

Gowen, M.S., and Gowen, J.W. (1922). Complete Linkage in Drosophila melanogaster. Am. Nat. *56*, 286–288.

Grelon, M., Vezon, D., Gendrot, G., and Pelletier, G. (2001). AtSPO11-1 is necessary for efficient meiotic recombination in plants. EMBO J. *20*, 589–600.

Grey, C., Baudat, F., and de Massy, B. (2009). Genome-Wide Control of the Distribution of Meiotic Recombination. PLoS Biol. *7*, e1000035.

Gruhn, J.R., Rubio, C., Broman, K.W., Hunt, P.A., and Hassold, T. (2013). Cytological Studies of Human Meiosis: Sex-Specific Differences in Recombination Originate at, or Prior to, Establishment of Double-Strand Breaks. PLoS ONE *8*, e85075.

Haber, J.E. (2012). Mating-Type Genes and MAT Switching in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics *191*, 33–64.

Haldane, J. (1919). The combination of linkage values, and the calculation of distance between the loci of linked factors. J Genet *8*, 299–309.

Hanada, K., Kuromori, T., Myouga, F., Toyoda, T., Li, W.-H., and Shinozaki, K. (2009). Evolutionary Persistence of Functional Compensation by Duplicate Genes in Arabidopsis. Genome Biol. Evol. *1*, 409–414.

Harper, L., Golubovskaya, I., and Cande, W.Z. (2004). A bouquet of chromosomes. J. Cell Sci. *117*, 4025–4032.

Hartung, F., Wurz-Wildersinn, R., Fuchs, J., Schubert, I., Suer, S., and Puchta, H. (2007). The Catalytically Active Tyrosine Residues of Both SPO11-1 and SPO11-2 Are Required for Meiotic Double-Strand Break Induction in Arabidopsis. Plant Cell *19*, 3090–3099.

Hassold, T., Sherman, S., and Hunt, P. (2000). Counting cross-overs: characterizing meiotic recombination in mammals. Hum. Mol. Genet. *9*, 2409–2419.

Hawkins, E., Fricker, T.E., Challinor, A.J., Ferro, C.A.T., Ho, C.K., and Osborne, T.M. (2013). Increasing influence of heat stress on French maize yields from the 1960s to the 2030s. Glob. Change Biol. *19*, 937–947.

Hayashi, K., Yoshida, K., and Matsui, Y. (2005). A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase. Nature *438*, 374–378.

Hellsten, U., Wright, K.M., Jenkins, J., Shu, S., Yuan, Y., Wessler, S.R., Schmutz, J., Willis, J.H., and Rokhsar, D.S. (2013). Fine-scale variation in meiotic recombination in Mimulus inferred from population shotgun sequencing. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *110*, 19478–19482.

Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P.F., Eriksson, O.E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P.M., Lücking, R., *et al.* (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. Mycol. Res. *111*, 509–547.

Higgins, J.D., Buckling, E.F., Franklin, F.C.H., and Jones, G.H. (2008). Expression and functional analysis of AtMUS81 in Arabidopsis meiosis reveals a role in the second pathway of crossing-over. Plant J. Cell Mol. Biol. *54*, 152–162.

Higgins, J.D., Perry, R.M., Barakate, A., Ramsay, L., Waugh, R., Halpin, C., Armstrong, S.J., and Franklin, F.C.H. (2012). Spatiotemporal Asymmetry of the Meiotic Program Underlies the Predominantly Distal Distribution of Meiotic Crossovers in Barley. Plant Cell *24*, 4096–4109.

Hinch, A.G., Tandon, A., Patterson, N., Song, Y., Rohland, N., Palmer, C.D., Chen, G.K., Wang, K., Buxbaum, S.G., Akylbekova, E.L., *et al.* (2011). The landscape of recombination in African Americans. Nature *476*, 170–175.

Holliday, R. (1964). A mechanism for gene conversion in fungi. Genet. Res. *5*, 282–304.

Holliday, R. (1988). Toward a biological understanding of the ageing process. Perspect. Biol. Med. *32*, 109–123.

Hörandl, E. (2009). A combinational theory for maintenance of sex. Heredity *103*, 445–457.

Housworth, E.A., and Stahl, F.W. (2003). Crossover Interference in Humans. Am. J. Hum. Genet. *73*, 188–197.

Humphryes, N., and Hochwagen, A. (2014). A Non-Sister Act: Recombination Template Choice During Meiosis. Exp. Cell Res. *329*, 53–60.

Hunter, N. (2015). Meiotic Recombination: The Essence of Heredity. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. *7*.

Hunter, C.M., Huang, W., Mackay, T.F.C., and Singh, N.D. (2016). The Genetic Architecture of Natural Variation in Recombination Rate in Drosophila melanogaster. PLOS Genet. *12*, e1005951.

Hunter, N., Chambers, S.R., Louis, E.J., and Borts, R.H. (1996a). The mismatch repair system contributes to meiotic sterility in an interspecific yeast hybrid. EMBO J. *15*, 1726–1733.

Hunter, N., Chambers, S.R., Louis, E.J., and Borts, R.H. (1996b). The mismatch repair system contributes to meiotic sterility in an interspecific yeast hybrid. EMBO J. *15*, 1726–1733.

Hyppa, R.W., and Smith, G.R. (2010). Crossover Invariance Determined by Partner Choice for Meiotic DNA Break Repair. Cell *142*, 243–255.

Illingworth, C.J.R., Parts, L., Bergström, A., Liti, G., and Mustonen, V. (2013). Inferring Genome-Wide Recombination Landscapes from Advanced Intercross Lines: Application to Yeast Crosses. PLoS ONE *8*, e62266.

Jahns, M.T., Vezon, D., Chambon, A., Pereira, L., Falque, M., Martin, O.C., Chelysheva, L., and Grelon, M. (2014). Crossover Localisation Is Regulated by the Neddylation Posttranslational Regulatory Pathway. PLOS Biol. *12*, e1001930.

Jain, M., Tyagi, A.K., and Khurana, J.P. (2006). Overexpression of putative topoisomerase 6 genes from rice confers stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants. FEBS J. *273*, 5245–5260.

Jeffreys, A.J., and Neumann, R. (2002). Reciprocal crossover asymmetry and meiotic drive in a human recombination hot spot. Nat. Genet. *31*, 267–271.

Jinks-Robertson, S., Michelitch, M., and Ramcharan, S. (1993). Substrate length requirements for efficient mitotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol. Cell. Biol. *13*, 3937–3950.

Jonak, K., Zagoriy, I., Oz, T., Graf, P., Rojas, J., Mengoli, V., and Zachariae, W. (2017). APC/C-Cdc20 mediates deprotection of centromeric cohesin at meiosis II in yeast. Cell Cycle Georget. Tex *16*, 1145–1152.

Jones, G.H., and Franklin, F.C.H. (2006). Meiotic crossing-over: obligation and interference. Cell *126*, 246–248.

Jordan, K.W., Wang, S., He, F., Chao, S., Lun, Y., Paux, E., Sourdille, P., Sherman, J., Akhunova, A., Blake, N.K., *et al.* (2018). The genetic architecture of genome-wide recombination rate variation in allopolyploid wheat revealed by nested association mapping. Plant J. Cell Mol. Biol.

Keeney, S., and Neale, M.J. (2006). Initiation of meiotic recombination by formation of DNA double-strand breaks: mechanism and regulation. Biochem. Soc. Trans. *34*, 523–525.

Keeney, S., Giroux, C.N., and Kleckner, N. (1997). Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. Cell *88*, 375–384.

Kianian, P.M.A., Wang, M., Simons, K., Ghavami, F., He, Y., Dukowic-Schulze, S., Sundararajan, A., Sun, Q., Pillardy, J., Mudge, J., *et al.* (2018). High-resolution crossover mapping reveals similarities and differences of male and female recombination in maize. Nat. Commun. *9*, 2370.

Kidwell, M.G. (1972). Genetic change of recombination value in Drosophila melanogaster. I. Artificial selection for high and low recombination and some properties of recombination-modifying genes. Genetics *70*, 419–432.

Kleckner, N., Zickler, D., Jones, G.H., Dekker, J., Padmore, R., Henle, J., and Hutchinson, J. (2004). A mechanical basis for chromosome function. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *101*, 12592–12597.

Klein, H.L., and Symington, L.S. (2012). Sgs1—The Maestro of Recombination. Cell *149*, 257–259.

Kong, A., Thorleifsson, G., Stefansson, H., Masson, G., Helgason, A., Gudbjartsson, D.F., Jonsdottir, G.M., Gudjonsson, S.A., Sverrisson, S., Thorlacius, T., *et al.* (2008). Sequence variants in the RNF212 gene associate with genome-wide recombination rate. Science *319*, 1398–1401.

Kong, A., Thorleifsson, G., Gudbjartsson, D.F., Masson, G., Sigurdsson, A., Jonasdottir, A., Walters, G.B., Jonasdottir, A., Gylfason, A., Kristinsson, K.T., *et al.* (2010). Fine-scale recombination rate differences between sexes, populations and individuals. Nature *467*, 1099–1103.

Kosambi (1944). THE ESTIMATION OF MAP DISTANCES FROM RECOMBINATION VALUES - KOSAMBI - 1943 - Annals of Eugenics - Wiley Online Library.

Kosheleva, K., and Desai, M.M. (2017). Recombination alters the dynamics of adaptation on standing variation in laboratory yeast populations. Mol. Biol. Evol.

Koszul, R., and Kleckner, N. (2009). Dynamic chromosome movements during meiosis: a way to eliminate unwanted connections? Trends Cell Biol. *19*, 716–724.

Lars Ronnegard, Xia Shen and Moudud Alam (2010). hglm: A Package for Fitting Hierarchical Generalized Linear Models.

Law, C.N. (1963). An effect of potassium on chiasma frequency and recombination. Genetica *33*, 313–329.

Le Guen, T., Ragu, S., Guirouilh-Barbat, J., and Lopez, B.S. (2014). Role of the double-strand break repair pathway in the maintenance of genomic stability. Mol. Cell. Oncol. *2*.

Leflon, M., Grandont, L., Eber, F., Huteau, V., Coriton, O., Chelysheva, L., Jenczewski, E., and Chèvre, A.-M. (2010). Crossovers get a boost in Brassica allotriploid and allotetraploid hybrids. Plant Cell *22*, 2253–2264.

Lenarcic, A.B., Svenson, K.L., Churchill, G.A., and Valdar, W. (2012). A General Bayesian Approach to Analyzing Diallel Crosses of Inbred Strains. Genetics *190*, 413–435.

Levine, R.P., and Levine, E.E. (1954). The Genotypic Control of Crossing Over in Drosophila Pseudoobscura. Genetics *39*, 677–691.

Levine, R.P., and Levine, E.E. (1955). Variable Crossing Over Arising in Different Strains of Drosophila Pseudoobscura. Genetics *40*, 399–405.

Li, J. (2006). *Saccharomyces cerevisiae* Mer2, Mei4 and Rec114 Form a Complex Required for Meiotic Double-Strand Break Formation. Genetics *173*, 1969–1981.

Li, C., Li, Y., Shi, Y., Song, Y., Zhang, D., Buckler, E.S., Zhang, Z., Li, Y., and Wang, T. (2016). Analysis of recombination QTLs, segregation distortion, and epistasis for fitness in maize multiple populations using ultra-high-density markers. Theor. Appl. Genet. *129*, 1775–1784.

Lichten, M., and de Massy, B. (2011). The Impressionistic Landscape of Meiotic Recombination. Cell *147*, 267–270.

Lin, F.-M., Lai, Y.-J., Shen, H.-J., Cheng, Y.-H., and Wang, T.-F. (2010). Yeast axial-element protein, Red1, binds SUMO chains to promote meiotic interhomologue recombination and chromosome synapsis. EMBO J. *29*, 586–596.

Liti, G., Barton, D.B.H., and Louis, E.J. (2006). Sequence Diversity, Reproductive Isolation and Species Concepts in Saccharomyces. Genetics *174*, 839–850.

Liti, G., Carter, D.M., Moses, A.M., Warringer, J., Parts, L., James, S.A., Davey, R.P., Roberts, I.N., Burt, A., Koufopanou, V., *et al.* (2009). Population genomics of domestic and wild yeasts. Nature *458*, 337–341.

Liu, G., Liu, J., Cui, X., and Cai, L. (2012). Sequence-dependent prediction of recombination hotspots in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Theor. Biol. *293*, 49–54.

Liu, S., Yeh, C.-T., Ji, T., Ying, K., Wu, H., Tang, H.M., Fu, Y., Nettleton, D., and Schnable, P.S. (2009). Mu Transposon Insertion Sites and Meiotic Recombination Events Co-Localize with Epigenetic Marks for Open Chromatin across the Maize Genome. PLOS Genet. *5*, e1000733.

Louis, E.J., and Borts, R.H. (2003). Meiotic Recombination: Too Much of a Good Thing? Curr. Biol. *13*, R953–R955.

Lu, P., Han, X., Qi, J., Yang, J., Wijeratne, A.J., Li, T., and Ma, H. (2012). Analysis of Arabidopsis genome-wide variations before and after meiosis and meiotic recombination by resequencing Landsberg erecta and all four products of a single meiosis. Genome Res. *22*, 508–518.

Ma, H. (2006). A Molecular Portrait of Arabidopsis Meiosis. Arab. Book Am. Soc. Plant Biol. *4*.

Macaisne, N., Vignard, J., and Mercier, R. (2011). SHOC1 and PTD form an XPF-ERCC1-like complex that is required for formation of class I crossovers. J. Cell Sci. *124*, 2687–2691.

Magwene, P.M., Kayıkçı, Ö., Granek, J.A., Reininga, J.M., Scholl, Z., and Murray, D. (2011). Outcrossing, mitotic recombination, and life-history trade-offs shape genome evolution in *Saccharomyces cerevisiae*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *108*, 1987–1992.

Malik, S.-B., Ramesh, M.A., Hulstrand, A.M., and Logsdon, J.M. (2007). Protist homologs of the meiotic Spo11 gene and topoisomerase VI reveal an evolutionary history of gene duplication and lineage-specific loss. Mol. Biol. Evol. *24*, 2827–2841.

Malkova, A., Swanson, J., German, M., McCusker, J.H., Housworth, E.A., Stahl, F.W., and Haber, J.E. (2004). Gene Conversion and Crossing Over Along the 405-kb Left Arm of *Saccharomyces cerevisiae* Chromosome VII. Genetics *168*, 49–63.

Mancera, E., Bourgon, R., Brozzi, A., Huber, W., and Steinmetz, L.M. (2008a). High-resolution mapping of meiotic crossovers and non-crossovers in yeast. Nature *454*, 479–485.

Mancera, E., Bourgon, R., Brozzi, A., Huber, W., and Steinmetz, L.M. (2008b). High-resolution mapping of meiotic crossovers and noncrossovers in yeast. Nature *454*, 479–485.

Margulis, L., and Sagan, D. (1990). Origins of Sex: Three Billion Years of Genetic Recombination (Yale University Press).

Margulis, L., and Sagan, D. (1997). Microcosmos: Four Billion Years of Microbial Evolution (University of California Press).

Marimuthu, M.P.A., Jolivet, S., Ravi, M., Pereira, L., Davda, J.N., Cromer, L., Wang, L., Nogué, F., Chan, S.W.L., Siddiqi, I., *et al.* (2011). Synthetic Clonal Reproduction Through Seeds. Science *331*, 876–876.

Marsolier-Kergoat, M.-C., Khan, M.M., Schott, J., Zhu, X., and Llorente, B. (2018). Mechanistic View and Genetic Control of DNA Recombination during Meiosis. Mol. Cell *70*, 9-20.e6.

Martini, E., Diaz, R.L., Hunter, N., and Keeney, S. (2006). Crossover homeostasis in yeast meiosis. Cell *126*, 285–295.

Martini, E., Borde, V., Legendre, M., Audic, S., Regnault, B., Soubigou, G., Dujon, B., and Llorente, B. (2011). Genome-Wide Analysis of Heteroduplex DNA in Mismatch Repair–Deficient Yeast Cells Reveals Novel Properties of Meiotic Recombination Pathways. PLoS Genet. *7*, e1002305.

de Massy, B. (2013a). Initiation of Meiotic Recombination: How and Where? Conservation and Specificities Among Eukaryotes. Annu. Rev. Genet. *47*, 563–599.

de Massy, B. (2013b). Initiation of meiotic recombination: how and where? Conservation and specificities among eukaryotes. Annu. Rev. Genet. *47*, 563–599.

Matos, J., Blanco, M.G., Maslen, S., Skehel, J.M., and West, S.C. (2011). Regulatory Control of the Resolution of DNA Recombination Intermediates during Meiosis and Mitosis. Cell *147*, 158–172.

Mayer, K.F.X., Martis, M., Hedley, P.E., Simková, H., Liu, H., Morris, J.A., Steuernagel, B., Taudien, S., Roessner, S., Gundlach, H., *et al.* (2011). Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. Plant Cell *23*, 1249–1263.

McDonald, M.J., Rice, D.P., and Desai, M.M. (2016). Sex speeds adaptation by altering the dynamics of molecular evolution. Nature *531*, 233–236.

McMullen, M.D., Kresovich, S., Villeda, H.S., Bradbury, P., Li, H., Sun, Q., Flint-Garcia, S., Thornsberry, J., Acharya, C., Bottoms, C., *et al.* (2009). Genetic Properties of the Maize Nested Association Mapping Population. Science *325*, 737–740.

McPeek, M.S., and Speed, T.P. (1995). Modeling Interference in Genetic Recombination. Genetics *139*, 1031–1044.

Melamed-Bessudo, C., and Levy, A.A. (2012). Deficiency in DNA methylation increases meiotic crossover rates in euchromatic but not in heterochromatic regions in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. *109*, E981–E988.

Melamed-Bessudo, C., Yehuda, E., Stuitje, A.R., and Levy, A.A. (2005). A new seed-based assay for meiotic recombination in Arabidopsis thaliana. Plant J. *43*, 458–466.

Meneely, P.M., Farago, A.F., and Kauffman, T.M. (2002). Crossover distribution and high interference for both the X chromosome and an autosome during oogenesis and spermatogenesis in Caenorhabditis elegans. Genetics *162*, 1169–1177.

Mercier, R., Mézard, C., Jenczewski, E., Macaisne, N., and Grelon, M. (2015). The Molecular Biology of Meiosis in Plants. Annu. Rev. Plant Biol. *66*, 297–327.

Meuwissen, R.L., Offenberg, H.H., Dietrich, A.J., Riesewijk, A., van Iersel, M., and Heyting, C. (1992). A coiled-coil related protein specific for synapsed regions of meiotic prophase chromosomes. EMBO J. *11*, 5091–5100.

Mézard, C., Tagliaro Jahns, M., and Grelon, M. (2015a). Where to cross? New insights into the location of meiotic crossovers. Trends Genet. *31*, 393–401.

Mézard, C., Jahns, M.T., and Grelon, M. (2015b). Where to cross? New insights into the location of meiotic crossovers. Trends Genet. *31*, 393–401.

Mirouze, M., Lieberman-Lazarovich, M., Aversano, R., Bucher, E., Nicolet, J., Reinders, J., and Paszkowski, J. (2012). Loss of DNA methylation affects the recombination landscape in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. *109*, 5880–5885.

Morgan, T.H. (1914). No Crossing over in the Male of Drosophila of Genes in the Second and Third Pairs of Chromosomes. Biol. Bull. *26*, 195–204.

Moudud Alam, Lars Ronnegard and Xia Shen (2014). Fitting Conditional and Simultaneous Autoregressive Spatial Models in hglm.

Muller, H.J. (1916). The Mechanism of Crossing-Over. Am. Nat. *50*, 193–221.

Muyt, A.D., Mercier, R., Mézard, C., and Grelon, M. (2009). Meiotic recombination and crossovers in plants. Genome Dyn. *5*, 14–25.

Myers, S., Bottolo, L., Freeman, C., McVean, G., and Donnelly, P. (2005). A fine-scale map of recombination rates and hotspots across the human genome. Science *310*, 321–324.

Myers, S., Spencer, C.C.A., Auton, A., Bottolo, L., Freeman, C., Donnelly, P., and McVean, G. (2006). The distribution and causes of meiotic recombination in the human genome. Biochem. Soc. Trans. *34*, 526–530.

Myers, S., Bowden, R., Tumian, A., Bontrop, R.E., Freeman, C., MacFie, T.S., McVean, G., and Donnelly, P. (2009). Drive Against Hotspot Motifs in Primates Implicates the PRDM9 Gene in Meiotic Recombination. Science *327*, 876–879.

Neale, M.J., Pan, J., and Keeney, S. (2005). Endonucleolytic processing of covalent protein-linked DNA double-strand breaks. Nature *436*, 1053–1057.

Neiman, A.M. (2005). Ascospore Formation in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. *69*, 565–584.

Nepoux, V., Babin, A., Haag, C., Kawecki, T.J., and Le Rouzic, A. (2015). Quantitative genetics of learning ability and resistance to stress in Drosophila melanogaster. Ecol. Evol. *5*, 543–556.

Niklas, K.J., Cobb, E.D., and Kutschera, U. (2014). Did meiosis evolve before sex and the evolution of eukaryotic life cycles? BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol. *36*, 1091–1101.

Opperman, R., Emmanuel, E., and Levy, A.A. (2004). The Effect of Sequence Divergence on Recombination Between Direct Repeats in Arabidopsis. Genetics *168*, 2207–2215.

Page, S.L., and Hawley, R.S. (2004). The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. *20*, 525–558.

Pan, J., Sasaki, M., Kniewel, R., Murakami, H., Blitzblau, H.G., Tischfield, S.E., Zhu, X., Neale, M.J., Jasin, M., Socci, N.D., *et al.* (2011a). A hierarchical combination of factors shapes the genome-wide topography of yeast meiotic recombination initiation. Cell *144*, 719–731.

Pan, J., Sasaki, M., Kniewel, R., Murakami, H., Blitzblau, H.G., Tischfield, S.E., Zhu, X., Neale, M.J., Jasin, M., Socci, N.D., *et al.* (2011b). A Hierarchical Combination of Factors Shapes the Genome-wide Topography of Yeast Meiotic Recombination Initiation. Cell *144*, 719–731.

Parts, L., Cubillos, F.A., Warringer, J., Jain, K., Salinas, F., Bumpstead, S.J., Molin, M., Zia, A., Simpson, J.T., Quail, M.A., *et al.* (2011). Revealing the genetic structure of a trait by sequencing a population under selection. Genome Res. *21*, 1131–1138.

Parvanov, E.D., Petkov, P.M., and Paigen, K. (2009). Prdm9 Controls Activation of Mammalian Recombination Hotspots. Science *327*, 835–835.

Parvinen, M., and Söderström, K.-O. (1976). Chromosome rotation and formation of synapsis. Nature *260*, 534–535.

Pawlowski, W.P., Golubovskaya, I.N., and Cande, W.Z. (2003). Altered Nuclear Distribution of Recombination Protein RAD51 in Maize Mutants Suggests the Involvement of RAD51 in Meiotic Homology Recognition. Plant Cell *15*, 1807–1816.

Pecinka, A., Fang, W., Rehmsmeier, M., Levy, A.A., and Mittelsten Scheid, O. (2011). Polyploidization increases meiotic recombination frequency in Arabidopsis. BMC Biol. *9*, 24.

Pelé, A., Falque, M., Trotoux, G., Eber, F., Nègre, S., Gilet, M., Huteau, V., Lodé, M., Jousseaume, T., Dechaumet, S., *et al.* (2017a). Amplifying recombination genome-wide and reshaping crossover landscapes in Brassicas. PLOS Genet. *13*, e1006794.

Pelé, A., Falque, M., Trotoux, G., Eber, F., Nègre, S., Gilet, M., Huteau, V., Lodé, M., Jousseaume, T., Dechaumet, S., *et al.* (2017b). Amplifying recombination genome-wide and reshaping crossover landscapes in Brassicas. PLoS Genet. *13*.

Peltonen-Sainio, P., Salo, T., Jauhiainen, L., Lehtonen, H., and Sieviläinen, E. (2015). Static yields and quality issues: Is the agri-environment program the primary driver? Ambio *44*, 544–556.

Peng, J., Korol, A.B., Fahima, T., Röder, M.S., Ronin, Y.I., Li, Y.C., and Nevo, E. (2000). Molecular Genetic Maps in Wild Emmer Wheat, Triticum dicoccoides: Genome-Wide Coverage, Massive Negative Interference, and Putative Quasi-Linkage. Genome Res. *10*, 1509–1531.

Pesin, J.A., and Orr-Weaver, T.L. (2008). Regulation of APC/C activators in mitosis and meiosis. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. *24*, 475–499.

Peter, J., De Chiara, M., Friedrich, A., Yue, J.-X., Pflieger, D., Bergström, A., Sigwalt, A., Barre, B., Freel, K., Llored, A., *et al.* (2018). Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates. Nature *556*, 339–344.

Petes, T.D., and Merker, J.D. (2002). Context dependence of meiotic recombination hotspots in yeast: the relationship between recombination activity of a reporter construct and base composition. Genetics *162*, 2049–2052.

Phillips, D., Jenkins, G., Macaulay, M., Nibau, C., Wnetrzak, J., Fallding, D., Colas, I., Oakey, H., Waugh, R., and Ramsay, L. (2015a). The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. New Phytol. *208*, 421–429.

Phillips, D., Jenkins, G., Macaulay, M., Nibau, C., Wnetrzak, J., Fallding, D., Colas, I., Oakey, H., Waugh, R., and Ramsay, L. (2015b). The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. New Phytol. *208*, 421–429.

Plough, H.H. (2005). The effect of temperature on crossingover in Drosophila. J. Exp. Zool. *24*, 147–209.

Pratto, F., Brick, K., Khil, P., Smagulova, F., Petukhova, G.V., and Camerini-Otero, R.D. (2014). Recombination initiation maps of individual human genomes. Science *346*, 1256442.

Pritchard, R.H. (1960). Localized negative interference and its bearing on models of gene recombination. Genet. Res. *1*, 1–24.

Qiao, H., Prasada Rao, H.B.D., Yang, Y., Fong, J.H., Cloutier, J.M., Deacon, D.C., Nagel, K.E., Swartz, R.K., Strong, E., Holloway, J.K., *et al.* (2014). Antagonistic roles of ubiquitin ligase HEI10 and SUMO ligase RNF212 regulate meiotic recombination. Nat. Genet. *46*, 194–199.

Raffoux, X., Bourge, M., Dumas, F., Martin, O.C., and Falque, M. (2018). High throughput measurement of recombination rates and genetic interference in *S. cerevisiae*. Yeast Chichester Engl.

Ramesh, M.A., Malik, S.-B., and Logsdon, J.M. (2005). A phylogenomic inventory of meiotic genes; evidence for sex in Giardia and an early eukaryotic origin of meiosis. Curr. Biol. CB *15*, 185–191.

Ray, D.K., Ramankutty, N., Mueller, N.D., West, P.C., and Foley, J.A. (2012). Recent patterns of crop yield growth and stagnation. Nat. Commun. *3*, 1293.

Reynolds, A., Qiao, H., Yang, Y., Chen, J.K., Jackson, N., Biswas, K., Holloway, J.K., Baudat, F., Massy, B. de, Wang, J., *et al.* (2013). RNF212 is a dosage-sensitive regulator of crossing-over during mammalian meiosis. Nat. Genet. *45*, 269–278.

Rick, C.M. (1969). Controlled Introgression of Chromosomes of SOLANUM PENNELLII into LYCOPERSICON ESCULENTUM: Segregation and Recombination. Genetics *62*, 753–768.

Ritz, K.R., Noor, M.A.F., and Singh, N.D. (2017). Variation in Recombination Rate: Adaptive or Not? Trends Genet. *33*, 364–374.

Rockmill, B., Lambie, E.J., and Roeder, G.S. (1991). Yeast Spore Enrichment for Random Spore Analysis. Methods Enzymol. *194*, 146–149.

Rockmill, B., Fung, J.C., Branda, S.S., and Roeder, G.S. (2003). The Sgs1 helicase regulates chromosome synapsis and meiotic crossing over. Curr. Biol. CB *13*, 1954–1962.

Rodell, C.F., Schipper, M.R., and Keenan, D.K. (2004). Modes of Selection and Recombination Response in Drosophila melanogaster. J. Hered. *95*, 70–75.

Rodgers-Melnick, E., Bradbury, P.J., Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Acharya, C.B., Mitchell, S.E., Li, C., Li, Y., and Buckler, E.S. (2015). Recombination in diverse maize is stable, predictable, and associated with genetic load. Proc. Natl. Acad. Sci. 201413864.

Rubnitz, J., and Subramani, S. (1984). The minimum amount of homology required for homologous recombination in mammalian cells. Mol. Cell. Biol. *4*, 2253–2258.

Ruderfer, D.M., Pratt, S.C., Seidel, H.S., and Kruglyak, L. (2006). Population genomic analysis of outcrossing and recombination in yeast. Nat. Genet. *38*, 1077–1081.

Saini, R., Singh, A.K., Dhanapal, S., Saeed, T.H., Hyde, G.J., and Baskar, R. (2017). Brief temperature stress during reproductive stages alters meiotic recombination and somatic mutation rates in the progeny of Arabidopsis. BMC Plant Biol. *17*.

Salinas, F., Cubillos, F.A., Soto, D., Garcia, V., Bergström, A., Warringer, J., Ganga, M.A., Louis, E.J., Liti, G., and Martinez, C. (2012). The Genetic Basis of Natural Variation in Oenological Traits in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS ONE *7*.

Sall, T., and Bengtsson, B.O. (1989). Apparent Negative Interference Due to Variation in Recombination Frequencies. Genetics *122*, 935–942.

Salomé, P.A., Bomblies, K., Fitz, J., Laitinen, R. a. E., Warthmann, N., Yant, L., and Weigel, D. (2012). The recombination landscape in *Arabidopsis thaliana* F2 populations. Heredity *108*, 447–455.

Sandhu, D., and Gill, K.S. (2002). Gene-containing regions of wheat and the other grass genomes. Plant Physiol. *128*, 803–811.

Sandor, C., Li, W., Coppieters, W., Druet, T., Charlier, C., and Georges, M. (2012). Genetic Variants in REC8, RNF212, and PRDM9 Influence Male Recombination in Cattle. PLoS Genet. *8*.

de los Santos, T., Hunter, N., Lee, C., Larkin, B., Loidl, J., and Hollingsworth, N.M. (2003). The Mus81/Mms4 endonuclease acts independently of double-Holliday junction resolution to promote a distinct subset of crossovers during meiosis in budding yeast. Genetics *164*, 81–94.

Scherthan, H. (2001). A bouquet makes ends meet. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. *2*, 621–627.

Schwartz, E.K., and Heyer, W.-D. (2011). Processing of joint molecule intermediates by structure-selective endonucleases during homologous recombination in eukaryotes. Chromosoma *120*, 109–127.

Séguéla-Arnaud, M., Crismani, W., Larchevêque, C., Mazel, J., Froger, N., Choinard, S., Lemhemdi, A., Macaisne, N., Van Leene, J., Gevaert, K., *et al.* (2015). Multiple mechanisms limit meiotic crossovers: TOP3α and two BLM homologs antagonize crossovers in parallel to FANCM. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *112*, 4713–4718.

Séguéla-Arnaud, M., Choinard, S., Larchevêque, C., Girard, C., Froger, N., Crismani, W., and Mercier, R. (2017). RMI1 and TOP3α limit meiotic CO formation through their C-terminal domains. Nucleic Acids Res. *45*, 1860–1871.

Serra, H., Lambing, C., Griffin, C.H., Topp, S.D., Nageswaran, D.C., Underwood, C.J., Ziolkowski, P.A., Séguéla-Arnaud, M., Fernandes, J.B., Mercier, R., *et al.* (2018). Massive crossover elevation *via* combination of HEI10 and recq4a recq4b during Arabidopsis meiosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *115*, 2437–2442.

Serrentino, M.-E., Chaplais, E., Sommermeyer, V., and Borde, V. (2013). Differential Association of the Conserved SUMO Ligase Zip3 with Meiotic Double-Strand Break Sites Reveals Regional Variations in the Outcome of Meiotic Recombination. PLoS Genet. *9*.

Sheridan, S.D., Yu, X., Roth, R., Heuser, J.E., Sehorn, M.G., Sung, P., Egelman, E.H., and Bishop, D.K. (2008). A comparative analysis of Dmc1 and Rad51 nucleoprotein filaments. Nucleic Acids Res. *36*, 4057–4066.

Si, W., Yuan, Y., Huang, J., Zhang, X., Zhang, Y., Zhang, Y., Tian, D., Wang, C., Yang, Y., and Yang, S. (2015). Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F2 plants. New Phytol. *206*, 1491–1502.

Si, W., Yuan, Y., Huang, J., Zhang, X., Zhang, Y., Zhang, Y., Tian, D., Wang, C., Yang, Y., and Yang, S. Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F2 plants. New Phytol. *206*, 1491–1502.

Sicard, D., and Legras, J.-L. (2011). Bread, beer and wine: yeast domestication in the Saccharomyces sensu stricto complex. C. R. Biol. *334*, 229–236.

Sidhu, G.K., Fang, C., Olson, M.A., Falque, M., Martin, O.C., and Pawlowski, W.P. (2015a). Recombination patterns in maize reveal limits to crossover homeostasis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *112*, 15982–15987.

Sidhu, G.K., Fang, C., Olson, M.A., Falque, M., Martin, O.C., and Pawlowski, W.P. (2015b). Recombination patterns in maize reveal limits to crossover homeostasis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *112*, 15982–15987.

Smagulova, F., Gregoretti, I.V., Brick, K., Khil, P., Camerini-Otero, R.D., and Petukhova, G.V. (2011). Genome-wide analysis reveals novel molecular features of mouse recombination hotspots. Nature *472*, 375–378.

Smith, G.R., Boddy, M.N., Shanahan, P., and Russell, P. (2003). Fission yeast Mus81.Eme1 Holliday junction resolvase is required for meiotic crossing over but not for gene conversion. Genetics *165*, 2289–2293.

Sommermeyer, V., Béneut, C., Chaplais, E., Serrentino, M.E., and Borde, V. (2012). Spp1, a Member of the Set1 Complex, Promotes Meiotic DSB Formation in Promoters by Tethering Histone H3K4 Methylation Sites to Chromosome Axes. Mol. Cell.

Sprague, G.F., and Tatum, L.A. (1942). General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn 1. Agron. J. *34*, 923–932.

Stacey, N.J., Kuromori, T., Azumi, Y., Roberts, G., Breuer, C., Wada, T., Maxwell, A., Roberts, K., and Sugimoto-Shirasu, K. (2006). Arabidopsis SPO11-2 functions with SPO11-1 in meiotic recombination. Plant J. Cell Mol. Biol. *48*, 206–216.

Stahl, F.W., Foss, H.M., Young, L.S., Borts, R.H., Abdullah, M.F.F., and Copenhaver, G.P. (2004). Does Crossover Interference Count in *Saccharomyces cerevisiae*? Genetics *168*, 35–48.

Storlazzi, A., Tessé, S., Gargano, S., James, F., Kleckner, N., and Zickler, D. (2003). Meiotic double-strand breaks at the interface of chromosome movement, chromosome remodeling, and reductional division. Genes Dev. *17*, 2675–2687.

Sturtevant, A.H. (1915). The behavior of the chromosomes as studied through linkage. Z. Für Indukt. Abstamm.- Vererbungslehre *13*, 234–287.

Suay, L., Zhang, D., Eber, F., Jouy, H., Lodé, M., Huteau, V., Coriton, O., Szadkowski, E., Leflon, M., Martin, O.C., *et al.* Crossover rate between homologous chromosomes and interference are regulated by the addition of specific unpaired chromosomes in Brassica. New Phytol. *201*, 645–656.

Sun, S., and Heitman, J. (2011). Is sex necessary? BMC Biol. *9*, 56.

Sun, L., Wang, J., Sang, M., Jiang, L., Zhao, B., Cheng, T., Zhang, Q., and Wu, R. (2017). Landscaping Crossover Interference Across a Genome. Trends Plant Sci. *22*, 894–907.

Tan, G.S., Lewandowski, R., Mallory, M.J., Strich, R., and Cooper, K.F. (2013). Mutually dependent degradation of Ama1p and Cdc20p terminates APC/C ubiquitin ligase activity at the completion of meiotic development in yeast. Cell Div. *8*, 9.

Tanaka, Y. (1953). Genetics of the Silkworm, Bombyx mori**Contributions from the National Institute of Genetics, Japan, No. 33. In Advances in Genetics, M. Demerec, ed. (Academic Press), pp. 239–317.

Thacker, D., Lam, I., Knop, M., and Keeney, S. (2011). Exploiting Spore-Autonomous Fluorescent Protein Expression to Quantify Meiotic Chromosome Behaviors in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics *189*, 423–439.

Tsubouchi, T., Zhao, H., and Roeder, G.S. (2006). The Meiosis-Specific Zip4 Protein Regulates Crossover Distribution by Promoting Synaptonemal Complex Formation Together with Zip2. Dev. Cell *10*, 809–819.

Vrielynck, N., Chambon, A., Vezon, D., Pereira, L., Chelysheva, L., De Muyt, A., Mézard, C., Mayer, C., and Grelon, M. (2016). A DNA topoisomerase VI-like complex initiates meiotic recombination. Science *351*, 939–943.

Wanat, J.J., Kim, K.P., Koszul, R., Zanders, S., Weiner, B., Kleckner, N., and Alani, E. (2008). Csm4, in Collaboration with Ndj1, Mediates Telomere-Led Chromosome Dynamics and Recombination during Yeast Meiosis. PLOS Genet. *4*, e1000188.

Wang, Y., and Copenhaver, G.P. (2018). Meiotic Recombination: Mixing It Up in Plants. Annu. Rev. Plant Biol. *69*, 577–609.

Wang, S., Zickler, D., Kleckner, N., and Zhang, L. (2015). Meiotic crossover patterns: Obligatory crossover, interference and homeostasis in a single process. Cell Cycle *14*, 305–314.

Warringer, J., Zörgö, E., Cubillos, F.A., Zia, A., Gjuvsland, A., Simpson, J.T., Forsmark, A., Durbin, R., Omholt, S.W., Louis, E.J., *et al.* (2011). Trait Variation in Yeast Is Defined by Population History. PLoS Genet. *7*.

Watson, I.D., and Callan, H.G. (1963). The Form of Bivalent Chromosomes in Newt Oocytes at First Metaphase of Meiosis. J. Cell Sci. *s3-104*, 281–295.

Wijnker, E., Dun, K. van, Snoo, C.B. de, Lelivelt, C.L.C., Keurentjes, J.J.B., Naharudin, N.S., Ravi, M., Chan, S.W.L., Jong, H. de, and Dirks, R. (2012). Reverse breeding in *Arabidopsis thaliana* generates homozygous parental lines from a heterozygous plant. Nat. Genet. *44*, 467–470.

Wijnker, E., Velikkakam James, G., Ding, J., Becker, F., Klasen, J.R., Rawat, V., Rowan, B.A., de Jong, D.F., de Snoo, C.B., Zapata, L., *et al.* (2013). The genomic landscape of meiotic crossovers and gene conversions in Arabidopsis thaliana. ELife *2*, e01426.

Wilkins, A.S., and Holliday, R. (2009). The Evolution of Meiosis From Mitosis. Genetics *181*, 3–12.

Woglar, A., and Jantsch, V. (2014). Chromosome movement in meiosis I prophase of Caenorhabditis elegans. Chromosoma *123*, 15–24.

Yelina, N., Diaz, P., Lambing, C., and Henderson, I.R. (2015a). Epigenetic control of meiotic recombination in plants. Sci. China Life Sci. *58*, 223–231.

Yelina, N.E., Choi, K., Chelysheva, L., Macaulay, M., de Snoo, B., Wijnker, E., Miller, N., Drouaud, J., Grelon, M., Copenhaver, G.P., *et al.* (2012). Epigenetic Remodeling of Meiotic Crossover Frequency in *Arabidopsis thaliana* DNA Methyltransferase Mutants. PLoS Genet. *8*, e1002844.

Yelina, N.E., Ziolkowski, P.A., Miller, N., Zhao, X., Kelly, K.A., Muñoz, D.F., Mann, D.J., Copenhaver, G.P., and Henderson, I.R. (2013). High-throughput analysis of meiotic crossover frequency and interference *via* flow cytometry of fluorescent pollen in Arabidopsis thaliana. Nat. Protoc. *8*, 2119–2134.

Yelina, N.E., Lambing, C., Hardcastle, T.J., Zhao, X., Santos, B., and Henderson, I.R. (2015b). DNA methylation epigenetically silences crossover hot spots and controls chromosomal domains of meiotic recombination in Arabidopsis. Genes Dev. *29*, 2183–2202.

Youds, J.L., and Boulton, S.J. (2011). The choice in meiosis – defining the factors that influence crossover or non-crossover formation. J Cell Sci *124*, 501–513.

Zhang, K., Wu, X.-C., Zheng, D.-Q., and Petes, T.D. (2017). Effects of Temperature on the Meiotic Recombination Landscape of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. MBio *8*, e02099-17.

Zhang, L., Espagne, E., de Muyt, A., Zickler, D., and Kleckner, N.E. (2014a). Interference-mediated synaptonemal complex formation with embedded crossover designation. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *111*, E5059–E5068.

Zhang, L., Liang, Z., Hutchinson, J., and Kleckner, N. (2014b). Crossover Patterning by the Beam-Film Model: Analysis and Implications. PLoS Genet. *10*, e1004042.

Zhao, C., Piao, S., Wang, X., Huang, Y., Ciais, P., Elliott, J., Huang, M., Janssens, I.A., Li, T., Lian, X., *et al.* (2016). Plausible rice yield losses under future climate warming. Nat. Plants *3*, 16202.

Zhao, H., Speed, T.P., and McPeek, M.S. (1995). Statistical analysis of crossover interference using the chi-square model. Genetics *139*, 1045–1056.

Zickler, D., and Kleckner, N. (1998). The leptotene-zygotene transition of meiosis. Annu. Rev. Genet. *32*, 619–697.

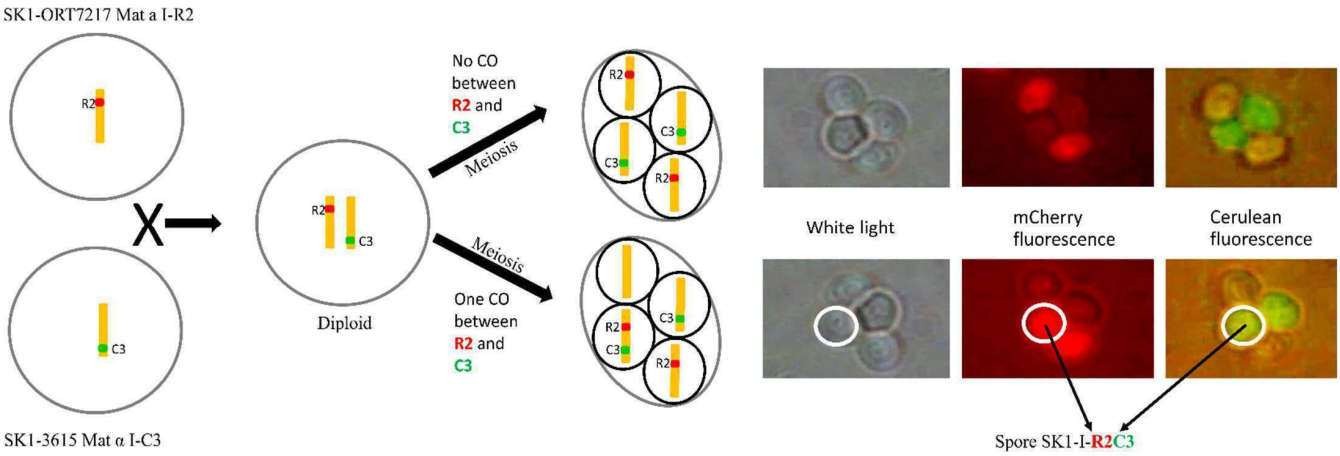
Zickler, D., and Kleckner, N. (2016). A Few of Our Favorite Things: Pairing, the Bouquet, Crossover Interference and Evolution of Meiosis. Semin. Cell Dev. Biol. *54*, 135–148.

Ziolkowski, P.A., and Henderson, I.R. (2017). Interconnections between meiotic recombination and sequence polymorphism in plant genomes. New Phytol. *213*, 1022–1029.

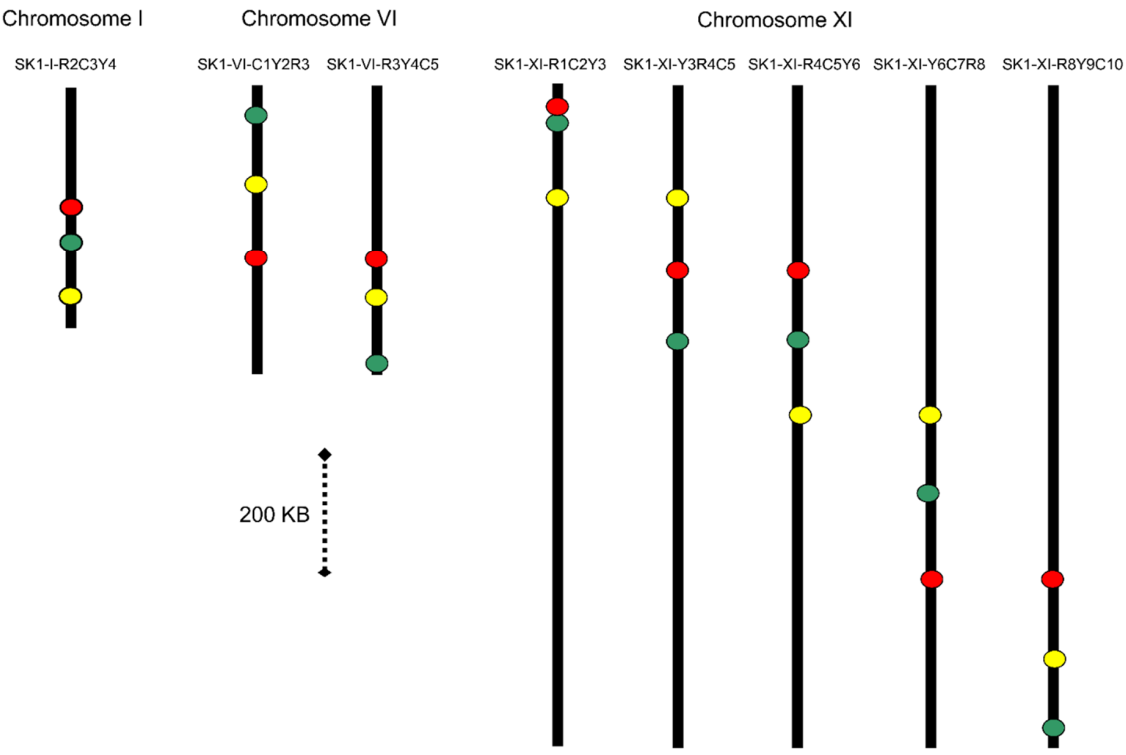
Ziolkowski, P.A., Berchowitz, L.E., Lambing, C., Yelina, N.E., Zhao, X., Kelly, K.A., Choi, K., Ziolkowska, L., June, V., Sanchez-Moran, E., *et al.* (2015). Juxtaposition of heterozygous and homozygous regions causes reciprocal crossover remodelling *via* interference during Arabidopsis meiosis. ELife *4*, e03708.

Ziolkowski, P.A., Underwood, C.J., Lambing, C., Martinez-Garcia, M., Lawrence, E.J., Ziolkowska, L., Griffin, C., Choi, K., Franklin, F.C.H., Martienssen, R.A., *et al.* (2017). Natural variation and dosage of the HEI10 meiotic E3 ligase control Arabidopsis crossover recombination. Genes Dev. *31*, 306–317.

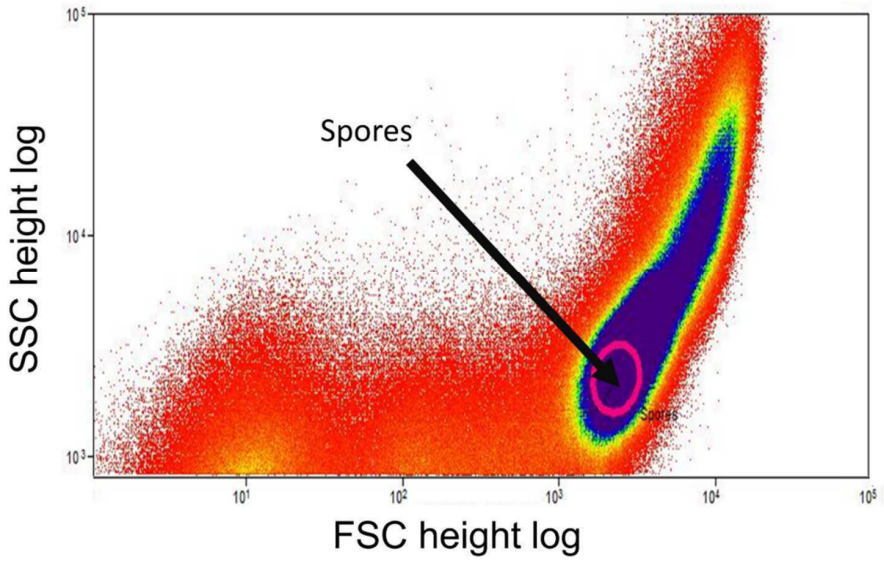
2.8 Supplementary Figures and Text



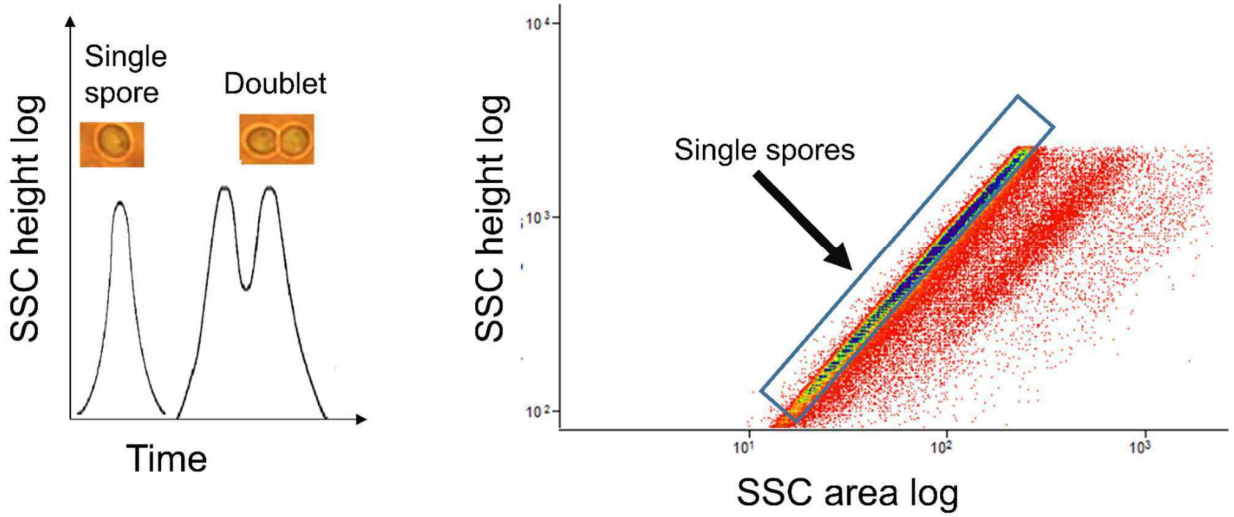
Supp Figure 1: Production of SK1-I-R2C3 spores and microscopy observation of tetrads before FACS.



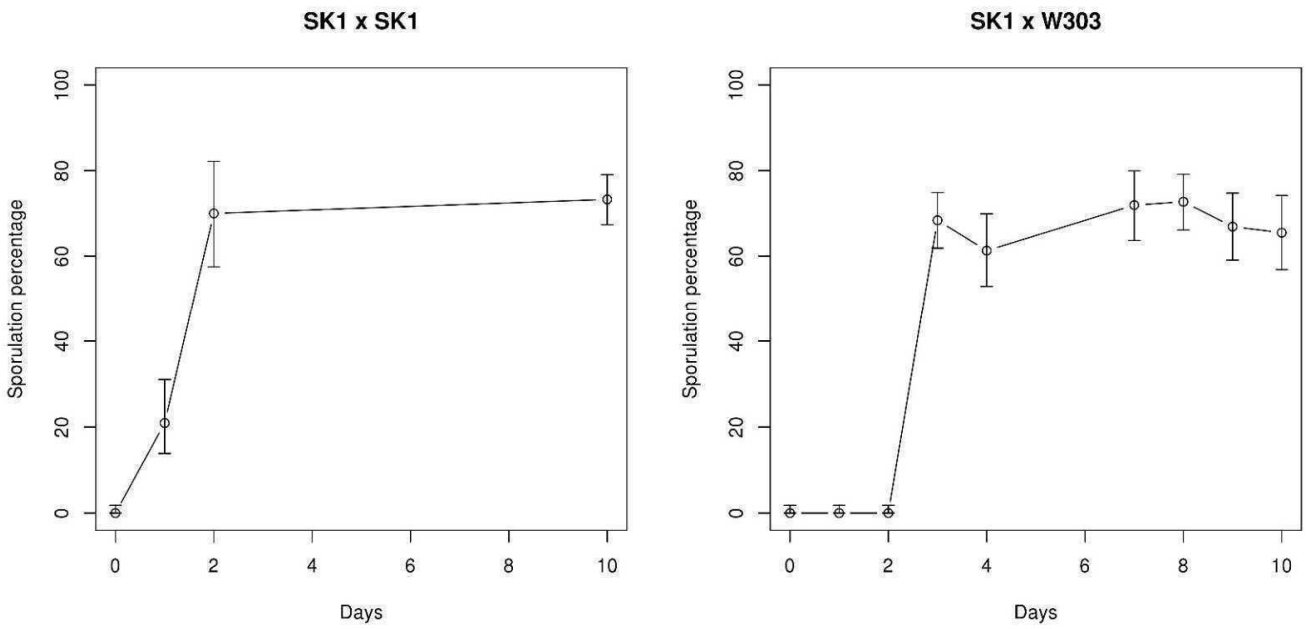
Supp Figure 2: Marker position for the eight tri-fluorescent testers produced



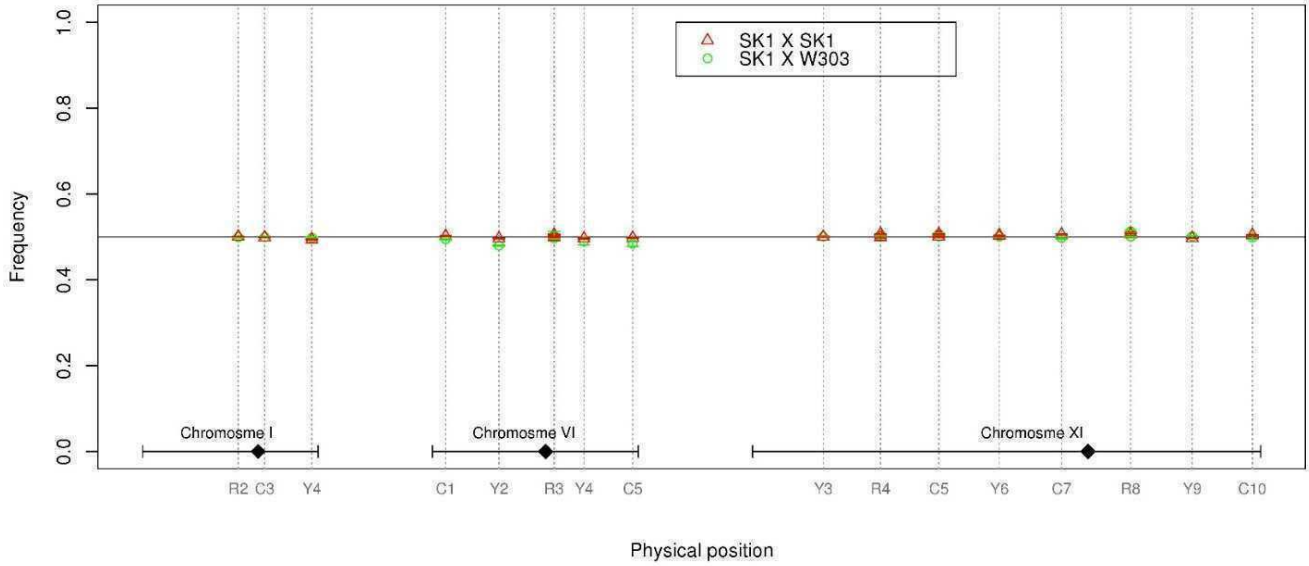
Supp Figure 3: Optical selection of spores based on scattered light: spores are selected based on their size and granularity using gates in the SSC-Height-Log *vs* FSC-Height-Log graph. Warm colors indicate lowest density of spores.



Supp Figure 4: Optical selection of spore singlets using gates in the SSC-Height-Log *vs* SSC-Area-Log graph (right panel). As illustrated in the left panel, doublets of spores lead to a lower ratio between height and area of the peak. Warm colors indicate lowest density of spores.

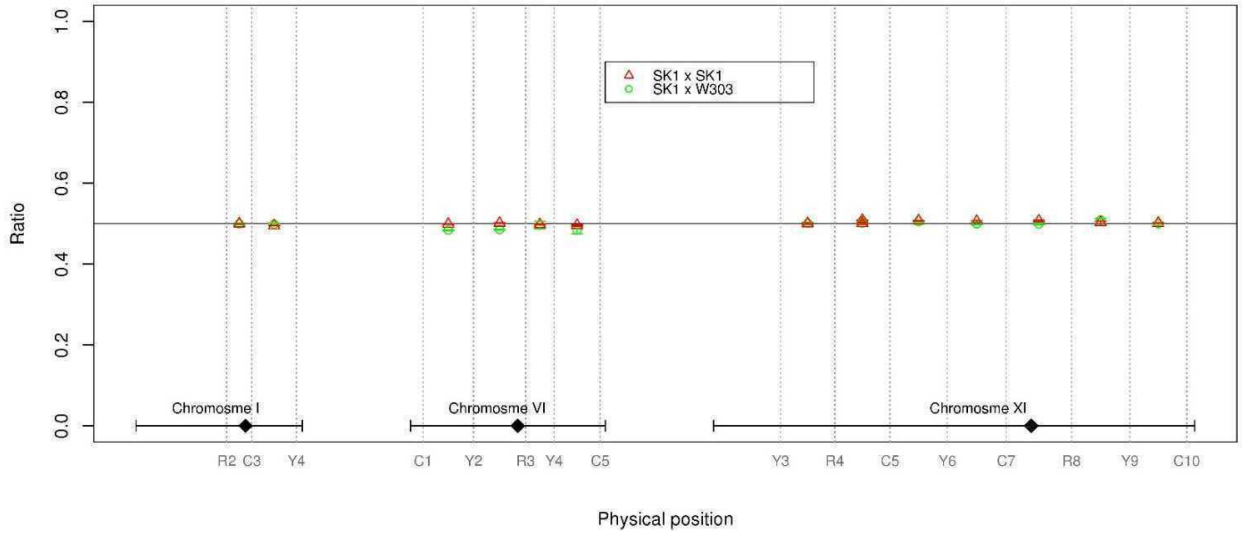


Supp Figure 5: Sporulation kinetics for SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids. Bars indicates 95% confidence interval based on binomial law.

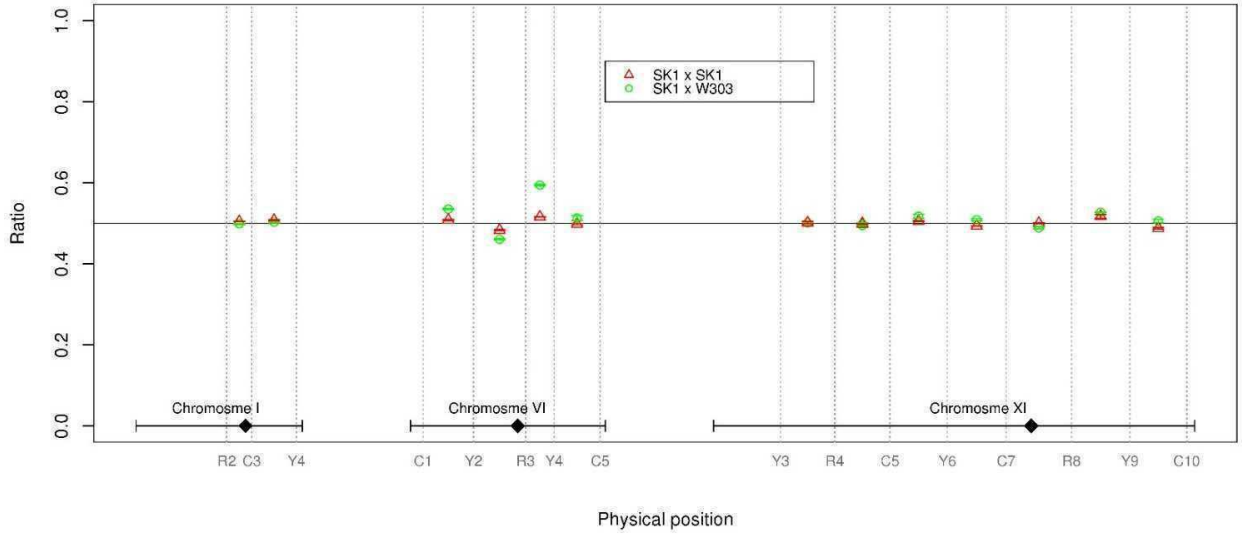


Supp Figure 6: Frequency of each fluorescent marker in progenies from hemizygote SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids. Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graph.

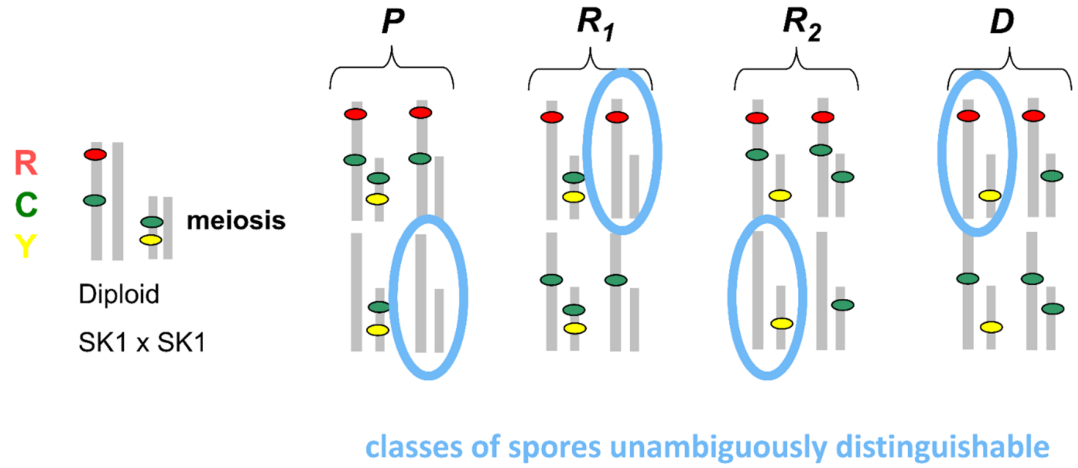
A: Parental spores



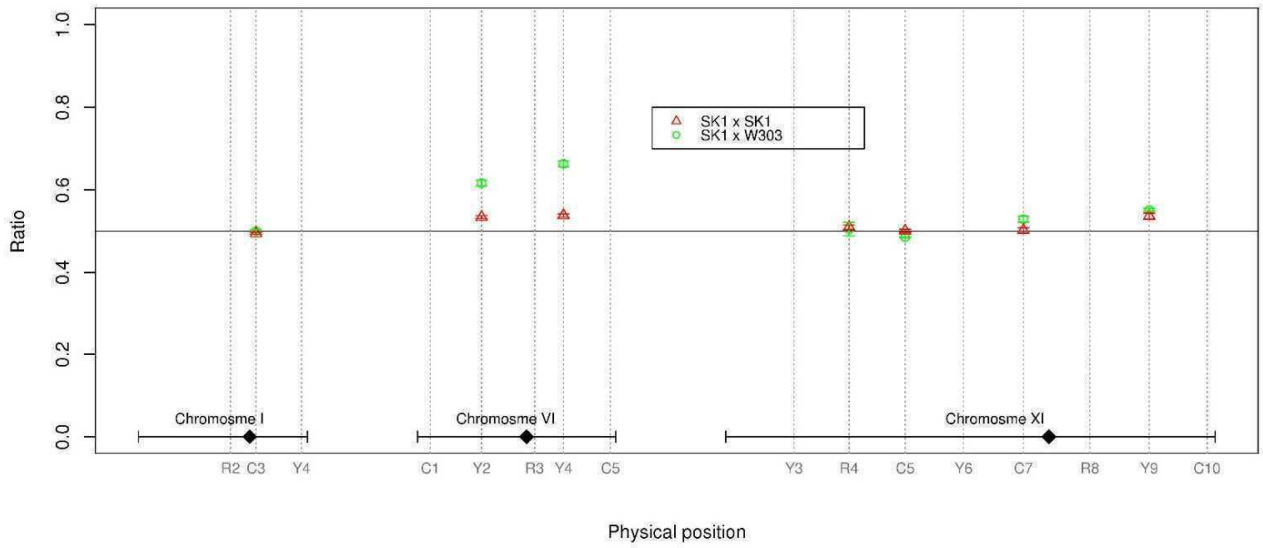
B: Recombinant spores



Supp Figure 7: Two-locus segregation of two linked loci. Y-axes indicate observed ratios of genotype frequencies as described in Materials and Methods, considering parental spores (A), and considering recombinant spores (B). Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graph.

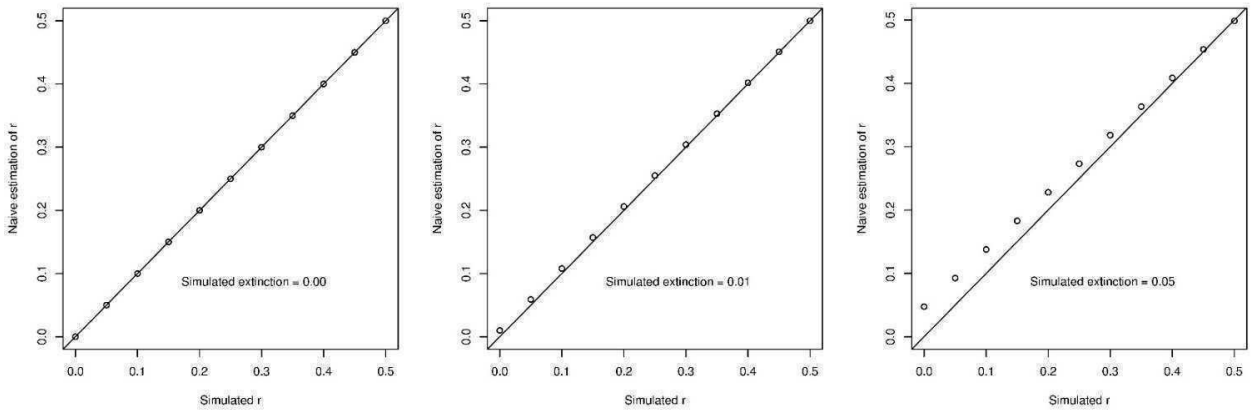


Supp Figure 8: CoC measurement on two independent intervals, with two linked marker on one chromosome (RFP and CFP, Chr I) and two linked markers on another chromosome (CFP and YFP, Chr III). Blue circles indicate classes which can be unambiguously identified by looking at presence/absence of fluorescence for the three colors.

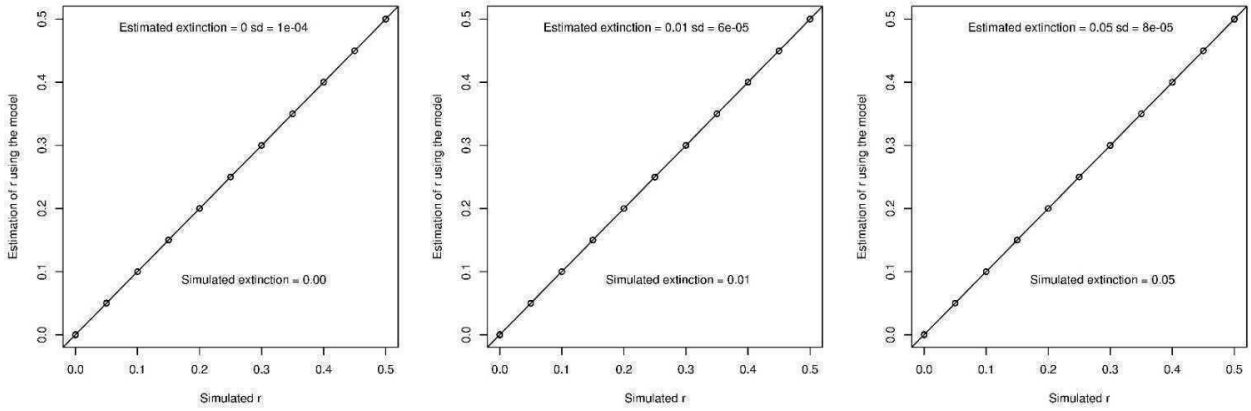


Supp Figure 9: Three-locus analysis for SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids. Ratio between frequencies of the two classes of double-recombinant spores, calculated as f_{A+C} / f_{+B+} when considering seven testers having three linked consecutive markers A, B, and C (see Materials and Methods). Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graph.

A: Naive estimation

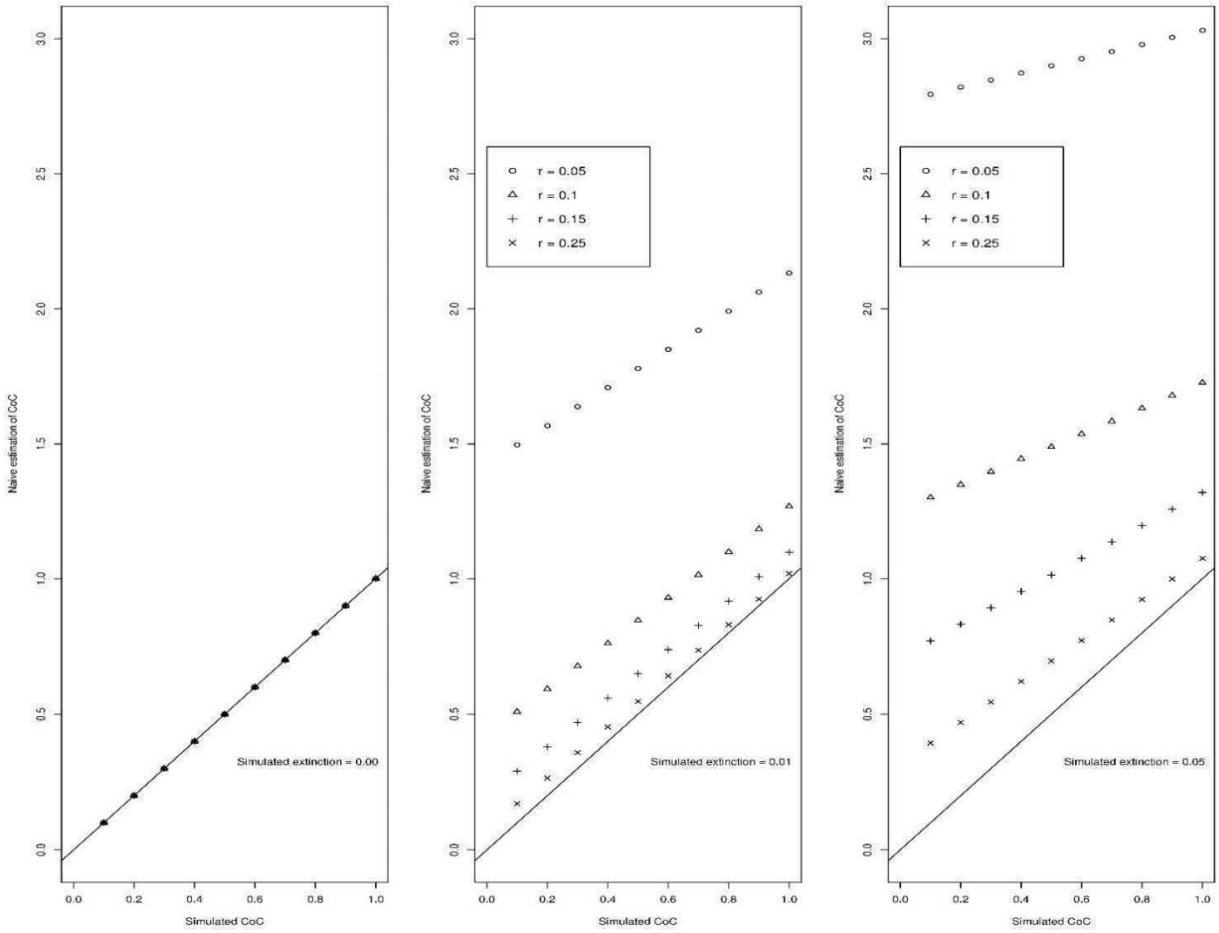


B: Maximum likelihood inference using the model

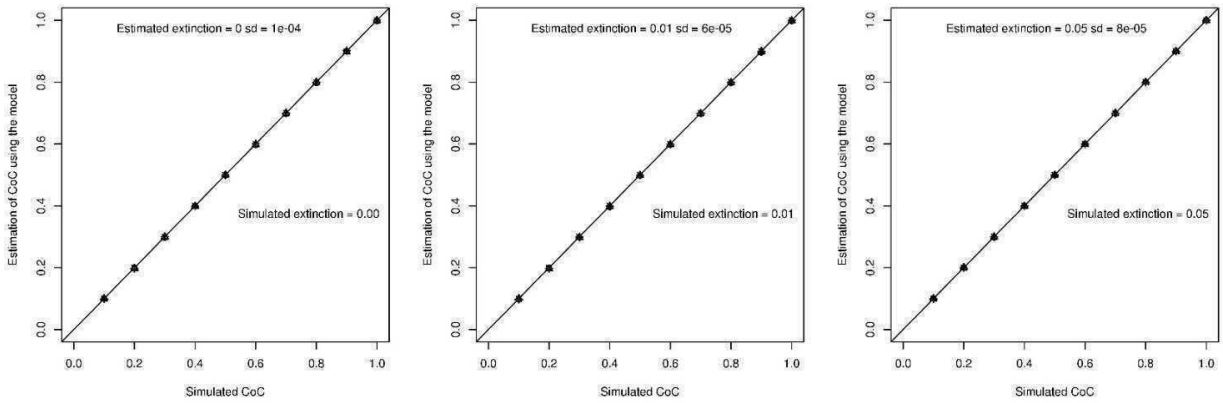


Supp Figure 10: Estimation of recombination rate from simulated data incorporating fluorescence extinction frequencies of 0.00, 0.01 or 0.05 (see Materials and Methods). (A) Naive estimation using equation Eq1, (B) maximum likelihood inference using the model.

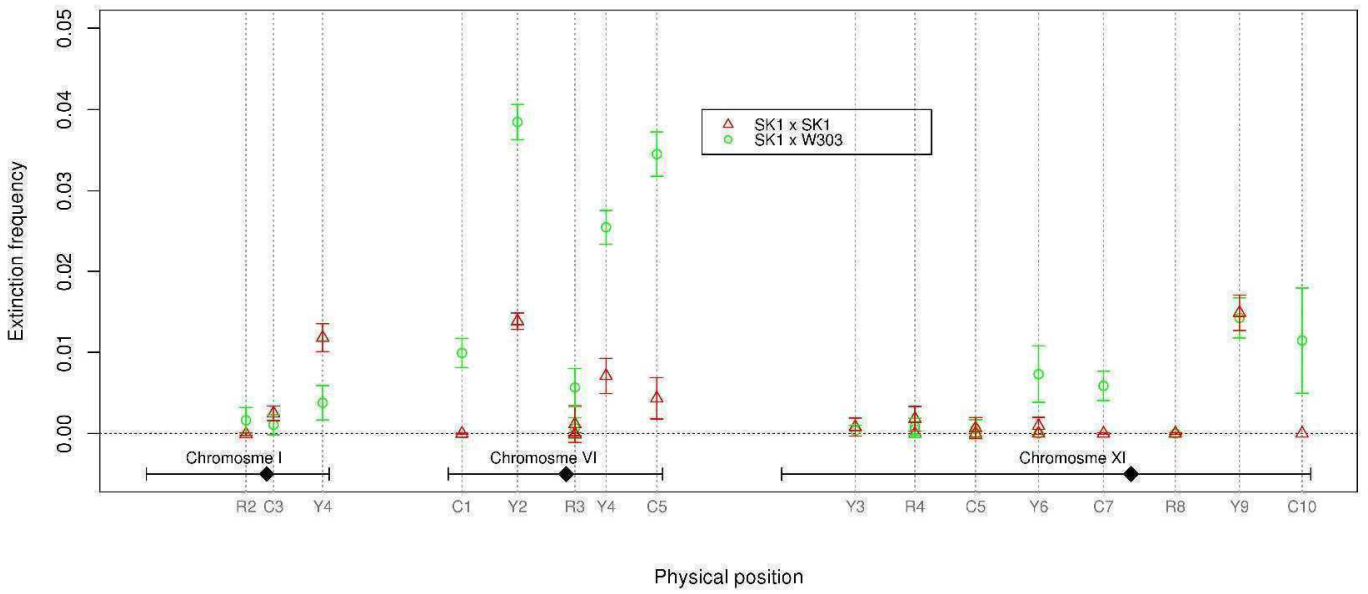
A: Naive estimation



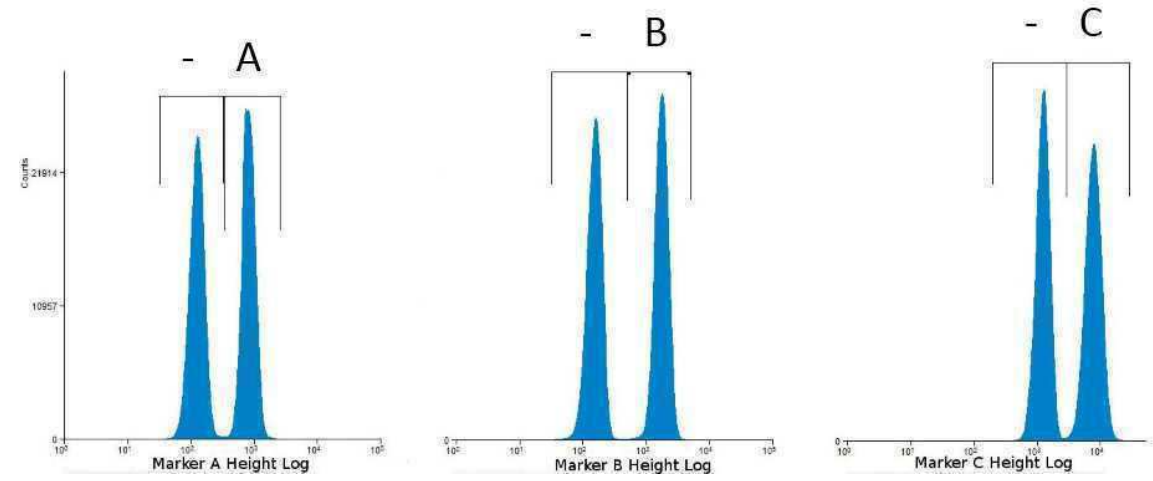
B: Maximum likelihood inference using the model



Supp Figure 11: Estimation of CoC from simulated data (see Materials and Methods). (A) Naive estimation using equation Eq2, (B) maximum likelihood inference using the model.



Supp Figure 12: Extinction frequencies estimated for SK1×SK1 diploids and SK1×W303 hybrids using the model (see Materials & Methods). Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. X-axis: Physical position of markers along chromosomes I, VI, and XI (precise coordinates of markers are provided in Supp table 3). Centromeres are indicated by black diamonds in the bottom of the graph.



Supp Figure 13: Distribution of fluorescence intensity in spores. Example of spore from a SK1×SK1 diploid hemizygote for markers A, B, and C.

Supplementary text: R code used to estimate parameters of the model by ML

```
#################################################################
#                                                               #
#  INRA UMR GQE - Le Moulon  RAMDAM group                       #
#  Xavier Raffoux, Matthieu Falque                              #
#  xavier.raffoux@inra.fr                                       #
#  matthieu.falque@inra.fr                                      #
#                                                               #
#################################################################

#############################################################
##          F U N C T I O N S
#############################################################
##-----------------------------------------------------------------
##  Computes expected frequencies of fluorescence classes for given
##  values of recombination rate in intervals AB and BC,
##  CoC, and fluorescence extinction parameters
par2freqs <- function(par) {
      rAB <- par[1]
      rBC <- par[2]
      C <-   par[3]
      Aext <- par[4]
      Bext <- par[5]
      Cext <- par[6]
#   note that with interference, one has: (1-rAB)*(1-rBC)   =>   (1-rAB-
rBC+C*rAB*rBC)
#                                                                rAB*(1-rBC)
      =>   rAB*(1-C*rBC)
#                                                                (1-rAB)*rBC
      =>   (1-C*rAB)*rBC
#                                                                rAB*rBC
            =>   C*rAB*rBC
      fN <- 1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC) +
                  1/2 * rAB*(1-C*rBC)*Aext +
                  1/2 * (1-C*rAB)*rBC*Cext +
                  1/2 * rAB*C*rBC*Bext +
                  1/2 * (1-C*rAB)*rBC*Aext*Bext +
                  1/2 * rAB*(1-C*rBC)*Bext*Cext +
                  1/2 * rAB*C*rBC*Aext*Cext +
                  1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*Aext*Bext*Cext

      fABC <-     1/2 *(1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*(1-Aext)*(1-Bext)*(1-Cext)

      fA <- 1/2 * rAB*(1-C*rBC)*(1-Aext) +
                  1/2 * (1-C*rAB)*rBC*(1-Aext)*Bext +
                  1/2 * rAB*C*rBC*(1-Aext)*Cext +
                  1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*(1-Aext)*Bext*Cext

      fB <- 1/2 * rAB*C*rBC*(1-Bext) +
                  1/2 * (1-C*rAB)*rBC*(1-Bext)*Aext +
                  1/2 * rAB*(1-C*rBC)*(1-Bext)*Cext +
                  1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*(1-Bext)*Aext*Cext

      fC <- 1/2 * (1-C*rAB)*rBC*(1-Cext) +
                  1/2 * rAB*(1-C*rBC)*(1-Cext)*Bext +
                  1/2 * rAB*C*rBC*(1-Cext)*Aext +
                  1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*(1-Cext)*Aext*Bext
```

```
      fAB <-      1/2 * (1-C*rAB)*rBC*(1-Aext)*(1-Bext) +
                  1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*(1-Aext)*(1-Bext)*Cext

      fBC <-      1/2 * rAB*(1-C*rBC)*(1-Bext)*(1-Cext) +
                  1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*(1-Bext)*(1-Cext)*Aext

      fAC <-      1/2 * rAB*C*rBC*(1-Aext)*(1-Cext) +
                  1/2 * (1-rAB-rBC+C*rAB*rBC)*Bext*(1-Aext)*(1-Cext)

      freqs <- c(fA, fAB, fABC, fAC, fB, fBC, fC, fN)
      names(freqs) <- c("fA", "fAB", "fABC", "fAC", "fB", "fBC", "fC", "fN")

      return(freqs)
}

##-----------------------------------------------------------------
##  Computes likelihood of observation given the model with its parameters par
logLike <- function(par, obs) {
      if (length(par)==3) par=c(par,Aext=0,Bext=0,Cext=0) #ADD Xext=0 in case of
FIT_CONV=FALSE
      freqs <- par2freqs(par)
      freqs[freqs < 1e-200] <- 1e-200
      ll <- sum( obs * log(freqs) )
      return(ll)
}

##-----------------------------------------------------------------
##  Finds the set of parameters that maximizes the log-likelihood
fit_params <- function(obs, id, NB_REP_FIT=1000, FIT_CONV=TRUE) {

      if (FIT_CONV ) {
            lower <- c(rAB = 1e-6, rBC = 1e-6, C = 0.3, Aext = 0,   Bext = 0,
Cext = 0)
            upper <- c(rAB = 0.5,  rBC = 0.5,  C = 3,   Aext = 0.5, Bext = 0.5,
Cext = 0.5)
      } else {
            upper <- c(rAB = 0.5,  rBC = 0.5,  C = 3)
            lower <- c(rAB = 1e-6, rBC = 1e-6, C = 0.3)
      }

      resReps <- NULL
      control <- list(fnscale = -1, factr = 1e3, maxit=100)
      methods <- c("Nelder-Mead", "BFGS", "CG", "L-BFGS-B", "SANN")
      i1 <- i2 <- i3 <- i4 <- i5 <- i6 <- 1
      iRep <- 1
      for (iRep in 1:NB_REP_FIT) {
            thisInitPar <- rep(NA, length(upper))
            for (iParam in 1:length(upper)) thisInitPar[iParam] <- runif(1,
lower[iParam], upper[iParam])
            res <- optim(par=thisInitPar, lower=lower, upper=upper, fn=logLike,
method=methods[4], control=control, obs=obs)
            res$par
            resReps <- rbind(resReps, res$par)
      }
      par(mfrow=c(1,length(upper)))
      parMode <- rep(NA,length(upper))
      for (i in 1:length(upper))    {
            dens <- density(resReps[,i])
            hist(resReps[,i], proba=T, nclass=NB_REP_FIT/50, main=id,
xlab=names(lower)[i], ylim=c(0,max(dens$y)))
```

```
            lines(dens, col=4)
            parMode[i] <- dens$x[which.max(dens$y)]
            abline(v=parMode[i], col=2)
      }
      parMean <- apply(resReps, MARGIN=2, FUN=mean)
      parCv <- apply(resReps, MARGIN=2, FUN=function(x) return(sd(x)/mean(x)))
      theor <- par2freqs(parMode) * sum(obs)
      ssd <- sum((theor-obs)^2)
      parCv[is.nan(parCv)] <- 0
      return(list(parMean=parMean, parCv=parCv, parMode=parMode, ssd=ssd))
}
############################################################
##           M A I N
############################################################
pdf("Check_Parameters_Fit.pdf", 30,5)
# obs is a vector with numbers of spores observed for each of the 8
# classes of fluorescence
obs <- c(
      App = 76587,      # A++
      ABp = 116232,     # AB+
      ABC = 389196,     # ABC
      ApC = 16755,      # A+C
      pBp = 16191,      # +B+
      pBC = 76943,      # +BC
      ppC = 116181,     # ++C
      ppp = 384696      # +++
)
# id is sample name (character string) to be displayed in graphs
id <- "MySample"

resFit <- fit_params(obs, id, NB_REP_FIT=1000, FIT_CONV=TRUE)

# resFit is a list with the following vectors:
#           parMean (mean of 1000 fits)
#           parCv (sd/mean of 1000 fits)
#           parMode (mode of 1000 fits) = best estimate value to use
#           parMean (mean of 1000 fits)
#
# Each vector has 6 elements corresponding respectively to
# the following 6 parameters :
#           rAB
#           rBC
#           C
#           Aext
#           Bext
#           Cext
results <- resFit$parMode
names(results) <- c("rAB", "rBC", "C", "Aext", "Bext", "Cext",)

print(results)
dev.off()
```

Troisième partie

3 Role of *cis, trans*, and inbreeding effects on meiotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*

Xavier Raffoux[*], Mickael Bourge[†], Fabrice Dumas[*], Olivier C. Martin[*], and Matthieu Falque[*]
[*] GQE– Le Moulon, INRA, Univ. Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91190, Gif-sur-Yvette, France

[†] Cytometry / Electronic Microscopy / Light Microcopy Facility, Imagerie-Gif, Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Univ. Paris- Sud, Université Paris- Saclay, 91198, Gif- sur-Yvette cedex, France

Genetics, in press, DOI 10.1534/genetics.118.301644

Running title:
Diversity of recombination in Yeast
Keywords:
meiosis, crossovers, heterozygosity, interference, diversity

Corresponding author:

Matthieu Falque

GQE– Le Moulon, Ferme du Moulon, 91190, Gif-sur-Yvette, France

Phone: +33 169332364

E-mail: matthieu.falque@inra.fr

3.1 ABSTRACT

Meiotic recombination is a major driver of genome evolution by creating new genetic combinations. To probe the factors driving variability of meiotic recombination, we used a high-throughput method to measure recombination rates in hybrids between SK1 and a total of 26 *S. cerevisiae* strains from different geographic origins and habitats. Fourteen intervals were monitored for each strain, covering chromosomes VI and XI entirely, and part of chromosome I. We found an average number of crossovers per chromosome ranging between 1.0 and 9.5 across strains ("domesticated" or not), which is higher than the average between 0.5 and 1.5 found in most organisms. In the different intervals analyzed, recombination showed up to 9-fold variation across strains but global recombination landscapes along chromosomes varied less. We also built an incomplete diallel experiment to measure recombination rates in one region of chromosome XI in 10 different crosses involving five parental strains. Our overall results indicate that recombination rate is increasingly positively correlated with sequence similarity between homologs (i) in DNA double-strand break rich regions within intervals, (ii) in entire intervals, and (iii) at the whole genome scale. Therefore, these correlations cannot be explained by cis-effects only. We also estimated that cis and trans effects explained respectively 38% and 17% of the variance of recombination rate. In addition, by using a quantitative genetics analysis, we identified an inbreeding effect that reduces recombination rate in homozygous genotypes while other interaction effects (specific combining ability) or additive effects (general combining ability) are found to be weak. Finally, we measured significant crossover interference in some strains, and interference intensity was positively correlated with crossover number.

3.2 INTRODUCTION

In sexually reproducing organisms, meiosis is a particular type of cell division producing gametes that contain half of the somatic genetic material. Meiotic recombination is a major driver of genome dynamics and evolution because it generates new allelic combinations that can be subject to natural selection. The number of crossing-over events and their positions along the chromosomes are tightly regulated, but the mechanisms involved are still not well understood. Obtaining more insights into the regulation of recombination rate and crossover distribution would be beneficial for many fields of fundamental and applied genetics, in particular to improve the efficiency of plant breeding (Li *et al.* 2016). Meiotic recombination starts by programmed DNA double-strand breaks (DSBs) throughout the genome. DSB repair occurs using the homologous chromosome as template, which in turn allows recognition and pairing of the homologous chromosomes (Zickler and Kleckner 2016). DSB repair is achieved by different pathways (Mercier *et al.* 2015), leading to either crossovers (COs), that are reciprocal exchanges of genetic material, or non-crossovers (NCOs), which produce gene conversions resulting in a 3:1 allele segregation within a short sequence tract near the break. Sequence divergence between homologous chromosomes can lead to heteroduplex rejection which prevents the formation of double Holliday junctions. In *S. cerevisiae*, DNA heteroduplex recognition is achieved by a complex composed of Msh2, the Sgs1 helicase, and the Top3-Rmi1 toposiomerase (Hunter *et al.* 1996; Chakraborty *et al.* 2016; see review in Tham *et al.* 2016). In such cases, DSBs can be processed through different pathways (e.g. SDSA), leading to gene conversions but not COs (Alani *et al.* 1994; Chen and Jinks-Robertson 1999; Chakraborty and Alani 2016). In most organisms, the distribution of DSBs and COs is not homogeneous along chromosomes. At a fine scale (a few kilobases), they are clustered in regions called hotspots, as has been shown for instance in *S. cerevisiae* (Gerton *et al.* 2000; Pan *et al.* 2011; Illingworth *et al.* 2013), in humans (60% of COs lying in such hotspots; Coop *et al.* 2008), and in *A. thaliana* (Drouaud *et al.* 2013). In *S. cerevisiae*, 84% of CO hotspots overlap with gene promoters (Mancera *et al.* 2008). At the chromosome scale, large “hot” regions showing high CO rates alternate with colder regions (de Massy 2003). The peri-centromeric regions of the chromosomes are “cold” in most organisms, e.g. in *S. cerevisiae* (Mancera *et al.* 2008), *Arabidopsis thaliana* (Giraut *et al.* 2011), maize (Bauer *et al.* 2013) and tomato (Anderson *et al.* 2014). DSBs occur usually in open chromatin regions. In human and mice, many DSB hotspots occur in DNA sequences targeted by the histone H3K4 methyltransferase PRDM9 (Baudat *et al.* 2009). In *S. cerevisiae*, the SET1 complex deposits histone H3K4 methylation at the positions of future DSB regions, where the Spp1 protein (Acquaviva *et al.*

2012) makes a link between H3K4me3 and Spo11 which in turn generates DSBs (Keeney *et al.* 1997). In maize and *A. thaliana*, CO-rich regions are correlated with low DNA methylation (Mirouze *et al.* 2012; Yelina *et al.* 2015a) and low transposable elements content (Liu *et al.* 2009; Yelina *et al.* 2012). In *S. cerevisiae*, DSB hot spots (which do not directly relate to CO patterns) co-localize with transcriptionally active regions, especially promoters (Gerton *et al.* 2000; Borde and de Massy 2013). Also in *S. cerevisiae*, approximately 40% of DSBs are repaired to form COs, the other DSBs being repaired as NCOs or using the sister chromatid as template (Hunter 2015; Marsolier-Kergoat *et al.* 2018). The ratio between CO and DSB numbers can be regulated at two levels during DSB repair: (1) by driving repair to the homologous chromosomes *vs* the sister chromatids, and (2) by using the repair pathway leading to the formation of COs *vs* NCOs. (Martini *et al.* 2006, 2011; Matos *et al.* 2011; Serrentino *et al.* 2013). CO numbers vary at both inter- and intra-species levels. However, for 76% of the species studied (fungi, animals, and plants), the number of COs per bivalent ranges from 1 to 3 (see review in Mercier *et al.* (2015)). This low variation in CO numbers across species suggests selective constraints keeping recombination levels within a certain range. The presence of at least one CO per homologous pair can be explained by the need to ensure correct chromosome segregation during the first meiotic division. Concerning the upper limit, possible selective pressures might prevent too many DSBs from becoming COs (Mercier *et al.* 2015). But this hypothesis remains speculative, especially because some species such as *S. cerevisiae* and *S. pombe* can produce 10 or more COs per bivalent. Furthermore it was recently shown that in *A. thaliana* the number of COs can be increased about eight-fold without perturbing chromosome segregation (Fernandes *et al.* 2018). CO numbers also vary at the intra specific level (McMullen *et al.* 2009; Cubillos *et al.* 2011; Bauer *et al.* 2013; Hunter *et al.* 2016), though this variation is generally smaller than between species. In *S. cerevisiae*, using four parental strains (Cubillos *et al.* 2011), it was observed that (1) CO hotspots as well as cold spots, are highly conserved among crosses, (2) the number of COs per meiosis varies from 48 to 64.5, and (3) the recombination rate varies up to 60% between strains in some intervals. Relatively few studies have investigated the variation of meiotic recombination rate at a broad level within one species. In the present work, we characterized the intra-specific diversity of recombination rate in a large part of the *S. cerevisiae* genome. To do so, we developed a high-throughput method to measure crossover rates (Raffoux *et al.* 2018), and we used it to analyze diploids obtained by crossing a SK1 strain to 26 strains taken from a core-collection of *S. cerevisiae* strains (see list in Table S1; phylogenomic details in Figure S1; Liti *et al.* 2009)). To measure recombination, each strain of the core collection was crossed with eight SK1

testers carrying three different fluorescent markers (mCherry, yECerulean, and Venus, hereafter respectively denoted RFP, CFP, and YFP) at different chromosomal locations (see Materials and Methods). In the resulting diploids, we measured the recombination rate and CO interference based on 14 genomic intervals covering chromosomes VI and XI, and part of chromosome I. Our results show up to 2.5 fold differences in recombination rate when considering all pooled intervals and up to 9-fold differences in some intervals. Our dataset indicates also a clear positive correlation between CO numbers and genome wide sequence similarity between homologs in the hybrids, and thus a negative correlation between recombination and observed heterozygosity. However, concomitantly, the correlation was weaker when using sequence similarity within the interval where recombination is measured. To obtain further insights, five strains were intercrossed in an incomplete diallel design (among the fifteen possible parental combinations, only ten crosses produced diploids able to sporulate). The recombination rate of these ten diploids was then analyzed in one interval of chromosome XI. Altogether, we find (1) that sequence similarity between homologs (and thus heterozygosity) plays a major role in the observed variation of recombination rate, and (2) that complete homozygosity lowers recombination, a phenomenon that can be thought of as an inbreeding depression.

3.3 MATERIALS AND METHODS

3.3.1 Biological material

The collection of 26 *S. cerevisiae* strains used in this study comes from the Saccharomyces Genome Resequencing Project (SGRP; Liti *et al.* 2009; Cubillos *et al.* 2009), and strains were kindly provided by F. Cubillos, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. These strains were collected from various geographical areas and types of habitats (Table S1; Figure S1). The eight SK1 tri-fluorescent testers strains hereafter referred to as “testers” (SK1-I-R2C3Y4, SK1-VI-C1Y2R3, SK1-VI-R3Y4C5, SK1-XI-R1C2Y3, SK1-XI-Y3R4C5, SK1-XI-R4C5Y6, SK1-XI-Y6C7R8, and SK1-XI-R8Y9C10) used to measure recombination are described in a previous paper (Raffoux *et al.* 2018). Each of them contains three reporter genes distant by around 30 centiMorgans on a same chromosome, coding for three different fluorescent proteins that can be detected in flow cytometry. That nice feature allowed us to use tri-fluorescent testers rather than bi-fluorescent ones, speeding up the process of measuring

recombination rates; as a bonus, we also obtained measures of genetic interference since we were able to detect the presence of double recombinants.

3.3.2 Sporulation efficiency

Each of the 26 Mat a strains of the collection was crossed with the Mat α tester SK1-XI-R1C2Y3 to produce a hybrid diploid and spores as described by Raffoux *et al.* (2018). At days 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11 of incubation on solid SPOR medium (2.5% yeast extract, 1% glucose, 10% potassium acetate; sporulation in this work was always induced on solid medium for practical reasons related to the number of samples to be processed at the same time in the incubator) at 30°C, cells were picked up and resuspended in 10µL H_2O on a microscope slide. Tetrads and vegetative cells were counted at 1000X magnification. To assess sporulation efficiency, only small spots were sampled on the surface of the sporulation medium, which may have caused heterogeneity leading to some sporulation kinetics curves showing decreasing regions (e.g. YS9 between days 3 and 4). Thus, for recombination analyses, very large areas were scraped to avoid such heterogeneity, and reproducibility was indeed high.

3.3.3 Spore viability

At day 10 of the sporulation efficiency experiment, we scraped one quadrant of each of the 26 Petri dishes and prepared spores as described by Raffoux *et al.* (2018) for FACS sorting. We selected events corresponding to the size of spores using a gate in the side scatter (SSC)-Height-Log *vs* forward scatter (FSC)-Height-Log graph (Summit software, Beckman Coulter, USA), then we discarded events containing more than one cell using a gate in the SSC-Height-Log *vs* SSC-Area-Log graph (see Materials and Methods in Raffoux *et al.* 2018). One spore per well was distributed in two 96-wells plates containing 100µL solid YPD medium. After 48 hours incubation at 30°C, we counted the number of wells in which a colony had grown. In rare cases, two colonies were observed in the same well and these events were discarded from further analyses. Thus, 192 spores were analyzed per condition.

3.3.4 Recombination rate and interference measurements on the collection

As it was technically impossible to handle all strain and all testers in the same experiment, we worked with each tester, one at a time. Thus, for one given experiment, each of the 26 Mat a strains of the collection was deposited with one given Mat α tri fluorescent tester strain on solid YPD medium and

incubated one night at 30°C to produce diploid cells. Cells were then transferred to sporulation medium (SPOR). To capture possible variation due to environmental heterogeneity, the experiment was designed in the following manner: (1) for each cross, four Petri dishes were placed at different positions in the incubator to provide four replicates, and (2) in each experiments, the control (Y12 Mat a) × (SK1-VI-Y3R4C5 Mat α) diploid was added. After ten days at 30°C, tetrads were picked up by scraping one quarter of the Petri dish surface, and spores were then isolated as described by Raffoux *et al.* (2018). The spore suspensions were analyzed with a MoFlo ASTRIOS flow cytometer (Beckman Coulter, USA) and the associated software Summit. Vegetative cells were filtered out based on SSC and FSC as described above, and then the fluorescence intensity was analyzed for each spore in the mCherry, yECerulean, and Venus channels (excitation at 561, 405, and 488 nm respectively, emission at 614/20, 448/59, and 526/52 nm respectively). To quantify recombination rates and coefficients of coincidence (CoC), we used the mathematical model given in Raffoux *et al.* (2018) to take into account the fact that fluorescence can be extinguished at a low rate (see File S1; Figure S2). As recombination rate values of the (Y12 Mat a) × (SK1-VI-Y3R4C5 Mat α) control sample didn't show significant variation between the eight experiments corresponding to the eight testers (ANOVA *p*-value = 0.99), results were normalized using this control as a standard (see supplementary File S1). The coefficient of coincidence (CoC) for a pair of intervals is defined as the ratio between the *experimental* frequency of double recombinants and its *theoretical* frequency in the absence of interference. Absence of interference means that recombination events in the two intervals are independent, and thus the theoretical frequency of double recombinants is simply the product of each interval's recombination fraction. Since CoC values strongly depend on recombination rate in the two intervals, we cannot compare CoC values across different strains or testers. We thus used a simulation approach to map the correspondence between CoC and the parameter *v* of the Gamma model (McPeek and Speed 1995) for each strain / tester combination. First, it was necessary to simulate the relationship between recombination fraction and number of crossovers for each value of *v* (see examples in Figure S3), and then the relationship between CoC and *v* (see examples in Figure S4; see details in File S1). The parameter *v* is a quantitative measurement of interference strength, it's value is 1 in the absence of interference, greater than 1 in the presence of positive interference, and lower than 1 in the presence of negative interference. In the Gamma model framework, this parameter does not depend on recombination rate and thus its values may be compared across strains and testers.

3.3.5 Score of sequence similarity at different scales

Reference sequences of all strains studied come from the Saccharomyces Genome Resequencing Project (SGRP; Liti *et al.* 2009; Cubillos *et al.* 2009). The sequence similarity percentage between homologous genomes was calculated at different scales: (1) genome-wide, (2) in the whole chromosome carrying the considered markers, (3) in the interval surrounded by the two markers analyzed, (4) within that interval, but focusing only on the DSBs-rich regions defined as 300bp regions for which Pan *et al.* found at least 100 Spo11-associated oligo reads (Pan *et al.* 2011), and (5) in the 30kb regions surrounding the interval. Similarity percentages were calculated both-ways, using the SK1 sequence as query blasted against the other parent as subject, and the reciprocal analysis using the SK1 sequence as subject and the other parent as query. Motivated by what occurs during the repair of meiotic double strand breaks, for each pair of sequences considered, the query sequence was sliced in 200bp windows sliding with a 50bp step. Only windows which did not contain any "N" in their sequence (92.6 % of the cases, sd = 7.9 %) were considered. For each window, we calculated the sequence similarity percentage as the fraction of identical nucleotides in the first High-Scoring-segment Pair multiplied by its length and divided by the size of the window (200) and multiplied by 100. We then took the average percentage of similarity for all windows within the region considered, calculated both ways. These computations were carried out using R scripts calling standalone BLAST+ (Camacho *et al.* 2009). Blast was preferred to sequence alignment software because it is much quicker and complete alignments were not necessary here.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The authors affirm that all data necessary for confirming the conclusions of this article are represented fully within the article and its tables and figures. Supplementary material includes the following files, which have been submitted to fig share:

3.4 RESULTS

3.4.1 Sporulation, spore viability and recombination rate

Because of the large genetic diversity explored in this work, we first assessed the correct progress of meiosis using sporulation rate and spore viability as proxies. When crossing all strains of the collection (see Materials and Methods) with SK1, sporulation rates reached a plateau before 10 days on the sporulation medium (Figure S5), and the values of the plateau ranged from 14% to 85% across hybrids with a continuous variation, the maximum being reached for the SK1 × SK1 diploid which is completely homozygous (Figure S6A). Sporulation rates and spores viabilities obtained in this work using a simple solid medium (for practical reasons) were on average lower than those usually obtained with optimized conditions. Spore viability ranged from 1.5 to 85 %, the hybrids from strains UWOPS03_461_4, UWOPS05_217_3, UWOPS05_227_2 (Malaysian wild strains), and YS9 (Asian baking strain) producing almost no viable spores (Figure S6B). Such low viability may denote abnormalities in the meiotic process, probably associated with chromosomal rearrangements previously described for the Malaysian clade (Dujon and Louis 2017). Therefore we discarded these four strains. Spore viability was not correlated with the sporulation rate (*p*-value=0.16) indicating that these two biological processes are relatively independent. Finally, the average recombination rate over the eight testers was significantly positively correlated with spore viability (r^2=0.49 *p*-value=7.2×10^{-5}).

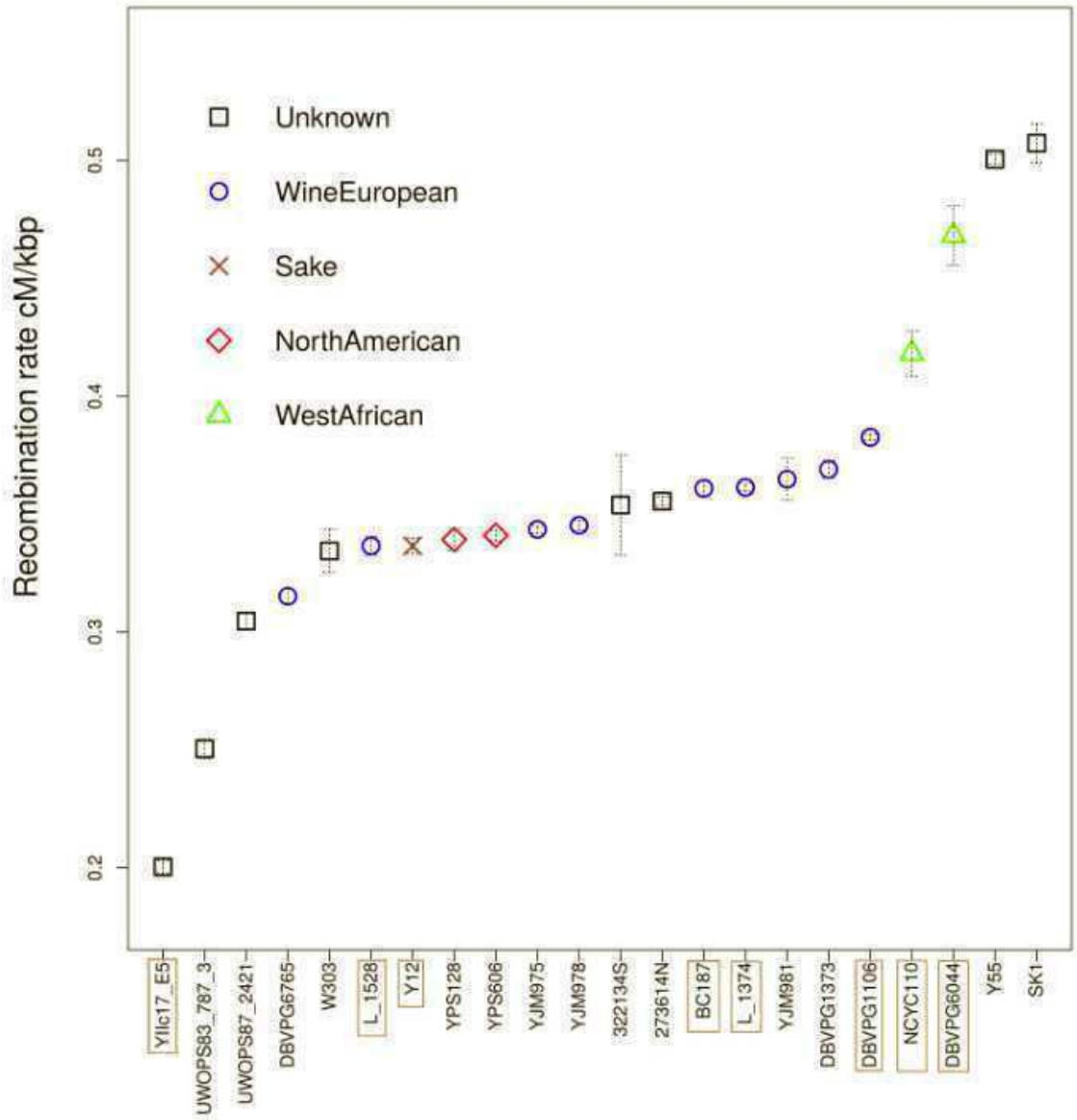
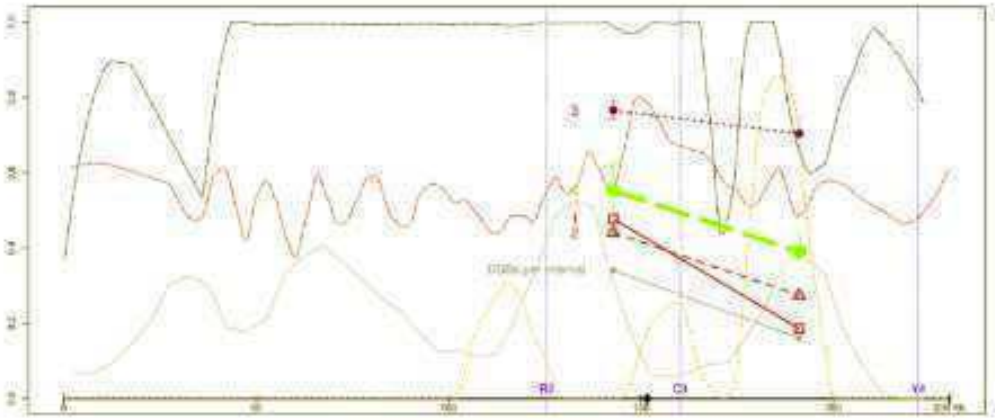


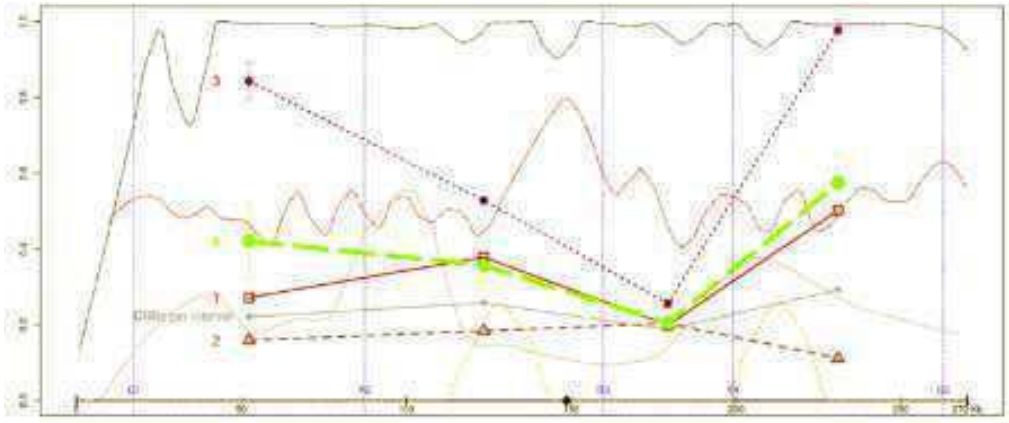
Figure 1: Average recombination rate over the 14 intervals for each strain of the collection crossed to SK1 testers. Strain names bordered in brown indicate domesticated strains. Symbols and colors refer to the phylogenetic group of the strains. Error bars indicate 95% confidence intervals based on four biological replicates.

3.4.2 Wide diversity of recombination rate in the collection

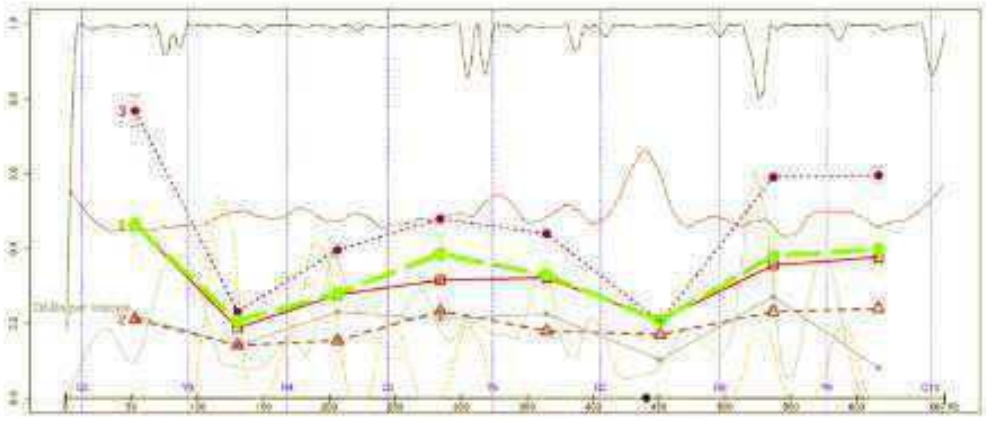
When pooling the information obtained from all intervals of the eight testers, we obtained global recombination rates ranging from 0.20 cM/kbp to 0.51 cM/kbp across the 22 hybrids tested. The highest value corresponds to the SK1 × SK1 diploid (Fig 1). Recombination rates averaged over hybrids varied significantly between chromosome I (0.47 cM/kbp), chromosome VI (0.39 cM/kbp), and chromosome XI (0.30 cM/kbp) (Tukey's HSD test: p-value < 10^{-7}), and between individual testers as well as between individual intervals delimited by fluorescent markers (Fig 2; Table S2; see each hybrid in Figure S7). The patterns of recombination rate along chromosomes were significantly different between hybrids for some intervals, but all hybrids showed the same decreasing recombination rate tendency in the vicinity of centromere regions except for chromosome I for which there is a strong DSB hotspot in the interval containing the centromere (Fig 2; see each hybrid in Figure S7). For each interval, the ratio between the most and least recombining hybrids ranged from 1.8 to 9.5. Note that the SK1 × SK1 diploid had the highest recombination rate only for intervals two and ten. Analyses of variance revealed significant effects of hybrids, intervals, and hybrid × interval interactions on recombination rate (p-value < 2.2×10^{-16} for each effect). Further, we observed a significant effect of the geographic origin on the global (eight testers pooled) recombination rate of the hybrid (ANOVA p-value = 0.009). Specifically, pairwise significant differences were observed between hybrids involving strains collected in Africa and America (Tukey's HSD test: p-value = 0.049). Genome-wide sequence-based phylogenetic groups (Liti *et al.* 2009; see Figure S1) also showed a significant association with recombination rate (ANOVA p-value = 3.9×10^{-6}). Specifically, pairwise significant differences were observed between the West-African phylogenetic group and all other groups (Tukey's HSD test: p-values < 10^{-4}; see Figure S8). However, West-African strains gave almost the highest recombination rates of the collection for eight intervals, but almost the lowest for four intervals, and are ranked in the middle for the remaining two intervals (Figure S9), pointing to very different behaviors between intervals. Because adaptation to a changing environment can drive evolution towards higher recombination rate (Aggarwal *et al.* 2015), we analyzed hybrids of strains grown in laboratory, clinical, or fermentation habitats (supposed to be a stable environment). Surprisingly, they had significantly higher recombination rates than hybrids of strains coming from wild habitats which may correspond to more changing environments (Tukey's HSD test: p-values < 10^{-4}; see Figure S8).



Physical position on chromosome I



Physical position on chromosome VI



Physical position on chromosome XI

4 Average of 22 strains
1 UWOPS87 2421
2 YIIc17_E5
3 SK1

DSBs per interval
DSB level
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

Figure 2: Recombination rates in cM/kbp along chromosomes for hybrids between SK1 and strains UWOPS87_2421, YIIc17_E5, and SK1, and for the mean of the 22 hybrids (thick green line). Error bars indicate 95% confidence intervals based on four biological replicates. X-axis: physical position along chromosome I (upper panel), VI (middle panel) or XI (lower panel). Also shown: (1) DSBs per interval: average frequency of double strand breaks per base (Pan *et al.* 2011) between markers, (2) DSB level: average number of DSBs per 5kb window smoothed using "loess" , (3) H3K4Me3 level: arbitrary units based on (Liu *et al.* 2005) and smoothed using "loess", (4) Rec 8 level: arbitrary units based on (Sun *et al.* 2015) and smoothed using "loess", and (5) Sequence similarity: proportion of identical bases between homologs (see Materials and Methods) smoothed using "loess". Vertical blue dashed lines indicate the positions of fluorescent markers. Diamonds at the bottom show centromere positions.

3.4.3 Relative importance of cis and trans effects on recombination

Cis effects generally refer to situations where DNA sequence variation in a given region controls a phenomenon (e.g. gene expression, or recombination) arising in that particular region or in its neighbourhood. On the contrary, *trans* effects act remotely *via* diffusing factors. To quantitatively estimate and test the respective roles of *cis* and *trans* effects in our recombination data, we formalized the question by defining *trans* effects as mechanisms modulating recombination by the same extent in all intervals studied for one given hybrid. Given this definition, *trans* effects correspond to the general effect of the hybrid on recombination (excluding interaction with intervals), and *cis* effects correspond to the specific effect of hybrid × interval interactions on recombination. We observed highly significant effects of hybrid, interval, and hybrid × interval interaction on recombination rate (ANOVA p-value < 10^{-15} for all three effects, the model explaining 99.4% of the total phenotypic variance, due to there being hardly any variation across replicates). This approach allowed us to estimate that *cis* effect explained 38.3% of the variance of recombination rate and that *trans* effects explained 17.0% of that variance.

3.4.4 Relationship between recombination rate and DSB levels

For most hybrids, recombination rates and DSB patterns showed a positive correlation except in the region between markers Y2 and R3 of chromosome VI, and in the region between Y9 and C10 of chromosome XI (Fig 2; see also each hybrid in Figure S7). Patterns of recombination rate along

chromosomes and average SK1 DSB levels (data from Pan *et al.* (2011) were both low near the centromere, except for chromosome I (Fig 2).

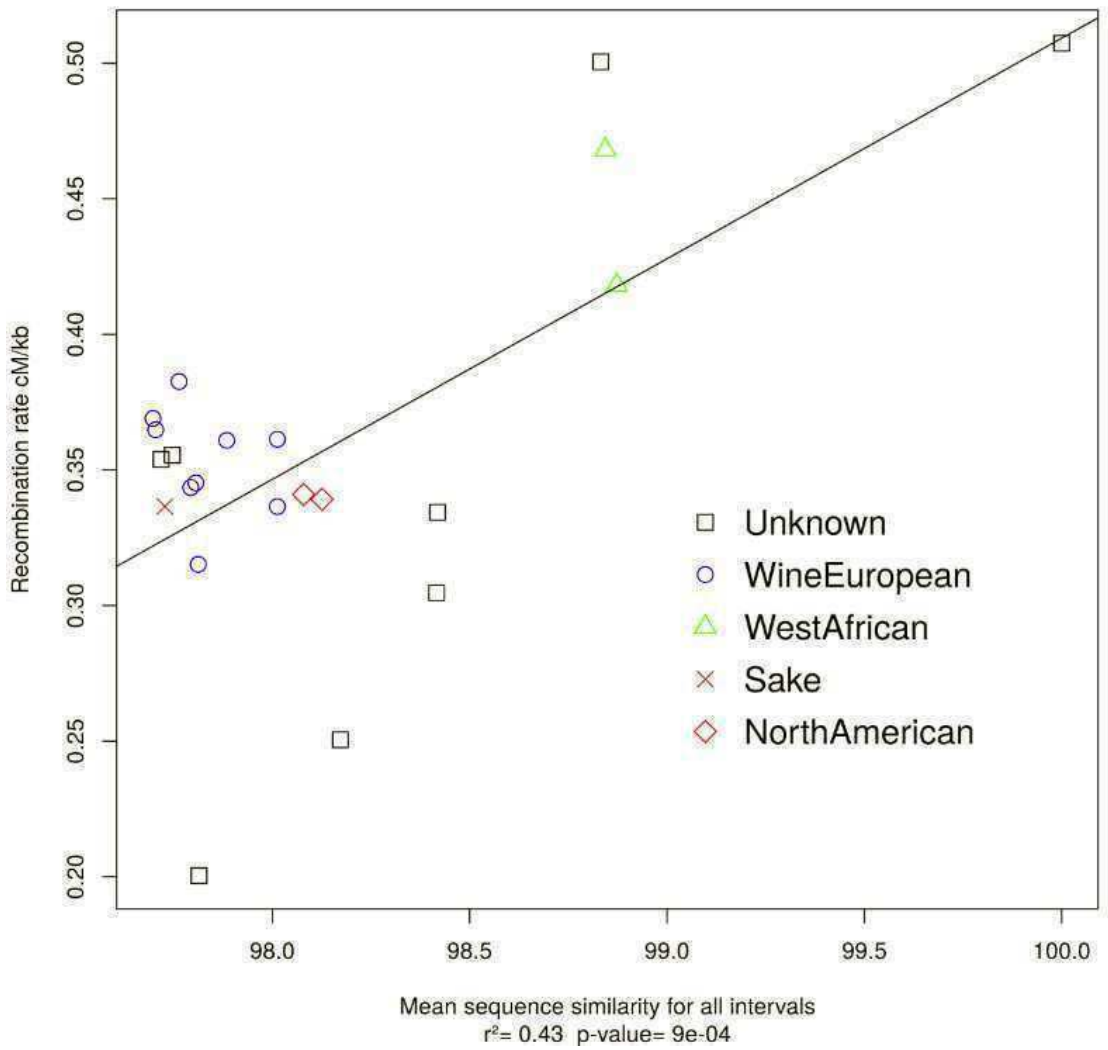


Figure 3: Correlation between sequence similarity when pooling all intervals and the mean recombination rate of hybrids. X-axis: score of sequence similarity (see Materials & Methods), Y-axis: for each strain of the collection, average of the recombination rates obtained in the 14 intervals. Colors indicates the phylogenetic group of the strains.

3.4.5 High levels of heterozygosity reduce recombination

To investigate the correlation of recombination rate with sequence similarity between homologous chromosomes (which is one minus the observed heterozygosity) across the different hybrids, we considered successively five scales of sequence similarity: the pool of all intervals studied, the pool of all intervals on each chromosome, each interval separately, DSB-rich regions within each interval, and 30Kb regions surrounding each interval (see Materials and Methods). We found a significant positive correlation between average recombination rate and sequence similarity when pooling all intervals (r^2=0.43 *p*-value=9×10^{-4}) (Fig 3), as well as when pooling intervals for each chromosome (r^2>0.2 *p*-value<0.04) (Figure S10). The three chromosomes investigated thus seem to have similar correlations. When considering the 14 intervals separately, we found significant positive correlations between sequence similarity and recombination rate for nine of them. Analysis of sequences flanking these 14 intervals on both sides showed that only five intervals gave significant positive correlations (Table S3). Finally, focusing on sequence similarity within DSB-rich regions in these 14 intervals, nine intervals showed significant positive correlations (Table S3). This correlation is expected because sequence divergence greater than about 1% is known to lead to heteroduplex rejection by the mismatch repair machinery, and recombination suppression (Chen and Jinks-Robertson 1999). Elsewhere, the correlation between recombination rate and sequence similarity in DSBs rich regions is weaker than when considering the whole sequence spanned by intervals. This suggests that in our data, CO number is not only controlled by local sequence similarity at the sites of DSBs repair. Similarly, the correlation between recombination rate and sequence similarity within the interval studied is weaker than when considering genome wide sequence similarity, which again points to the existence of *trans* effects in addition to *cis* effects for controlling CO number.

3.4.6 Crossover interference analysis

To quantitatively compare interference strength across strains and chromosomal regions, we used the *v* parameter of the Gamma model (McPeek and Speed 1995), inferred for each pair of adjacent intervals (corresponding to one tester) from its coefficient of coincidence (CoC) and its two recombination fractions measured for a strain × tester combination (see Materials & Methods and supplementary methods in File S1). As in our previous study (Raffoux *et al.* 2018), we discarded the tester SK1-XI-R1C2Y3 from interference analyses because its first interval is anomalously small (5,557

bp). When pooling the information given by the seven testers, we obtained *v* values ranging from 0.54 to 1.53 across hybrids (Fig 4; see also CoCs in Figure S11). Most hybrids show either no interference (*v* ≈1) or positive interference (*v* >1). However, the two strains YIIc17_E5 and UWOPS83_787_3, which also have the lowest genome-wide recombination rates, display negative interference (*v* <1). Interference patterns along chromosomes were also significantly different between some hybrids (Figure S12). We found significant effects of hybrid, tester, and interaction hybrid × tester on interference strength (ANOVA *p*-value < 2.2×10^{-16}). Interference strength and average recombination rate were positively correlated across the seven testers (Fig 5), even when discarding the two outlier strains YIIc17_E5 and UWOPS83_787_3 from the data (r2=0.56, *p*-value=10^{-4}).

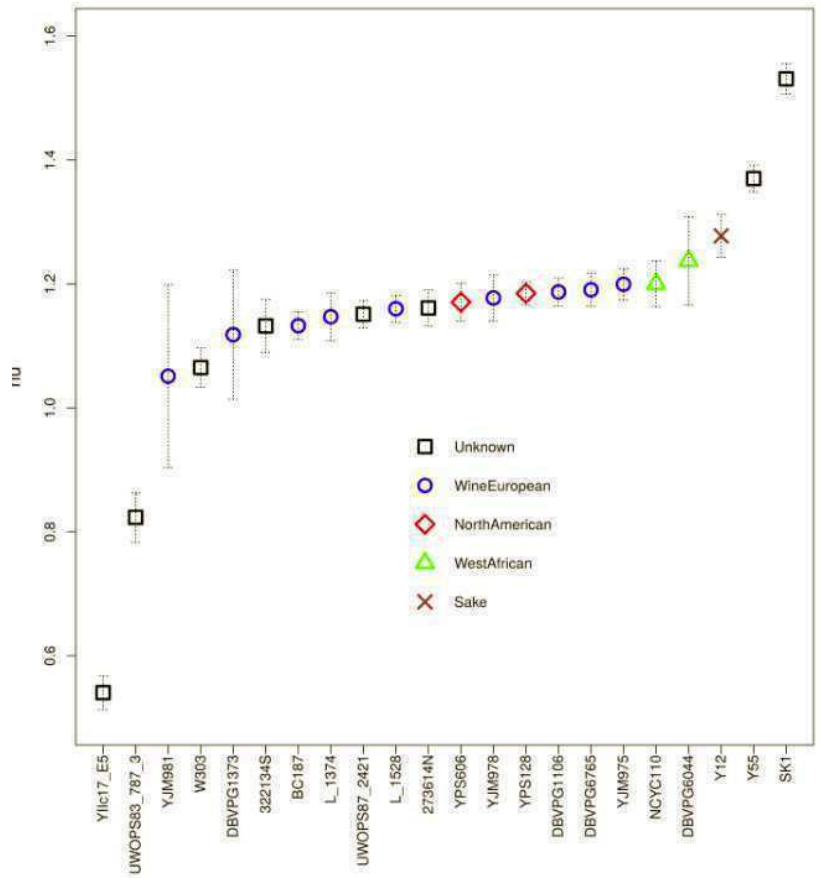


Figure 4: Diversity of interference strength measured by the v (*nu*) parameter of the Gamma model across hybrids. X-axis: name of the parent crossed with SK1 tester to produce the hybrid. Y-axis: average v value over all testers except SK1-XI-R1C2Y3 which has two very close markers and was not considered for these averages. Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. Colors refer to the phylogenetic group of the strains.

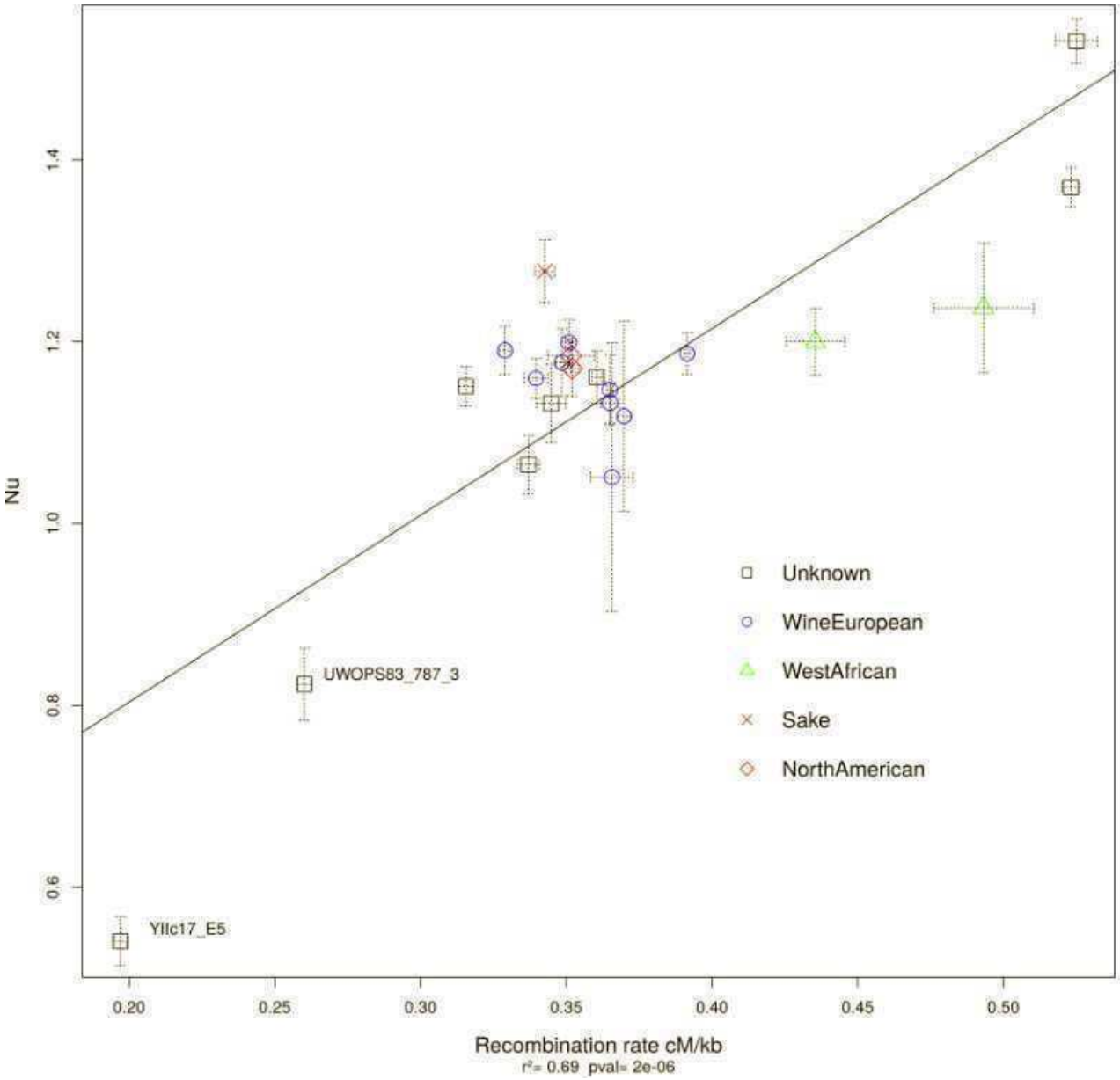


Figure 5: Correlation between average interference intensity *v* (*Nu;* parameter of the Gamma model), and average recombination rate over all testers except SK1-XI-R1C2Y3 which has two very close markers and was not considered for these averages. Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. Colors refer to the phylogenetic group of the strains.

3.4.7 Inbreeding reduces recombination

To obtain further insights on the control of recombination rate, we measured the genetic length of interval Y9C10 on chromosome XI for 10 hybrids obtained by crossing five parental strains in an incomplete diallel experiment (See Fig 6). As above, the recombination rates in this diallel experiment showed a significant correlation with sequence similarity between homologs (p-value= 7×10^{-10}, r^2=0.4). Recombination rate is a quantitative trait displaying genetic diversity (Fig 1). As such, it may be controlled by several types of mechanisms involving QTLs possibly interacting with each other. These QTLs may have two kinds of effects: (1) additive effects of individual alleles, which sum up in the hybrid, referred to as general combining ability (GCA; Sprague and Tatum, 1942), and (2) interaction effects between alleles either at the same locus (including dominance, over-dominance, and inbreeding) or between alleles at different loci (epistasis), referred to as specific combining ability (SCA; Sprague and Tatum, 1942). The effect of heterozygosity on recombination rate may be considered as a particular type of SCA because there is no additive effect associated with individual sequences and the recombination rate depends on each pair of homologous sequences. Therefore we used the pairwise sequence similarity as a quantitative explicative variable in our diallel analysis, thereby distinguishing sequence similarity effects from other interaction effects. We then used the Hierarchical Generalized Linear Model below, considering sequence similarity between homologs as a *fixed* effect, and GCA, SCA, and inbreeding as *random* effects. Specifically, the statistical model sets

$Y_{ijk} = \mu + \alpha S_{ij} + GCA_i + GCA_j + SCA_{ij} + INB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$

Y_{ijk} Genetic distance (in cM), measured in the hybrid formed by crossing strain *i* and strain *j* for the replicate *k*

μ: Intercept (in cM)

α Coefficient associated with sequence similarity effect (in cM per percent of similarity)

S_{ij}: Percentage of sequence similarity between strain *i* and strain *j* (See Materials and Methods)

GCA_i: General combining ability (in cM) of strain *i*

GCA_j: General combining ability (in cM) of strain *j*

SCA_{ij}: Specific combining ability (in cM) of the hybrid obtained by crossing strain *i* and strain *j when i≠j, set to 0 when i=j*, calculated as $Y_{ij.} - 1/2\ (Y_{i..} + Y_{.j.}) - \mu$

INB_{ij}: Inbreeding effect when *i* = *j* (in cM), calculated as $Y_{ii.} - Y_{i..} - \mu$

ε_{ijk}: Residual variance

To estimate the parameters, we used the R hglm package (Lars Ronnegard, Xia Shen and Moudud Alam 2010; Moudud Alam, Lars Ronnegard and Xia Shen 2014) as described by Lenarcic *et al.* (2012) and Nepoux *et al.* (2015). This program uses a Bayesian approach to fit hierarchical generalized linear models. We found that the Akaike information criterion decreased when adding factors one after the other, indicating that all parameters of the model are relevant. We further checked that there was a strong significant correlation between experimental and predicted phenotypic values (r^2=0.78 *p*-value=4.5×10^{-45}) (Figure S13). The results of the diallel analysis are given in Figure S14. Values of effects are relative to the intercept μ which would be the phenotypic value obtained if all effects were null**.** The GCA results showed that strain DBVPG6044 had a significantly higher GCA value (+8.5cM from the intercept value) than the four other strains (between -3.4 and 0cM), which were not very different from each other. SCA results showed some differences between parental combinations (ranging from -3cM to +4.5cM) but the effects remained limited. In the cases of SK1 and YPS128, for which we could measure the recombination rates in the homozygous diploids, we observed strong inbreeding effects, in effect depressing the recombination rates in a major way (*INB*=-36,7cM for SK1 and *INB*=-23.3cM for YPS128). Finally, the estimated effects of sequence similarity (αS) ranged from 0 to +44.4cM across hybrids, the two highest values corresponding to homozygous diploids. Thus in our experiment, hybrids from distantly related strains show that heterozygosity decreases recombination rate, but we also see from the two homozygotes having negative inbreeding effects that high levels of homozygosity seem to decrease recombination rate. Altogether, αS and *INB* effects were much stronger than other effects, suggesting that sequence similarity may be the strongest factor driving the genetic diversity of recombination rate within *S. cerevisiae* strains.

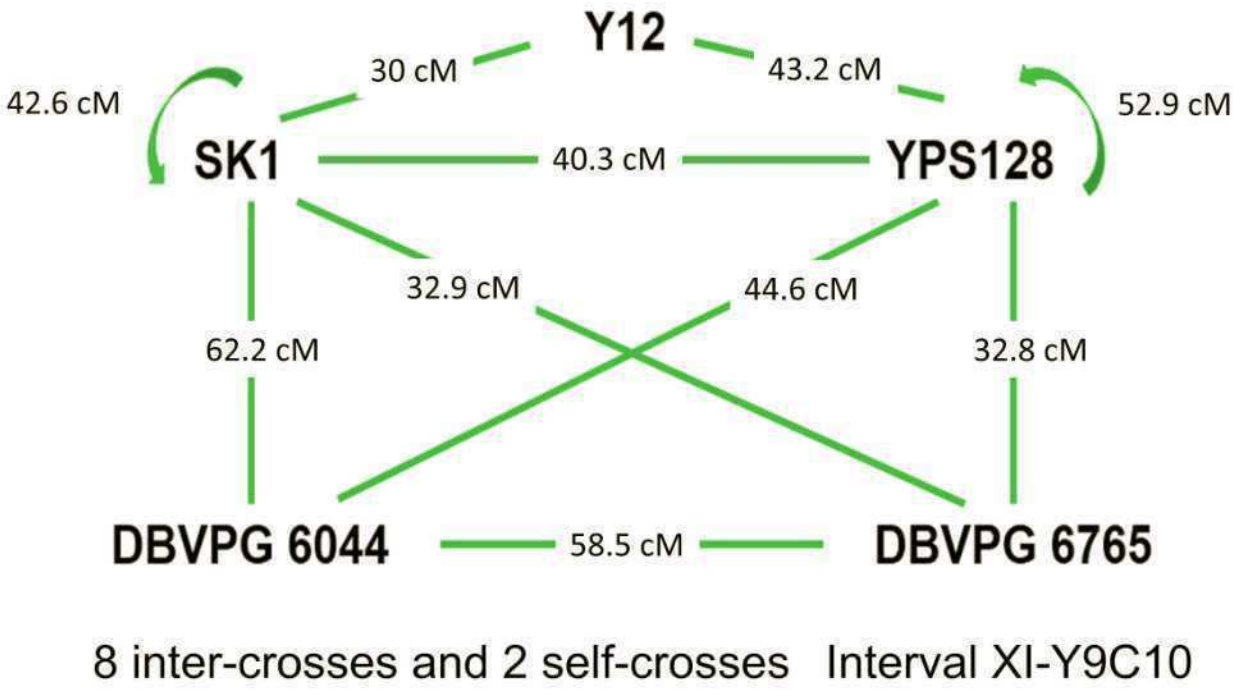


Figure 6: Hybrids obtained by crossing five parental strains. Each green line represents a cross and corresponding numbers indicate the genetic distance in centiMorgan measured in the interval.

3.5 DISCUSSION

3.5.1 Intraspecific diversity of recombination

When the level of divergence between homologous chromosomes is too high, DSBs cannot be repaired through the homologous recombination pathway but may be repaired as gene conversions because of heteroduplex rejection by the mismatch repair pathway. This may prevent CO formation, leading to aneuploidy and loss of spore viability (Hunter *et al.* 1996; Chambers *et al.* 1996). In our study, we thus discarded the hybrids showing strong spore viability defects, to keep only those which are relevant for studying homologous recombination. We observed recombination rates (averaged across the eight testers) between 0.20 and 0.51 cM/kbp, which is consistent with previous results in budding yeast genome-wide analyses: 0.4cM/kbp (see Fig 2 of Cubillos *et al.* 2011), 0.61 cM/kbp (Mancera *et al.* 2008), or from 0.29 to 0.63 cM/kbp for chromosome VII left arm (Malkova *et al.* 2004). We observed a

negative correlation (although involving only three chromosomes) between chromosome physical size and recombination rate, in accordance with a mechanism previously proposed in yeast (Kaback *et al.* 1992). Across our 22 strains, we obtained an average 2.55-fold variation of recombination rate, that can be compared to the observation by Cubillos *et al.* (2011) of a 4-fold variation between crosses of four genetically distant *S. cerevisiae* strains. This could be compared to the case of maize, where only 30% variation was measured in genome wide CO numbers between 23 (Bauer *et al.* 2013) and 25 (McMullen *et al.* 2009) hybrids, based on genetic mapping; such far more modest variation might be attributable to less intra-specific divergence in maize than in *S. cerevisiae*. We also observed that West African strains gave hybrids with the highest average recombination rates (Figure S8; although the opposite trend was observed in a few intervals, see Figure S9). This is in accordance with our results on the effect of heterozygosity since these strains are phylogenetically the closest to SK1 (Figure S1). The present study also indicates that the recombination landscape along chromosomes is different across strains: the ratio between the most and least recombining hybrids ranged from 1.8 to 9.5 depending on the interval. In maize (McMullen *et al.* 2009) an average 2.9-fold variation in CO number was reported between 25 hybrids, some intervals showing up to 30-fold differences. Such high levels of variation of recombination rate across intervals suggest that some determinants affect recombination in close-by locations (*cis* effects). Finally, we observed significantly different recombination rates depending on the habitat of the parental strains, but there is no indication that strains living in changing environments may have evolved higher recombination rates to adapt more easily, as previously hypothesized (Bürger 1999; Aggarwal *et al.* 2015; McDonald *et al.* 2016; Kosheleva and Desai 2017). Hybrids from laboratory strains recombined more than the other groups, but those from strains domesticated for fermentation did not. This gives no clear support to the hypothesis that domesticated strains evolved higher recombination rate (Ross-Ibarra 2004), or were selected indirectly for their higher recombination rate since creating more genetic combinations can play positive roles for adaptation. Note that higher recombination may also have deleterious effects by breaking up established favorable arrangements, although *A. thaliana* mutant implementing nearly eight times more COs did not show any detectable phenotypic defect (Fernandes *et al.* 2018).

3.5.2 Intraspecific diversity of crossover interference

Through our measurements of coefficient of coincidence (CoC) and interference strength (*v*), we observed positive CO interference for most testers and hybrids, which is in accordance with previous studies reporting interference in *S. cerevisiae* (de los Santos *et al.* 2003; Malkova *et al.* 2004; Stahl *et al.* 2004; Chen *et al.* 2008). Two hybrids however, YIIc17_E5 × SK1 and UWOPS83_787_3 × SK1, showed negative interference. These two hybrids are among those with the lowest recombination rate, sporulation rate, and spore viability of the collection. In such crosses between distantly related parents, negative interference might be justified *a posteriori* as being due to meiotic defects. Specifically, if two homologs do not pair in some of the meioses, CO events will be statistically positively correlated because the data will consist of a mixture where some cases have pairings and others do not. In a similar vein, if homologs stochastically pair only along part of their length, COs will be restricted to those paired regions and thus in effect they will be subject to clustering. Both situations result in apparent negative interference even if there is positive interference between crossovers for each meiosis or paired region. This is in direct analogy with what was observed in the *Arabidopsis axr1* mutant (Jahns *et al.* 2014). We also observed significant variation of interference across hybrids. To our knowledge, intraspecific diversity of interference strength had never been assessed before in *S. cerevisiae*, but in maize, Bauer *et al.* (2013) reported significant differences among 23 hybrids based on the Gamma model. We also measured variations of interference intensity along and between chromosomes, as already reported in *S. cerevisiae* (Zhao *et al.* 1995; Mancera *et al.* 2008) and in *Arabidopsis* (Basu-Roy *et al.* 2013). Our results showed significant positive correlations (averaged across seven testers) between recombination rate and interference strength, whereas in maize, Bauer *et al.* (2013) reported a significant negative correlation. It is commonly hypothesized that interference reduces CO number while ensuring the obligatory CO (Chakraborty *et al.* 2017). Indeed, there seems to be selective pressure against too many COs, although the reasons are unclear (Mercier *et al.* 2015). The maize results of Bauer *et al.* (2013) are in accordance with this hypothesis, whereas our results in yeast are not. An tentative explanation may come from the fact that in maize, each meiocyte undergoes almost 500 DSBs that lead to about 20 COs (Pawlowski *et al.* 2003; Anderson *et al.* 2003), whereas in *S. cerevisiae*, 40% of the DSBs lead to the formation of COs (Brown *et al.* 2013). The DSB/CO ratio is then about 25 in maize to be contrasted with 2.5 in *S. cerevisiae.* So in the context of selective pressure against both too many COs and zero CO, a high number of DSBs together with strong interference could fulfill both constrains. One would then expect many more DSBs than COs,

and a negative correlation between interference and recombination, as observed in maize. On the other hand, as the DSB/CO ratio is low in *S. cerevisiae*, it is less plausible there to consider interference as the main mechanism at work to limit CO number, and this might explain the difference between our results in yeast and results in maize (Bauer *et al.* 2013).

3.5.3 Genetic control of recombination rate

Effect of heterozygosity and homozygosity on recombination rate

Considering all intervals pooled, the recombination rates in our study showed a significant positive correlation with sequence similarity between the two parents of the hybrid (*i.e.* a negative correlation between heterozygosity and COs). This strong correlation (r^2=0.43 *p*-value=9×10^{-4}; Fig 3) is in accordance with previous studies showing that heterozygosity can have an inhibitory effect on homologous recombination in yeast (Borts and Haber 1987) or in *A. thaliana* (Opperman *et al.* 2004). In our study, sequence similarity in DSB rich regions did not explain recombination rate better than sequence similarity in whole intervals, suggesting that the sequence similarity in the region of strand invasion is probably not the main determinant of DSB commitment into CO *vs* NCO or repair on the sister chromatid. We used DSBs pattern obtained from a homozygous SK1 strain, whereas our hybrids are heterozygous between SK1 and other strains; nevertheless, this is not a problem because DSB landscape variation has been shown to be very modest between *S. cerevisiae* strains (Lam and Keeney 2015). In all likelihood, DSBs landscapes are similar between SK1 and our hybrids. Elsewhere our analysis of sequence similarity in regions flanking the 14 intervals on both sides showed a significant positive correlation with the recombination rate within the interval in five cases (four of which also being significant when considering sequence similarity within the intervals). This suggests that those flanking regions might carry some of the determinants of the positive correlation between sequence similarity and recombination rate. Similarly, results on *A. thaliana* (Ziolkowski *et al.* 2015) showed that the presence of a heterozygous interval next to a homozygous region leads to more COs in the heterozygous region and less in the homozygous one. At a larger scale, we observed that the genome wide correlation between recombination rate and sequence similarity is stronger than when focusing on individual chromosomes, and even more than when focusing on individual intervals. This points to the presence of *trans* acting factors modulating CO formation, in addition to *cis* effects. Further, our study of hybrid × intervals interactions indicated that the contribution of the *cis* effects was two times larger than that of *trans* effects when it comes to explaining the variance of recombination rate. Our

results altogether suggest that heterozygosity alone is not sufficient to explain the variation observed in CO numbers and positions across hybrids, in accordance with previous works (Salomé *et al.* 2012; Bauer *et al.* 2013; Rodgers-Melnick *et al.* 2015; Ziolkowski and Henderson 2017). CO control may also depend on other factors such as structural differences between homologous genomes that can (1) inhibit CO formation as observed in *A. thaliana* (Fransz *et al.* 2016), or (2) modify CO frequency as suggested in maize (Bauer *et al.* 2013; Rodgers-Melnick *et al.* 2015). Beyond sequence-related effects, recombination can also be modulated by epigenetic factors, as observed in centromeric regions (Yelina *et al.* 2012, 2015a; b), and by environmental conditions (Phillips *et al.* 2015; Saini *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2017).

Dissecting parental effects on recombination

Our diallel experiment also showed a significant positive effect of sequence similarity on recombination rate. Together with the correlation observed in our diversity experiment, this confirms that heterozygosity is a major determinant of the intraspecific genetic diversity of recombination rate in *S. cerevisiae* hybrids. Since this determinant is defined pairwise rather than in terms of individual sequences, its effect has no additive component and may be considered as overdominance. This is illustrated by comparing recombination rates of heterozygous *vs* homozygous crosses involving the parental strains SK1 and YPS128 (Fig 6; Fig 7): crossover numbers measured in SK1 × YPS128 were significantly lower than in both SK1 × SK1 and YPS128 × YPS128 crosses, reflecting overdominance due to sequence divergence. But in fact, the quantitative analysis of the diallel experiment revealed that this apparent sequence similarity effect comes from the combined effects of *αS* and *INB* which represent respectively the negative effect of strong heterozygosity on recombination and *also* the negative effect of inbreeding in perfect homozygotes on recombination (*αS=+44 cM, INB*=-36.7cM for SK1 × SK1 and *INB*=-23.3cM for YPS128 × YPS128) (Table S4). Accordingly, the highest values of recombination in the diallel experiment do not correspond to homozygous diploids but to the heterozygous hybrid SK1 × DBVPG6044. This may be explained by the fact that SK1 and DBVPG6044 may be genetically close enough to allow high recombination rates (*αS*=23,35cM) but different enough to escape inbreeding effects on recombination. It would be interesting to extend our experiment to more closely related strains to investigate in detail such inbreeding effect. It is usually assumed that inbreeding depression is due to recessive deleterious mutations (Charlesworth and Willis 2009), and this is expected to be particularly true in outcrossing species which do not purge such mutations. Unfortunately, the relationship between recombination rate and fitness is complex, making

interpretations difficult. In the case of *S. cerevisiae*, the HO gene can lead to mating type switch (Haber 2012) potentially favoring inbreeding which may justify the inbreeding depression we see, although the level of outcrossing in natural *S. cerevisiae* populations remains unknown (Ruderfer *et al.* 2006; Magwene *et al.* 2011).

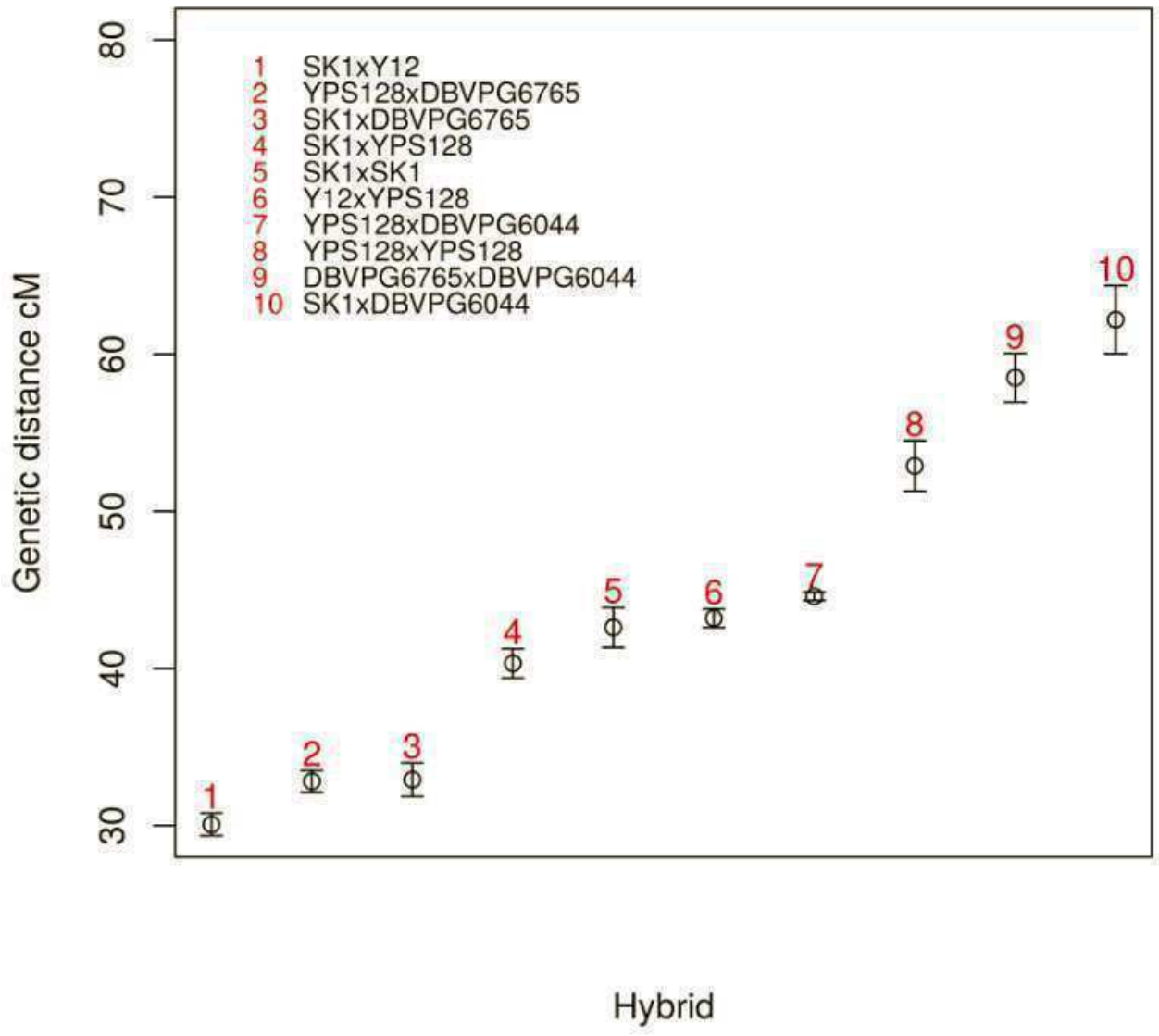


Figure 7: Diallele experiment: genetic length of interval R8Y9 on chromosome XI for 10 hybrids obtained by crossing five parental strains. Error bars indicate 95% confidence intervals.

3.6 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Christine Dillmann and Marianyela Petrizzelli for their help in analyzing the diallele experiment, as well as Valérie Borde, Monique Bolotin-Fukuhara, Denise Zickler, and two anonymous reviewers for helpful comments on the manuscript. The present work has benefited from the Cytometry / Electronic Microscopy / Light Microscopy facility of Imagerie-Gif (http://www.i2bc.paris-saclay.fr), a member of IBiSA (http://www.ibisa.net), supported by 'France-BioImaging' (ANR-10-INBS-04-01) and the Labex 'Saclay Plant Science' (https://www.universite-paris-saclay.fr/en/research/project/labex-sps-sciences-des-plantes-de-saclay) (ANR-10-LABX-0040-SPS). GQE - Le Moulon benefits from the support of the LabEx Saclay Plant Sciences-SPS (https://www.universite-paris-saclay.fr/en/research/project/labex-sps-sciences-des-plantes-de-saclay) (ANR-10-LABX-0040-SPS).

3.7 REFERENCES

Acquaviva L., L. Szekvolgyi, B. Dichtl, B. S. Dichtl, C. d. L. R. Saint Andre, *et al.*, 2012 The COMPASS Subunit Spp1 Links Histone Methylation to Initiation of Meiotic Recombination. Science 339: 215–218. https://doi.org/10.1126/science.1225739

Aggarwal D. D., E. Rashkovetsky, P. Michalak, I. Cohen, Y. Ronin, *et al.*, 2015 Experimental evolution of recombination and crossover interference in Drosophila caused by directional selection for stress-related traits. BMC Biology 13: 101. https://doi.org/10.1186/s12915-015-0206-5

Alani E., R. Reenan, and R. D. Kolodner, 1994 Interaction between Mismatch Repair and Genetic Recombination in Saccharomyces Cerevisiae. Genetics 137: 19–39.

Anderson L. K., G. G. Doyle, B. Brigham, J. Carter, K. D. Hooker, *et al.*, 2003 High-resolution crossover maps for each bivalent of Zea mays using recombination nodules. Genetics 165: 849–865.

Anderson L. K., L. D. Lohmiller, X. Tang, D. B. Hammond, L. Javernick, *et al.*, 2014 Combined fluorescent and electron microscopic imaging unveils the specific properties of two classes of meiotic crossovers. Proc Natl Acad Sci U S A 111: 13415–13420. https://doi.org/10.1073/pnas.1406846111

Basu-Roy S., F. Gauthier, L. Giraut, C. Mézard, M. Falque, *et al.*, 2013 Hot regions of noninterfering crossovers coexist with a nonuniformly interfering pathway in Arabidopsis thaliana. Genetics 195: 769–779. https://doi.org/10.1534/genetics.113.155549

Baudat F., J. Buard, C. Grey, A. Fledel-Alon, C. Ober, *et al.*, 2009 PRDM9 Is a Major Determinant of Meiotic Recombination Hotspots in Humans and Mice. Science 327: 836–840. https://doi.org/10.1126/science.1183439

Bauer E., M. Falque, H. Walter, C. Bauland, C. Camisan, *et al.*, 2013 Intraspecific variation of recombination rate in maize. Genome Biol 14: R103. https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-9-r103

Borde V., and B. de Massy, 2013 Programmed induction of DNA double strand breaks during meiosis: setting up communication between DNA and the chromosome structure. Current Opinion in Genetics & Development 23: 147–155. https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.12.002

Borts R. H., and J. E. Haber, 1987 Meiotic recombination in yeast: alteration by multiple heterozygosities. Science 237: 1459–1465.

Brown M. S., E. Lim, C. Chen, K. T. Nishant, and E. Alani, 2013 Genetic Analysis of mlh3 Mutations Reveals Interactions Between Crossover Promoting Factors During Meiosis in Baker's Yeast. G3 (Bethesda) 3: 9–22. https://doi.org/10.1534/g3.112.004622

Bürger R., 1999 Evolution of genetic variability and the advantage of sex and recombination in changing environments. Genetics 153: 1055–1069.

Camacho C., G. Coulouris, V. Avagyan, N. Ma, J. Papadopoulos, *et al.*, 2009 BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics 10: 421. https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421

Chakraborty U., C. M. George, A. M. Lyndaker, and E. Alani, 2016 A Delicate Balance Between Repair and Replication Factors Regulates Recombination Between Divergent DNA Sequences in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics 202: 525–540. https://doi.org/10.1534/genetics.115.184093

Chakraborty U., and E. Alani, 2016 Understanding how mismatch repair proteins participate in the repair/anti-recombination decision. FEMS Yeast Res 16. https://doi.org/10.1093/femsyr/fow071

Chakraborty P., A. V. Pankajam, G. Lin, A. Dutta, G. N. Krishnaprasad, *et al.*, 2017 Modulating Crossover Frequency and Interference for Obligate Crossovers in *Saccharomyces cerevisiae* Meiosis. G3 (Bethesda) 7: 1511–1524. https://doi.org/10.1534/g3.117.040071

Chambers S. R., N. Hunter, E. J. Louis, and R. H. Borts, 1996 The mismatch repair system reduces meiotic homeologous recombination and stimulates recombination-dependent chromosome loss. Mol Cell Biol 16: 6110–6120.

Charlesworth D., and J. H. Willis, 2009 The genetics of inbreeding depression. Nat. Rev. Genet. 10: 783–796. https://doi.org/10.1038/nrg2664

Chen W., and S. Jinks-Robertson, 1999 The role of the mismatch repair machinery in regulating mitotic and meiotic recombination between diverged sequences in yeast. Genetics 151: 1299–1313.

Chen S. Y., T. Tsubouchi, B. Rockmill, J. S. Sandler, D. R. Richards, *et al.*, 2008 Global Analysis of the Meiotic Crossover Landscape. Dev Cell 15: 401–415. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.07.006

Coop G., X. Wen, C. Ober, J. K. Pritchard, and M. Przeworski, 2008 High-Resolution Mapping of Crossovers Reveals Extensive Variation in Fine-Scale Recombination Patterns Among Humans. Science 319: 1395–1398. https://doi.org/10.1126/science.1151851

Cubillos F. A., E. J. Louis, and G. Liti, 2009 Generation of a large set of genetically tractable haploid and diploid Saccharomyces strains. FEMS Yeast Research 9: 1217–1225. https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00583.x

Cubillos F. A., E. Billi, E. ZöRgö, L. Parts, P. Fargier, *et al.*, 2011 Assessing the complex architecture of polygenic traits in diverged yeast populations: YEAST COMPLEX TRAITS. Molecular Ecology 20: 1401–1413. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05005.x

Drouaud J., H. Khademian, L. Giraut, V. Zanni, S. Bellalou, *et al.*, 2013 Contrasted patterns of crossover and non-crossover at *Arabidopsis thaliana* meiotic recombination hotspots. PLoS Genet. 9: e1003922. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003922

Dujon B. A., and E. J. Louis, 2017 Genome Diversity and Evolution in the Budding Yeasts (Saccharomycotina). Genetics 206: 717–750. https://doi.org/10.1534/genetics.116.199216

Fernandes J. B., M. Séguéla-Arnaud, C. Larchevêque, A. H. Lloyd, and R. Mercier, 2018 Unleashing meiotic crossovers in hybrid plants. PNAS 115: 2431–2436. https://doi.org/10.1073/pnas.1713078114

Fransz P., G. Linc, C. Lee, S. A. Aflitos, J. R. Lasky, *et al.*, 2016 Molecular, genetic and evolutionary analysis of a paracentric inversion in Arabidopsis thaliana. Plant J 88: 159–178. https://doi.org/10.1111/tpj.13262

Gerton J. L., J. DeRisi, R. Shroff, M. Lichten, P. O. Brown, *et al.*, 2000 Global mapping of meiotic recombination hotspots and coldspots in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Proceedings of the National Academy of Sciences 97: 11383–11390.

Giraut L., M. Falque, J. Drouaud, L. Pereira, O. C. Martin, *et al.*, 2011 Genome-Wide Crossover Distribution in *Arabidopsis thaliana* Meiosis Reveals Sex-Specific Patterns along Chromosomes. PLOS Genet 7: e1002354. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002354

Haber J. E., 2012 Mating-Type Genes and MAT Switching in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics 191: 33–64. https://doi.org/10.1534/genetics.111.134577

Hunter N., S. R. Chambers, E. J. Louis, and R. H. Borts, 1996 The mismatch repair system contributes to meiotic sterility in an interspecific yeast hybrid. EMBO J 15: 1726–1733.

Hunter N., 2015 Meiotic Recombination: The Essence of Heredity. Cold Spring Harb Perspect Biol 7. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016618

Hunter C. M., W. Huang, T. F. C. Mackay, and N. D. Singh, 2016 The Genetic Architecture of Natural Variation in Recombination Rate in Drosophila melanogaster, (J. Sekelsky, Ed.). PLOS Genetics 12: e1005951. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005951

Illingworth C. J. R., L. Parts, A. Bergström, G. Liti, and V. Mustonen, 2013 Inferring Genome-Wide Recombination Landscapes from Advanced Intercross Lines: Application to Yeast Crosses, (M. Lichten, Ed.). PLoS ONE 8: e62266. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062266

Jahns M. T., D. Vezon, A. Chambon, L. Pereira, M. Falque, *et al.*, 2014 Crossover Localisation Is Regulated by the Neddylation Posttranslational Regulatory Pathway. PLOS Biology 12: e1001930. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001930

Kaback D. B., V. Guacci, D. Barber, and J. W. Mahon, 1992 Chromosome size-dependent control of meiotic recombination. Science 256: 228–232.

Keeney S., C. N. Giroux, and N. Kleckner, 1997 Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. Cell 88: 375–384.

Kosheleva K., and M. M. Desai, 2017 Recombination alters the dynamics of adaptation on standing variation in laboratory yeast populations. Mol Biol Evol. https://doi.org/10.1093/molbev/msx278

Lam I., and S. Keeney, 2015 Non-paradoxical evolutionary stability of the recombination initiation landscape in yeast. Science 350: 932–937. https://doi.org/10.1126/science.aad0814

Lars Ronnegard, Xia Shen and Moudud Alam, 2010 hglm: A Package for Fitting Hierarchical Generalized Linear Models.

Lenarcic A. B., K. L. Svenson, G. A. Churchill, and W. Valdar, 2012 A General Bayesian Approach to Analyzing Diallel Crosses of Inbred Strains. Genetics 190: 413–435. https://doi.org/10.1534/genetics.111.132563

Li C., Y. Li, Y. Shi, Y. Song, D. Zhang, *et al.*, 2016 Analysis of recombination QTLs, segregation distortion, and epistasis for fitness in maize multiple populations using ultra-high-density markers. Theor Appl Genet 129: 1775–1784. https://doi.org/10.1007/s00122-016-2739-6

Liti G., D. M. Carter, A. M. Moses, J. Warringer, L. Parts, *et al.*, 2009 Population genomics of domestic and wild yeasts. Nature 458: 337–341. https://doi.org/10.1038/nature07743

Liu C. L., T. Kaplan, M. Kim, S. Buratowski, S. L. Schreiber, *et al.*, 2005 Single-Nucleosome Mapping of Histone Modifications in *S. cerevisiae*. PLoS Biol 3. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030328

Liu S., C.-T. Yeh, T. Ji, K. Ying, H. Wu, *et al.*, 2009 Mu Transposon Insertion Sites and Meiotic Recombination Events Co-Localize with Epigenetic Marks for Open Chromatin across the Maize Genome. PLOS Genetics 5: e1000733. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000733

Magwene P. M., Ö. Kayıkçı, J. A. Granek, J. M. Reininga, Z. Scholl, *et al.*, 2011 Outcrossing, mitotic recombination, and life-history trade-offs shape genome evolution in *Saccharomyces cerevisiae*. Proc Natl Acad Sci U S A 108: 1987–1992. https://doi.org/10.1073/pnas.1012544108

Malkova A., J. Swanson, M. German, J. H. McCusker, E. A. Housworth, *et al.*, 2004 Gene Conversion and Crossing Over Along the 405-kb Left Arm of *Saccharomyces cerevisiae* Chromosome VII. Genetics 168: 49–63. https://doi.org/10.1534/genetics.104.027961

Mancera E., R. Bourgon, A. Brozzi, W. Huber, and L. M. Steinmetz, 2008 High-resolution mapping of meiotic crossovers and noncrossovers in yeast. Nature 454: 479–485. https://doi.org/10.1038/nature07135

Marsolier-Kergoat M.-C., M. M. Khan, J. Schott, X. Zhu, and B. Llorente, 2018 Mechanistic View and Genetic Control of DNA Recombination during Meiosis. Mol. Cell 70: 9-20.e6. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.02.032

Martini E., R. L. Diaz, N. Hunter, and S. Keeney, 2006 Crossover homeostasis in yeast meiosis. Cell 126: 285–295.

Martini E., V. Borde, M. Legendre, S. Audic, B. Regnault, *et al.*, 2011 Genome-Wide Analysis of Heteroduplex DNA in Mismatch Repair–Deficient Yeast Cells Reveals Novel Properties of Meiotic Recombination Pathways, (M. Lichten, Ed.). PLoS Genetics 7: e1002305. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002305

Massy B. de, 2003 Distribution of meiotic recombination sites. Trends Genet. 19: 514–522. https://doi.org/10.1016/S0168-9525(03)00201-4

Matos J., M. G. Blanco, S. Maslen, J. M. Skehel, and S. C. West, 2011 Regulatory Control of the Resolution of DNA Recombination Intermediates during Meiosis and Mitosis. Cell 147: 158–172. https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.08.032

McDonald M. J., D. P. Rice, and M. M. Desai, 2016 Sex speeds adaptation by altering the dynamics of molecular evolution. Nature 531: 233–236. https://doi.org/10.1038/nature17143

McMullen M. D., S. Kresovich, H. S. Villeda, P. Bradbury, H. Li, *et al.*, 2009 Genetic Properties of the Maize Nested Association Mapping Population. Science 325: 737–740. https://doi.org/10.1126/science.1174320

McPeek M. S., and T. P. Speed, 1995 Modeling Interference in Genetic Recombination. Genetics 139: 1031–1044.

Mercier R., C. Mézard, E. Jenczewski, N. Macaisne, and M. Grelon, 2015 The Molecular Biology of Meiosis in Plants. Annual Review of Plant Biology 66: 297–327. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035923

Mirouze M., M. Lieberman-Lazarovich, R. Aversano, E. Bucher, J. Nicolet, *et al.*, 2012 Loss of DNA methylation affects the recombination landscape in Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of Sciences 109: 5880–5885. https://doi.org/10.1073/pnas.1120841109

Moudud Alam, Lars Ronnegard and Xia Shen, 2014 Fitting Conditional and Simultaneous Autoregressive Spatial Models in hglm

Nepoux V., A. Babin, C. Haag, T. J. Kawecki, and A. Le Rouzic, 2015 Quantitative genetics of learning ability and resistance to stress in Drosophila melanogaster. Ecol Evol 5: 543–556. https://doi.org/10.1002/ece3.1379

Opperman R., E. Emmanuel, and A. A. Levy, 2004 The Effect of Sequence Divergence on Recombination Between Direct Repeats in Arabidopsis. Genetics 168: 2207–2215. https://doi.org/10.1534/genetics.104.032896

Pan J., M. Sasaki, R. Kniewel, H. Murakami, H. G. Blitzblau, *et al.*, 2011 A Hierarchical Combination of Factors Shapes the Genome-wide Topography of Yeast Meiotic Recombination Initiation. Cell 144: 719–731. https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.009

Pawlowski W. P., I. N. Golubovskaya, and W. Z. Cande, 2003 Altered Nuclear Distribution of Recombination Protein RAD51 in Maize Mutants Suggests the Involvement of RAD51 in Meiotic Homology Recognition. Plant Cell 15: 1807–1816. https://doi.org/10.1105/tpc.012898

Phillips D., G. Jenkins, M. Macaulay, C. Nibau, J. Wnetrzak, *et al.*, 2015 The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. New Phytol. 208: 421–429. https://doi.org/10.1111/nph.13548

Raffoux X., M. Bourge, F. Dumas, O. C. Martin, and M. Falque, 2018 High throughput measurement of recombination rates and genetic interference in *S. cerevisiae*. Yeast. https://doi.org/10.1002/yea.3315

Rodgers-Melnick E., P. J. Bradbury, R. J. Elshire, J. C. Glaubitz, C. B. Acharya, *et al.*, 2015 Recombination in diverse maize is stable, predictable, and associated with genetic load. Proceedings of the National Academy of Sciences 201413864. https://doi.org/10.1073/pnas.1413864112

Ross-Ibarra J., 2004 The Evolution of Recombination under Domestication: A Test of Two Hypotheses. The American Naturalist 163: 105–112. https://doi.org/10.1086/380606

Ruderfer D. M., S. C. Pratt, H. S. Seidel, and L. Kruglyak, 2006 Population genomic analysis of outcrossing and recombination in yeast. Nat. Genet. 38: 1077–1081. https://doi.org/10.1038/ng1859

Saini R., A. K. Singh, S. Dhanapal, T. H. Saeed, G. J. Hyde, *et al.*, 2017 Brief temperature stress during reproductive stages alters meiotic recombination and somatic mutation rates in the progeny of Arabidopsis. BMC Plant Biol 17. https://doi.org/10.1186/s12870-017-1051-1

Salomé P. A., K. Bomblies, J. Fitz, R. a. E. Laitinen, N. Warthmann, *et al.*, 2012 The recombination landscape in *Arabidopsis thaliana* F2 populations. Heredity (Edinb) 108: 447–455. https://doi.org/10.1038/hdy.2011.95

Santos T. de los, N. Hunter, C. Lee, B. Larkin, J. Loidl, *et al.*, 2003 The Mus81/Mms4 endonuclease acts independently of double-Holliday junction resolution to promote a distinct subset of crossovers during meiosis in budding yeast. Genetics 164: 81–94.

Serrentino M.-E., E. Chaplais, V. Sommermeyer, and V. Borde, 2013 Differential Association of the Conserved SUMO Ligase Zip3 with Meiotic Double-Strand Break Sites Reveals Regional Variations in the Outcome of Meiotic Recombination. PLoS Genet 9. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003416

Sprague G. F., and L. A. Tatum, 1942 General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn 1. Agronomy Journal 34: 923–932. https://doi.org/10.2134/agronj1942.00021962003400100008x

Stahl F. W., H. M. Foss, L. S. Young, R. H. Borts, M. F. F. Abdullah, *et al.*, 2004 Does Crossover Interference Count in *Saccharomyces cerevisiae*? Genetics 168: 35–48. https://doi.org/10.1534/genetics.104.027789

Sun X., L. Huang, T. E. Markowitz, H. G. Blitzblau, D. Chen, *et al.*, 2015 Transcription dynamically patterns the meiotic chromosome-axis interface. Elife 4. https://doi.org/10.7554/eLife.07424

Tham K.-C., R. Kanaar, and J. H. G. Lebbink, 2016 Mismatch repair and homeologous recombination. DNA Repair 38: 75–83. https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2015.11.010

Yelina N. E., K. Choi, L. Chelysheva, M. Macaulay, B. de Snoo, *et al.*, 2012 Epigenetic Remodeling of Meiotic Crossover Frequency in *Arabidopsis thaliana* DNA Methyltransferase Mutants, (G. S. Barsh, Ed.). PLoS Genetics 8: e1002844. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002844

Yelina N., P. Diaz, C. Lambing, and I. R. Henderson, 2015a Epigenetic control of meiotic recombination in plants. Science China Life Sciences 58: 223–231. https://doi.org/10.1007/s11427-015-4811-x

Yelina N. E., C. Lambing, T. J. Hardcastle, X. Zhao, B. Santos, *et al.*, 2015b DNA methylation epigenetically silences crossover hot spots and controls chromosomal domains of meiotic recombination in Arabidopsis. Genes Dev. 29: 2183–2202. https://doi.org/10.1101/gad.270876.115

Zhang K., X.-C. Wu, D.-Q. Zheng, and T. D. Petes, 2017 Effects of Temperature on the Meiotic Recombination Landscape of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. mBio 8: e02099-17. https://doi.org/10.1128/mBio.02099-17

Zhao H., T. P. Speed, and M. S. McPeek, 1995 Statistical analysis of crossover interference using the chi-square model. Genetics 139: 1045–1056.

Zickler D., and N. Kleckner, 2016 A Few of Our Favorite Things: Pairing, the Bouquet, Crossover Interference and Evolution of Meiosis. Semin Cell Dev Biol 54: 135–148. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.02.024

Ziolkowski P. A., L. E. Berchowitz, C. Lambing, N. E. Yelina, X. Zhao, *et al.*, 2015 Juxtaposition of heterozygous and homozygous regions causes reciprocal crossover remodelling via interference during Arabidopsis meiosis. eLife Sciences 4: e03708. https://doi.org/10.7554/eLife.03708

Ziolkowski P. A., and I. R. Henderson, 2017 Interconnections between meiotic recombination and sequence polymorphism in plant genomes. New Phytol. 213: 1022–1029. https://doi.org/10.1111/nph.14265

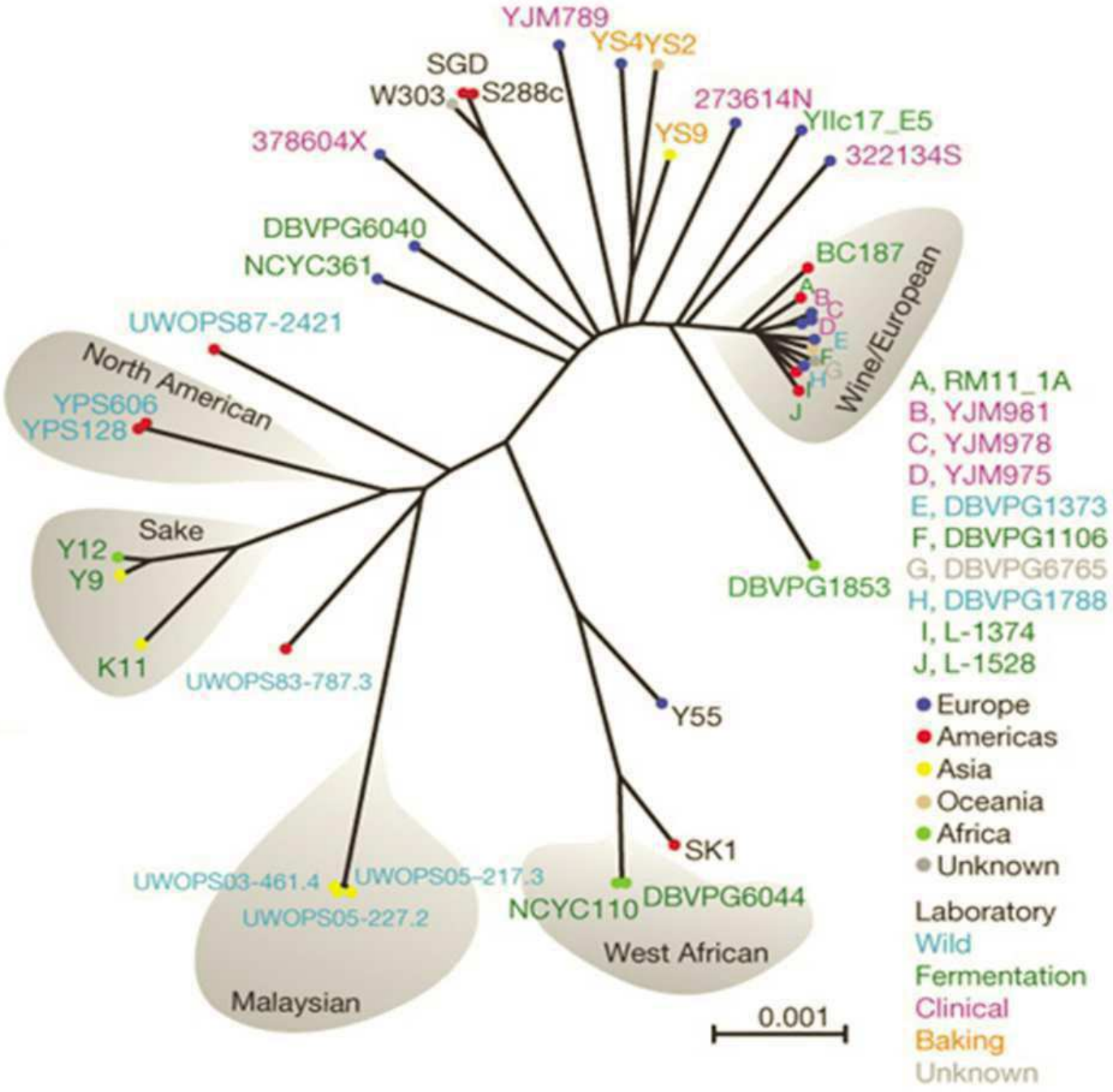


Figure S1: ***Saccharomyces*** **phylogenomics**, *S. cerevisiae* strains with clean lineages highlighted in grey, with colour indicating source (name) and geographic origin (dots). Figure extracted from figure 1 of (Liti *et al.* 2009)

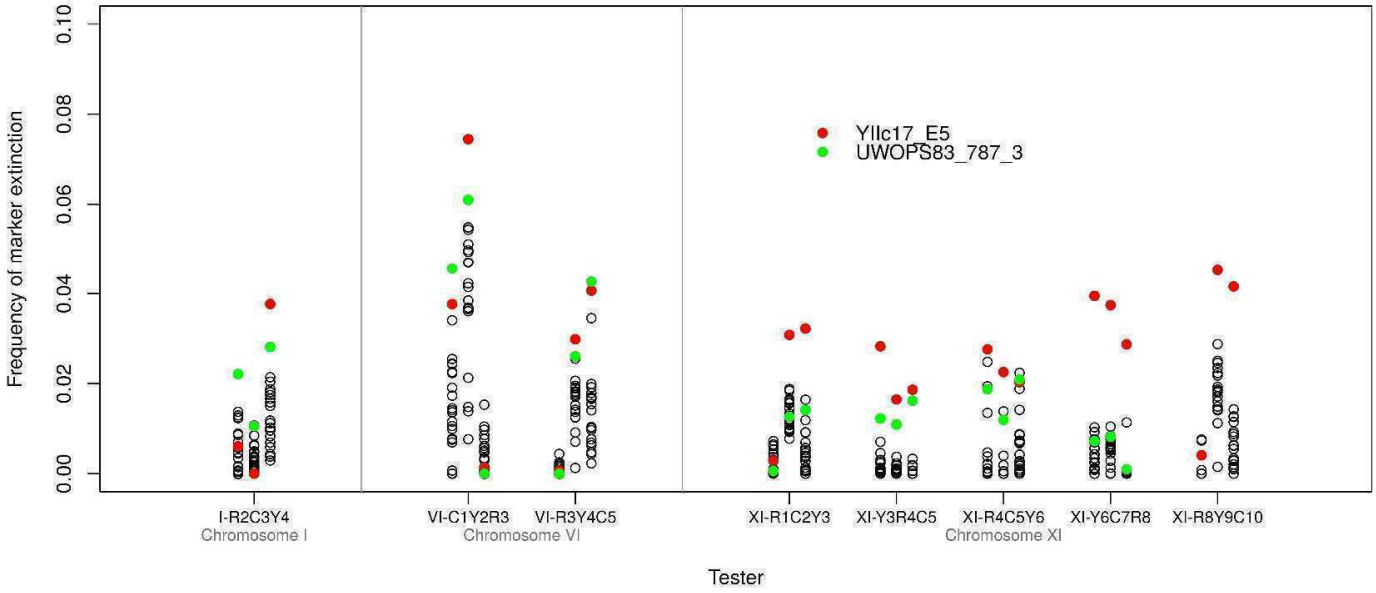


Figure S2: Frequency of fluorescence extinction for each marker locus in the 22 hybrids between SK1 and different strains of the collection, including YIIc17_E5 (red dots) and UWOPS83_787_3 (green dots) which show particularly high levels of extinction.

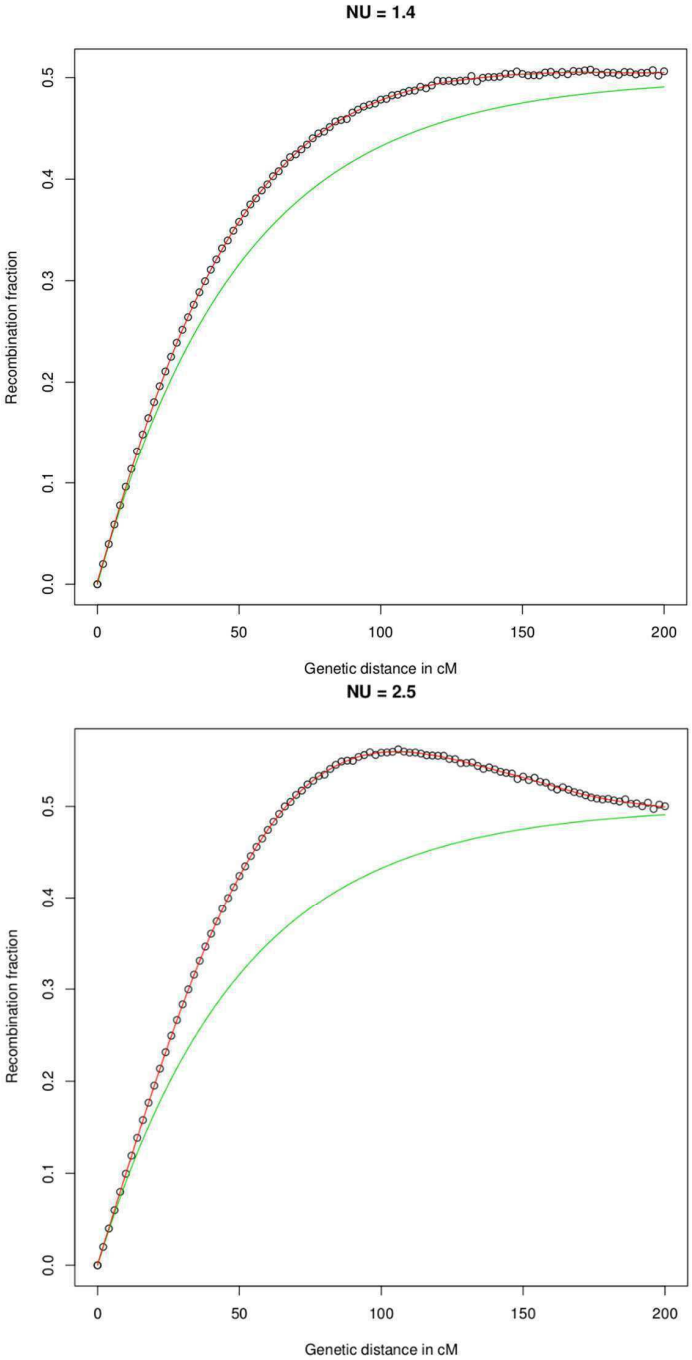


Figure S3: Examples of relationship between genetic distance (mean number of crossovers per meiosis in the considered interval multiplied by 100, expressed in centiMorgans) and recombination fraction between two markers for moderate (ν = 1.4; left panel) or strong (ν = 2.5; right panel) positive interference (see Supp Methods). Dots and interpolating red curve: simulated values. Green curve: theoretical expectation in the absence of interference (Haldane mapping function)

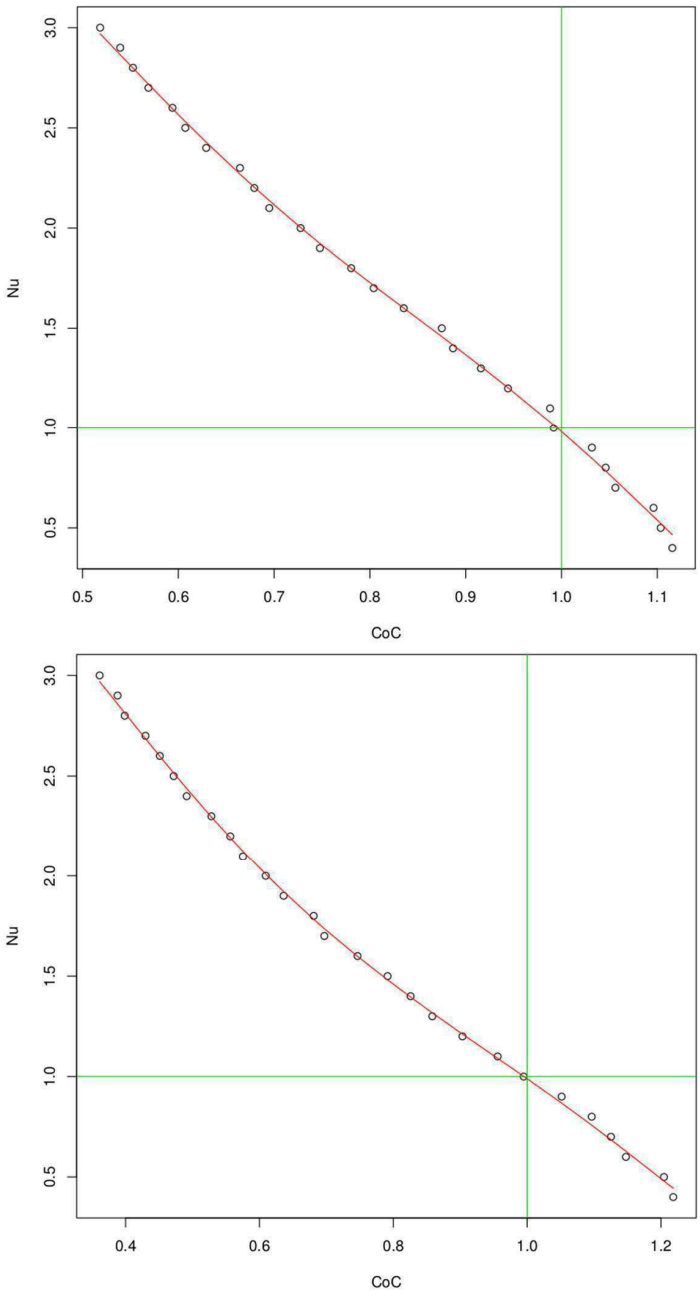
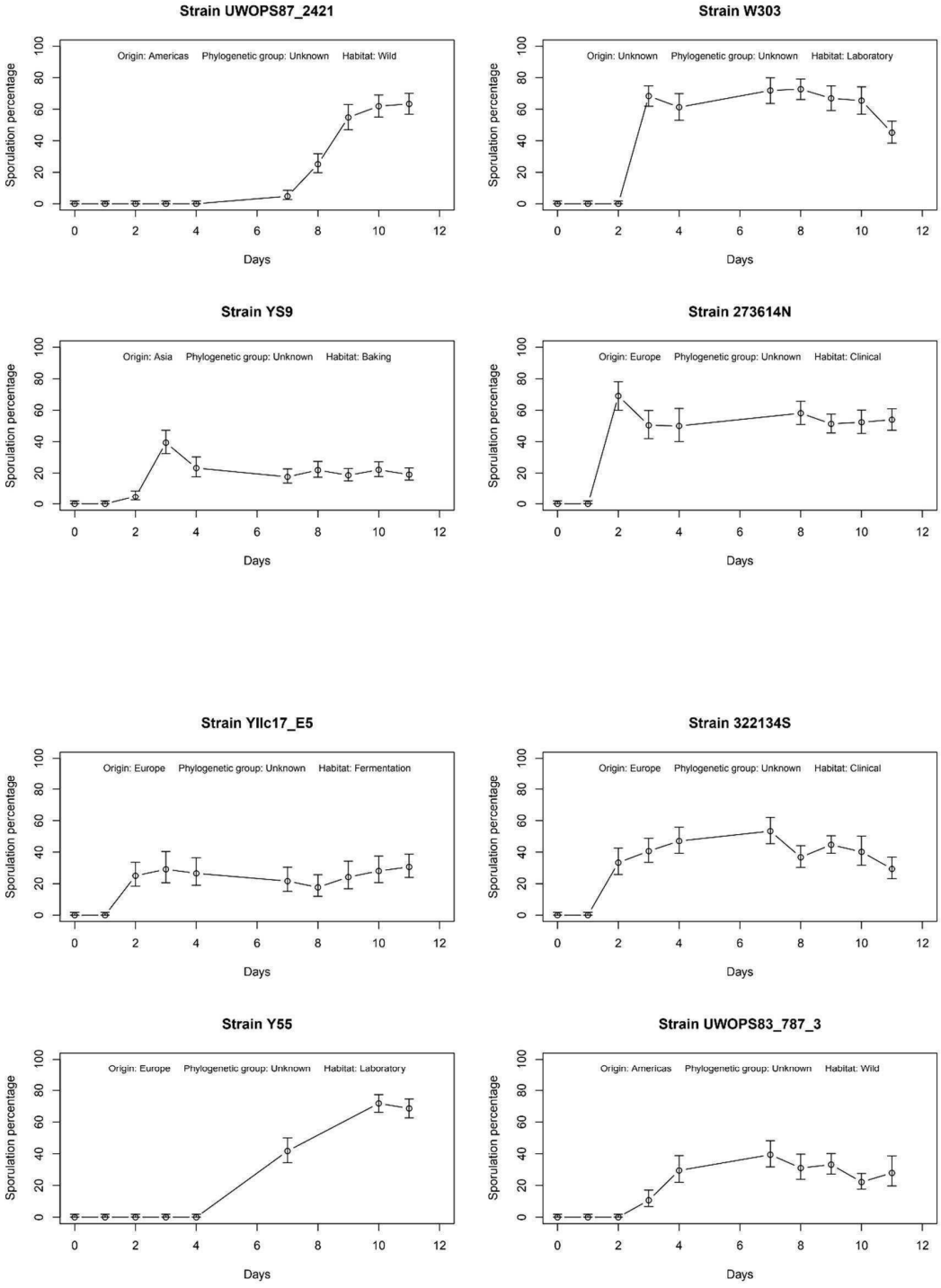
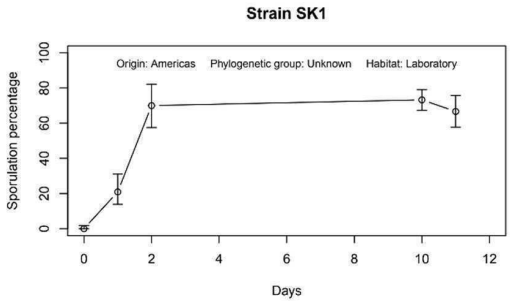
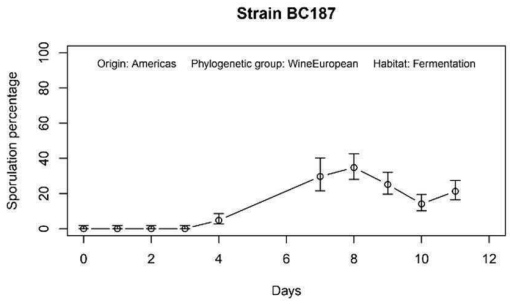


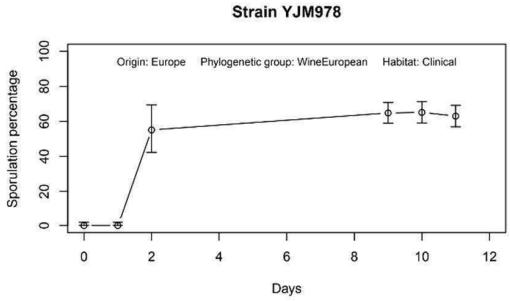
Figure S4: Examples of the relationship between Coefficient of Coincidence (CoC) and interference strength measured by the parameter ν of the gamma model (Nu) in the case of SK1 strain and tester VI-C1Y2R3 (left panel), or YPS128 strain and tester XI-R8Y9C10 (right panel). Dots and interpolating red curve: simulated values. Scatter of dots is due statistical errors in the simulations. Green lines indicate the case without interference, where CoC and ν are equal to one.

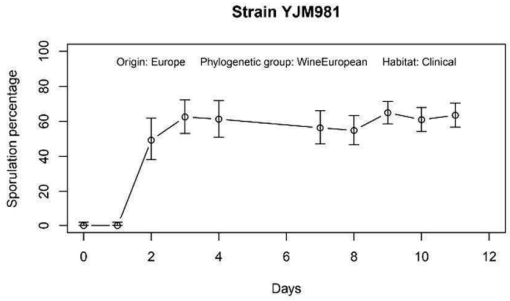
Figure S5: Sporulation kinetics for all strains

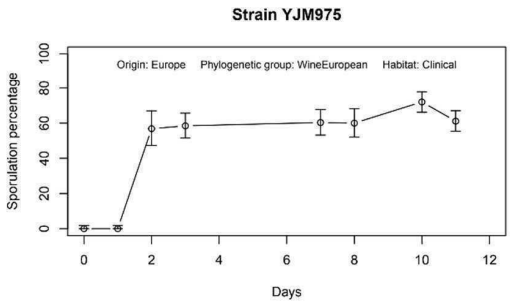


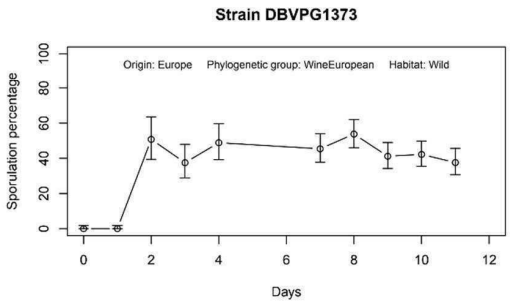

Strain SK1
Origin: Americas Phylogenetic group: Unknown Habitat: Laboratory
Sporulation percentage
Days

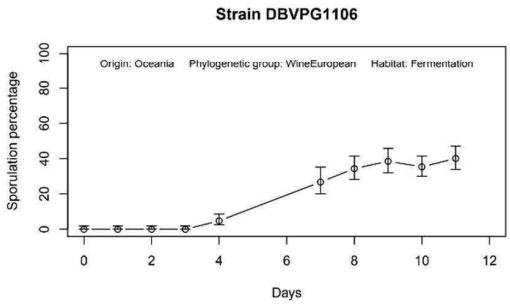

Strain BC187
Origin: Americas Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Fermentation
Sporulation percentage
Days

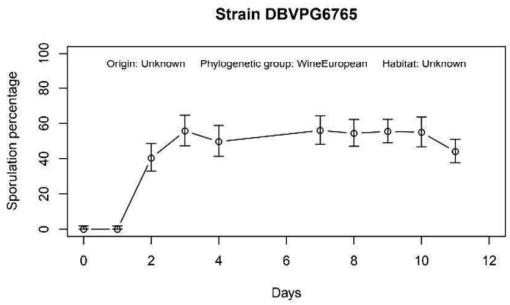

Strain YJM978
Origin: Europe Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Clinical
Sporulation percentage
Days

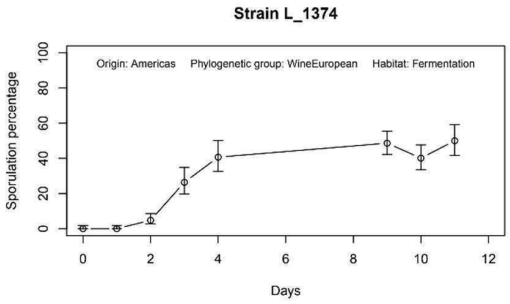

Strain YJM981
Origin: Europe Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Clinical
Sporulation percentage
Days

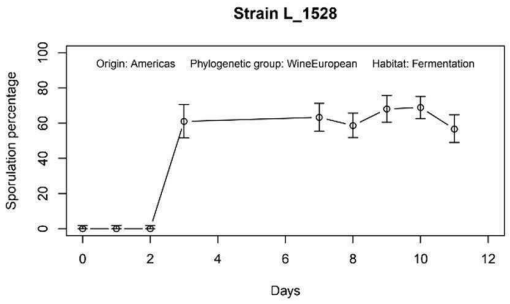

Strain YJM975
Origin: Europe Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Clinical
Sporulation percentage
Days

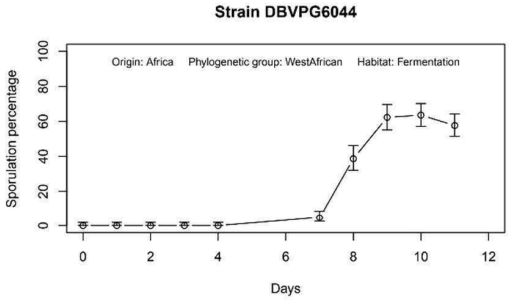

Strain DBVPG1373
Origin: Europe Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Wild
Sporulation percentage
Days

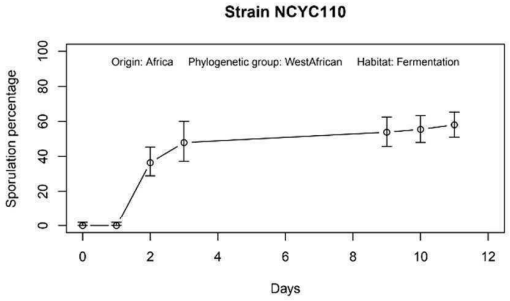

Strain DBVPG1106
Origin: Oceania Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Fermentation
Sporulation percentage
Days

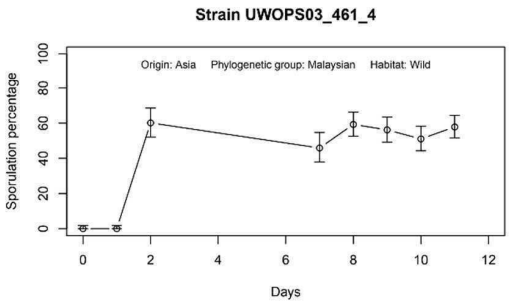

Strain DBVPG6765
Origin: Unknown Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Unknown
Sporulation percentage
Days

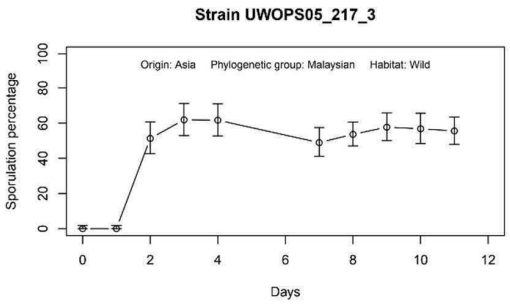

Strain L_1374
Origin: Americas Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Fermentation
Sporulation percentage
Days

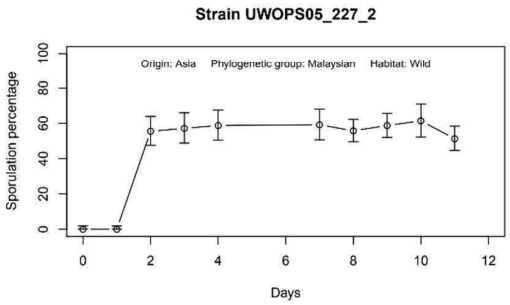

Strain L_1528
Origin: Americas Phylogenetic group: WineEuropean Habitat: Fermentation
Sporulation percentage
Days

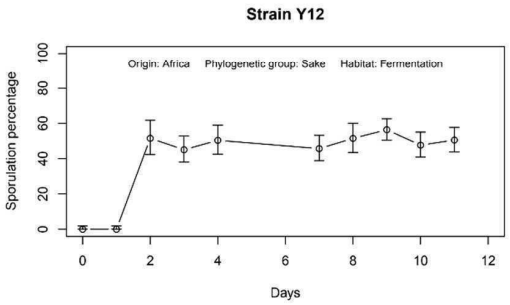

Strain DBVPG6044
Origin: Africa Phylogenetic group: WestAfrican Habitat: Fermentation
Sporulation percentage
Days

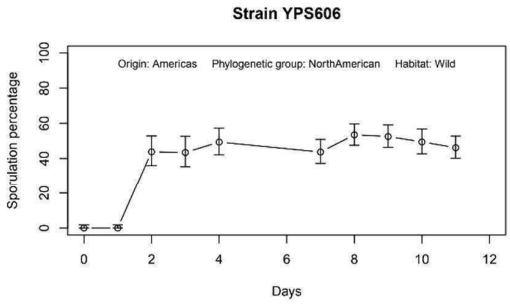

Strain NCYC110
Origin: Africa Phylogenetic group: WestAfrican Habitat: Fermentation
Sporulation percentage
Days

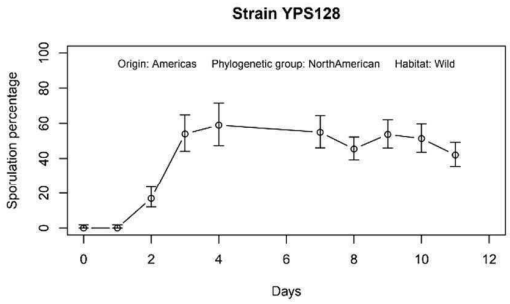

Strain UWOPS03_461_4
Origin: Asia Phylogenetic group: Malaysian Habitat: Wild
Sporulation percentage
Days


Strain UWOPS05_217_3
Origin: Asia Phylogenetic group: Malaysian Habitat: Wild
Sporulation percentage
Days

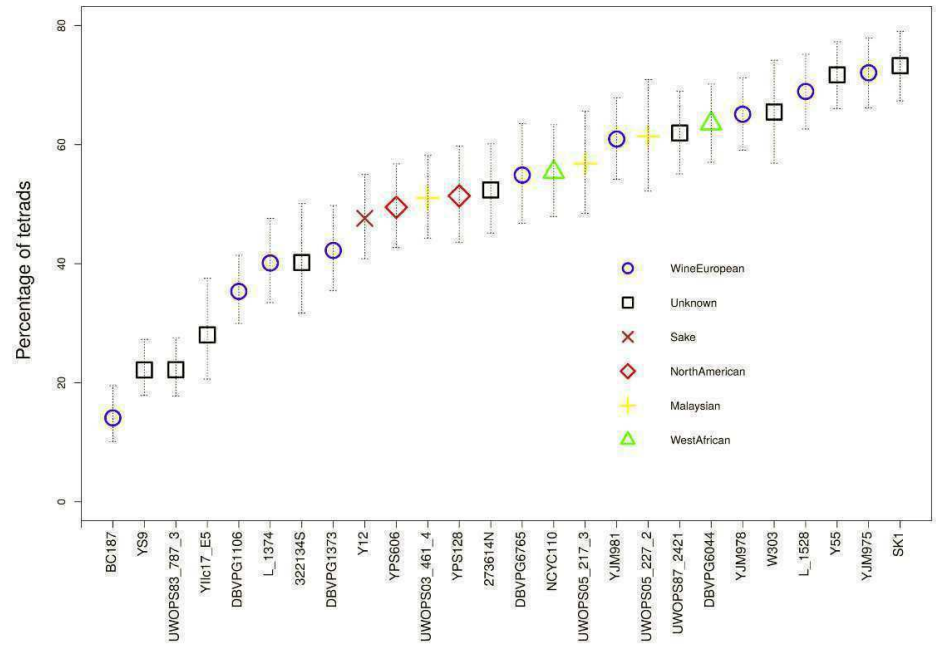

Strain UWOPS05_227_2
Origin: Asia Phylogenetic group: Malaysian Habitat: Wild
Sporulation percentage
Days


Strain Y12
Origin: Africa Phylogenetic group: Sake Habitat: Fermentation
Sporulation percentage
Days


Strain YPS606
Origin: Americas Phylogenetic group: NorthAmerican Habitat: Wild
Sporulation percentage
0
20
40
60
80
100
0
2
4
6
8
10
12
Days


Strain YPS128
Origin: Americas Phylogenetic group: NorthAmerican Habitat: Wild
Sporulation percentage
0
20
40
60
80
100
0
2
4
6
8
10
12
Days

A



B

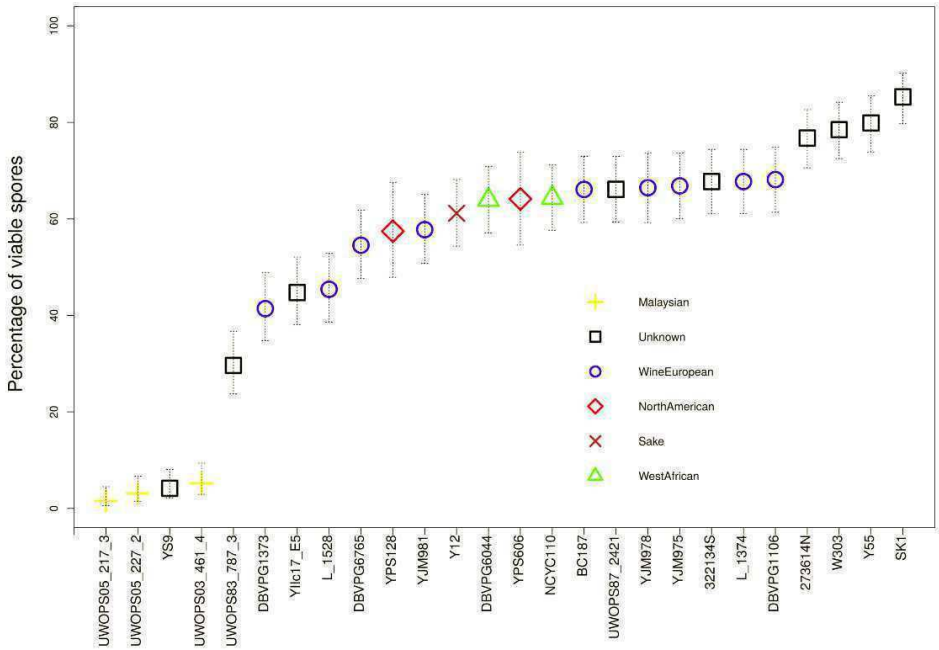
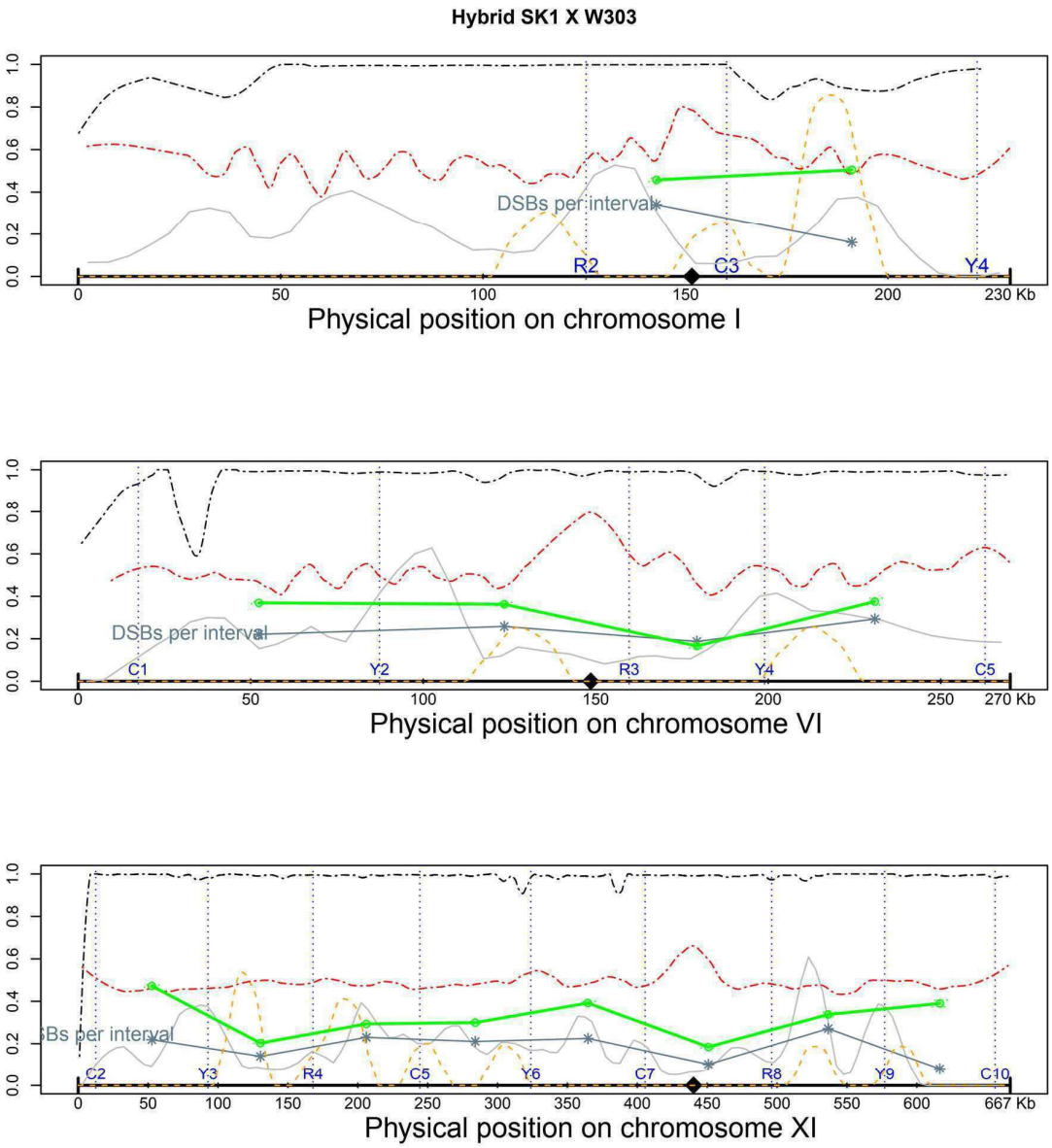
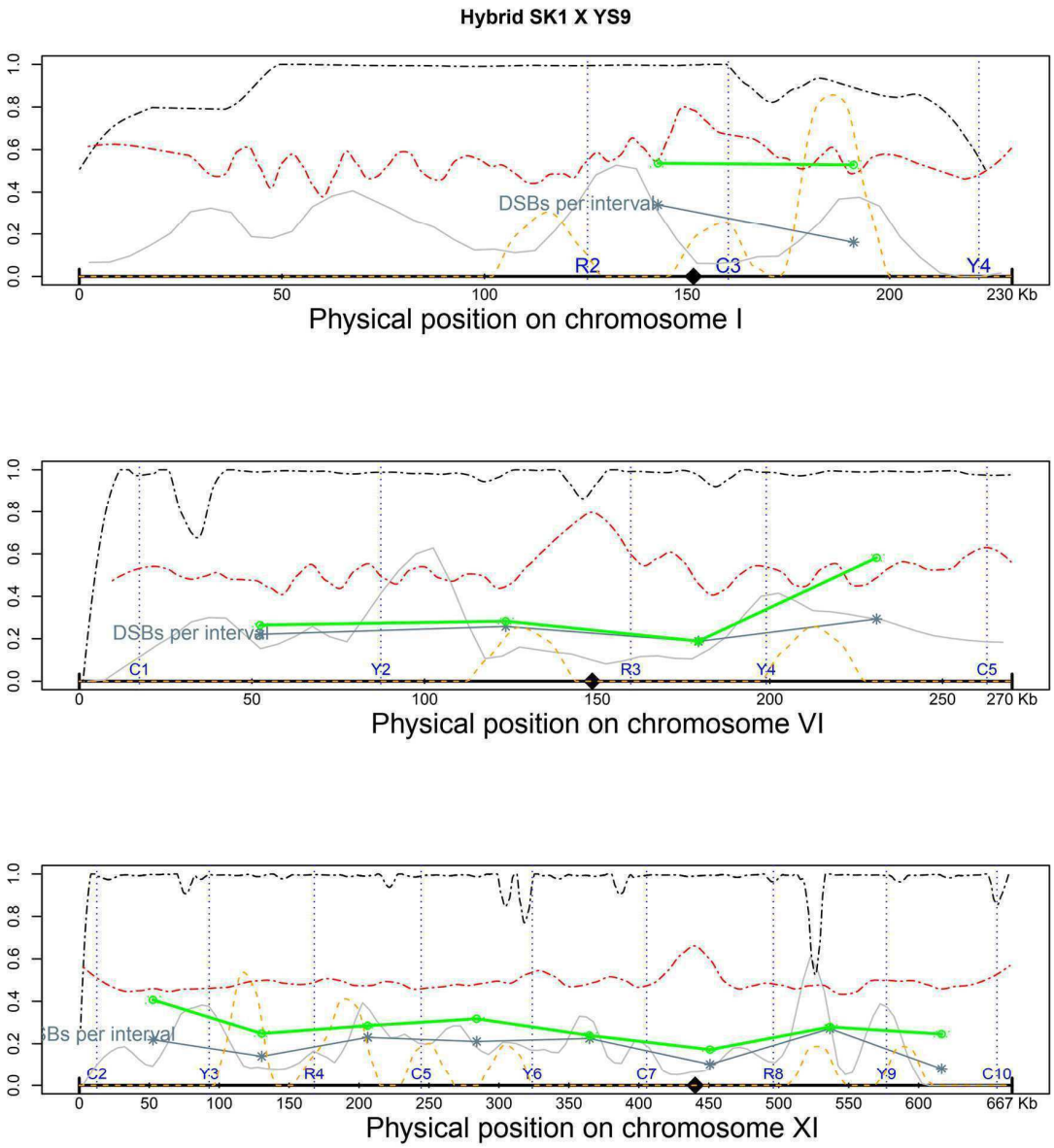
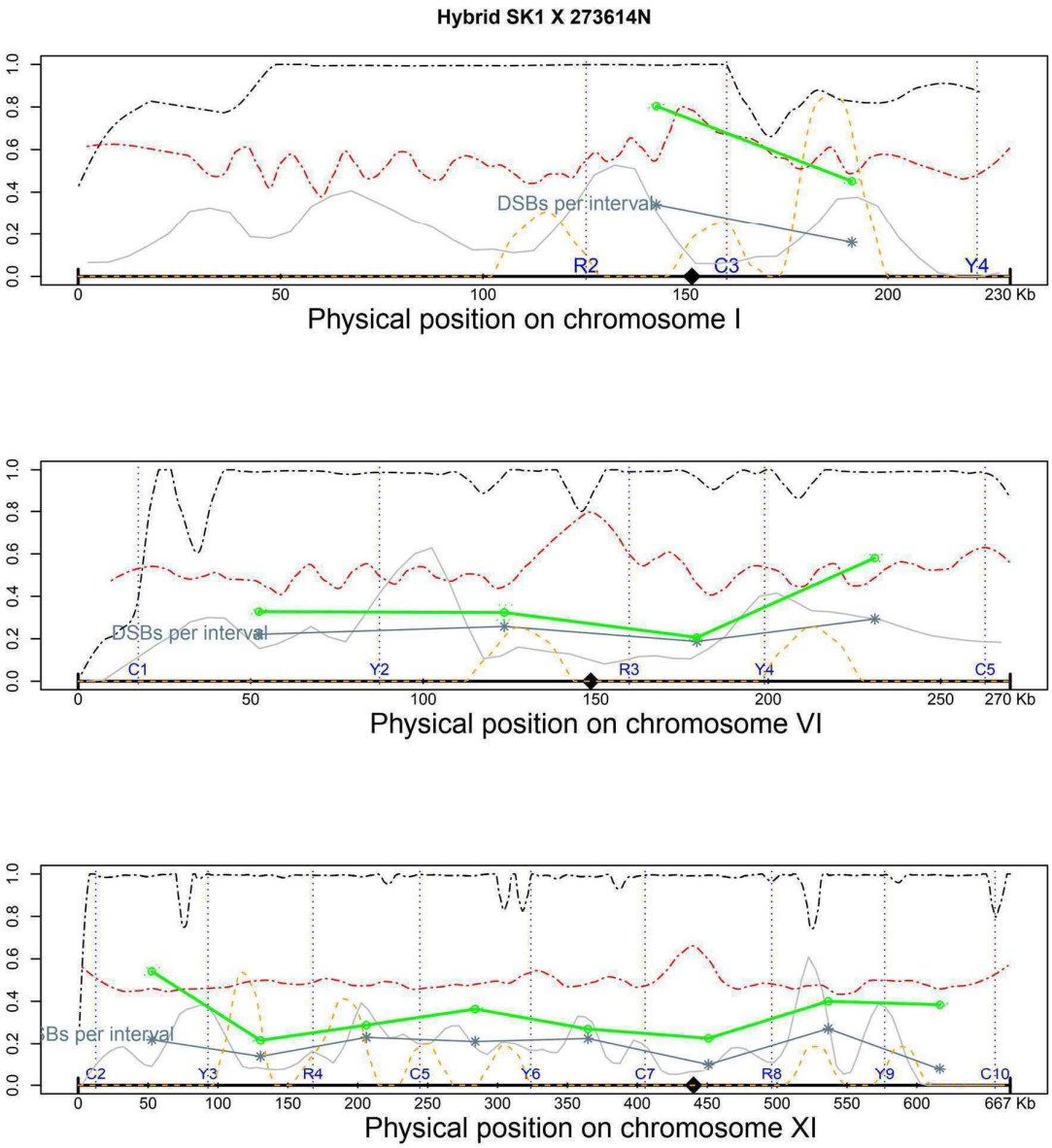


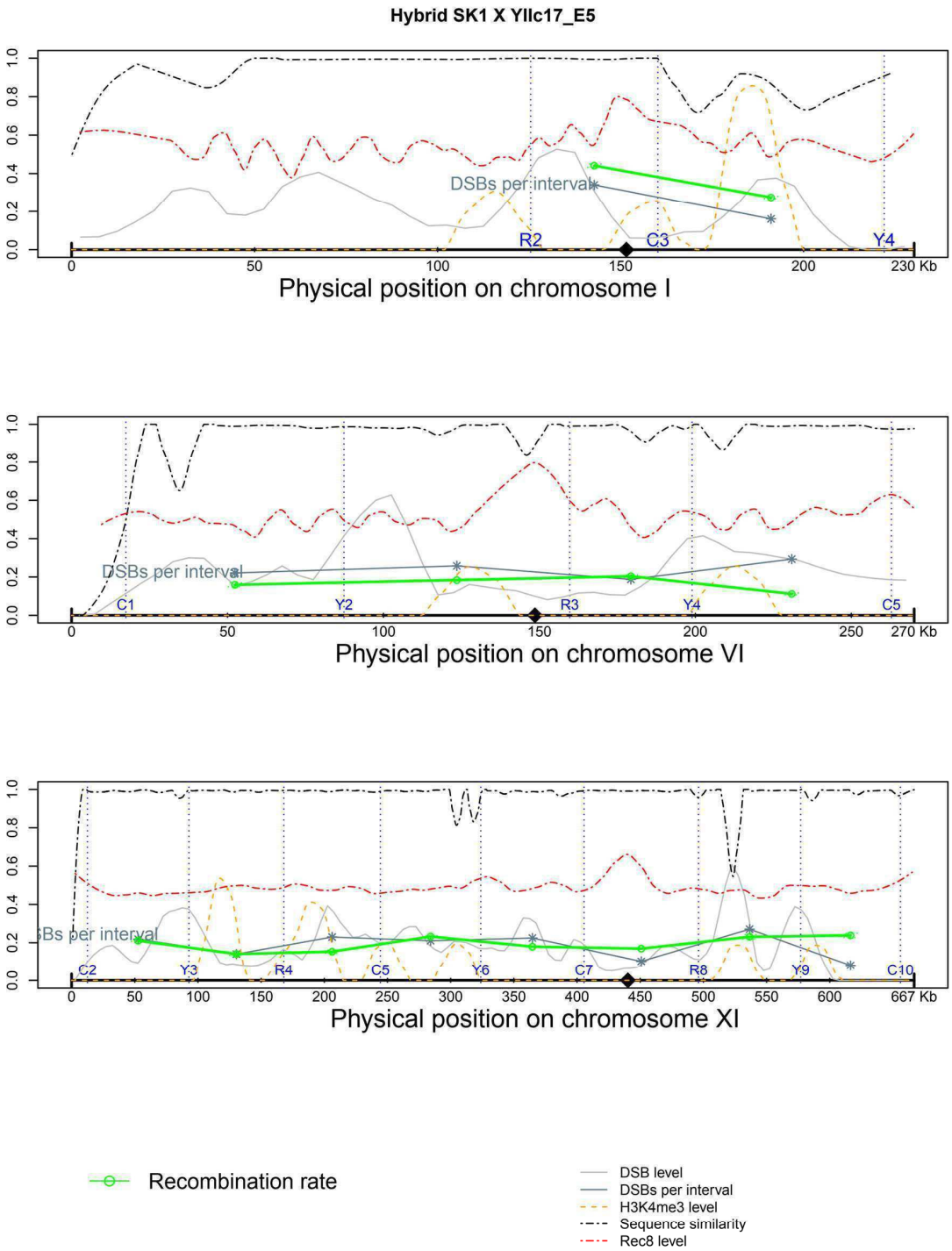
Figure S6: Sporulation and spore viability rates. X-axis: Names of the strains crossed with tester SK1-XI-R1C2Y3 to obtain the hybrid. Bars indicate 95% confidence intervals based on binomial law. Panel A: Percentage of tetrads after 10 days for the 26 hybrids. Panel B: Percentage of viable spores. Colors refer to the phylogenetic groups of the parental strains

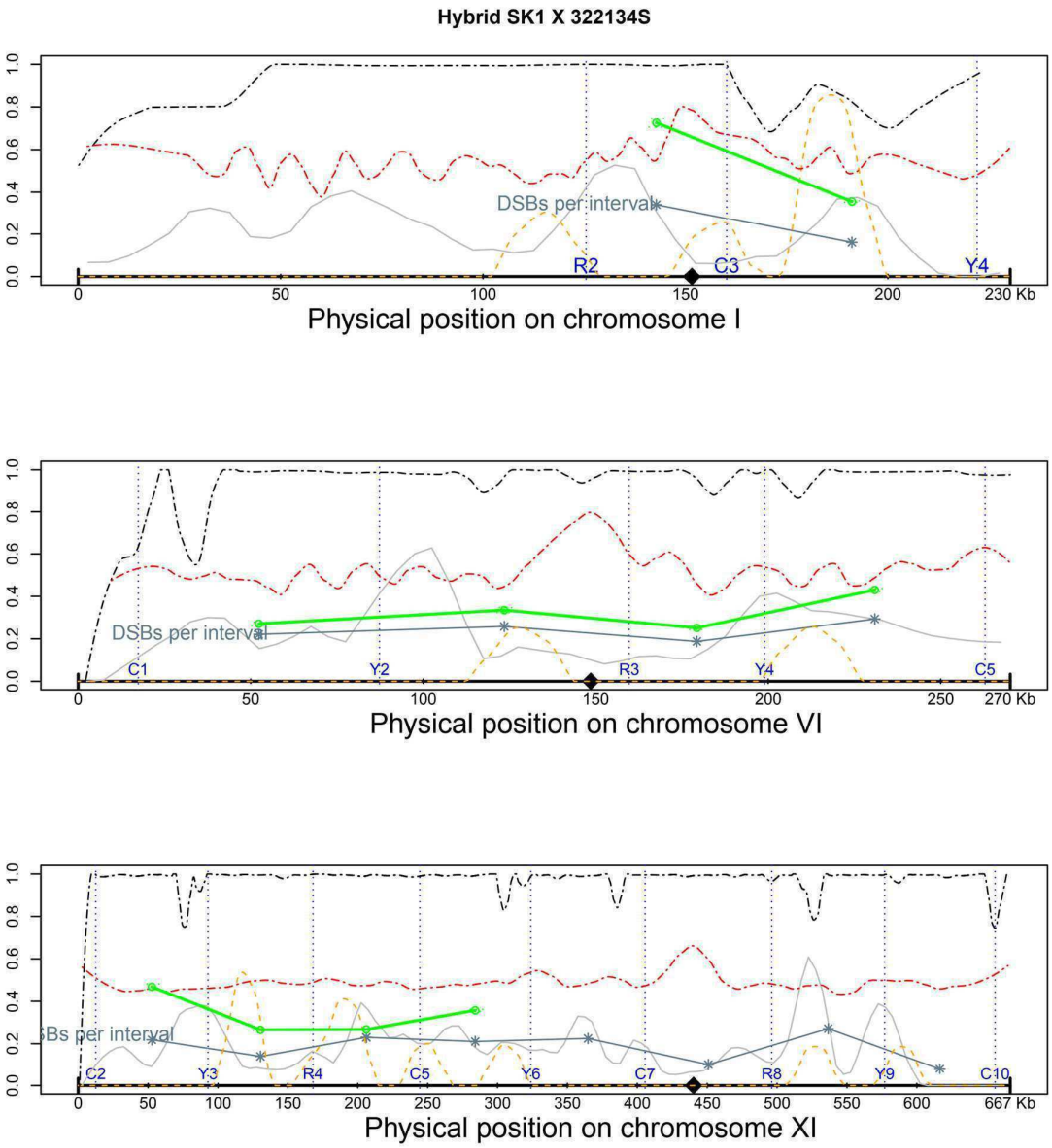
Figure S7: Recombination rates in cM/kbp along chromosomes for hybrids between SK1 and each of the 22 strains of the study (one page per strain). Error bars indicate 95% confidence intervals based on four biological replicates. X-axis: physical position along chromosome I (upper panel), VI (middle panel) or XI (lower panel). Also shown: (1) DSBs per interval: average frequency of double strand breaks per base (Pan *et al.* 2011) between markers, (2) DSB level: average number of DSBs per 5kb window smoothed using "loess" , (3) H3K4Me3 level: arbitrary units based on (Liu *et al.* 2005) and smoothed using "loess", (4) Rec 8 level: arbitrary units based on (Sun *et al.* 2015) and smoothed using "loess", and (5) Sequence similarity: proportion of identical bases between homologs (see Materials and Methods) smoothed using "loess". Vertical blue dashed lines indicate the positions of fluorescent markers. Diamonds at the bottom show centromere positions.

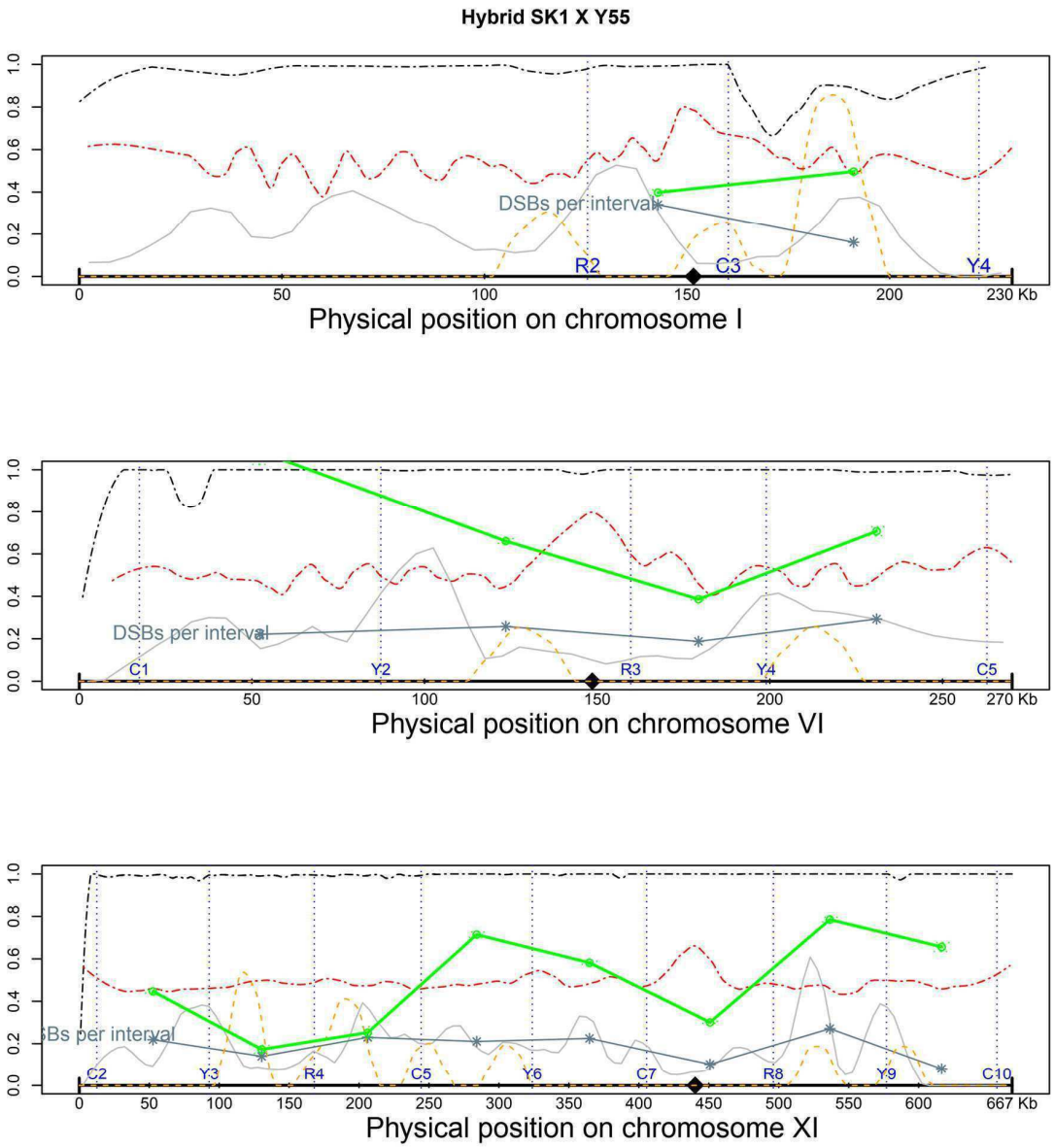

Hybrid SK1 X W303
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

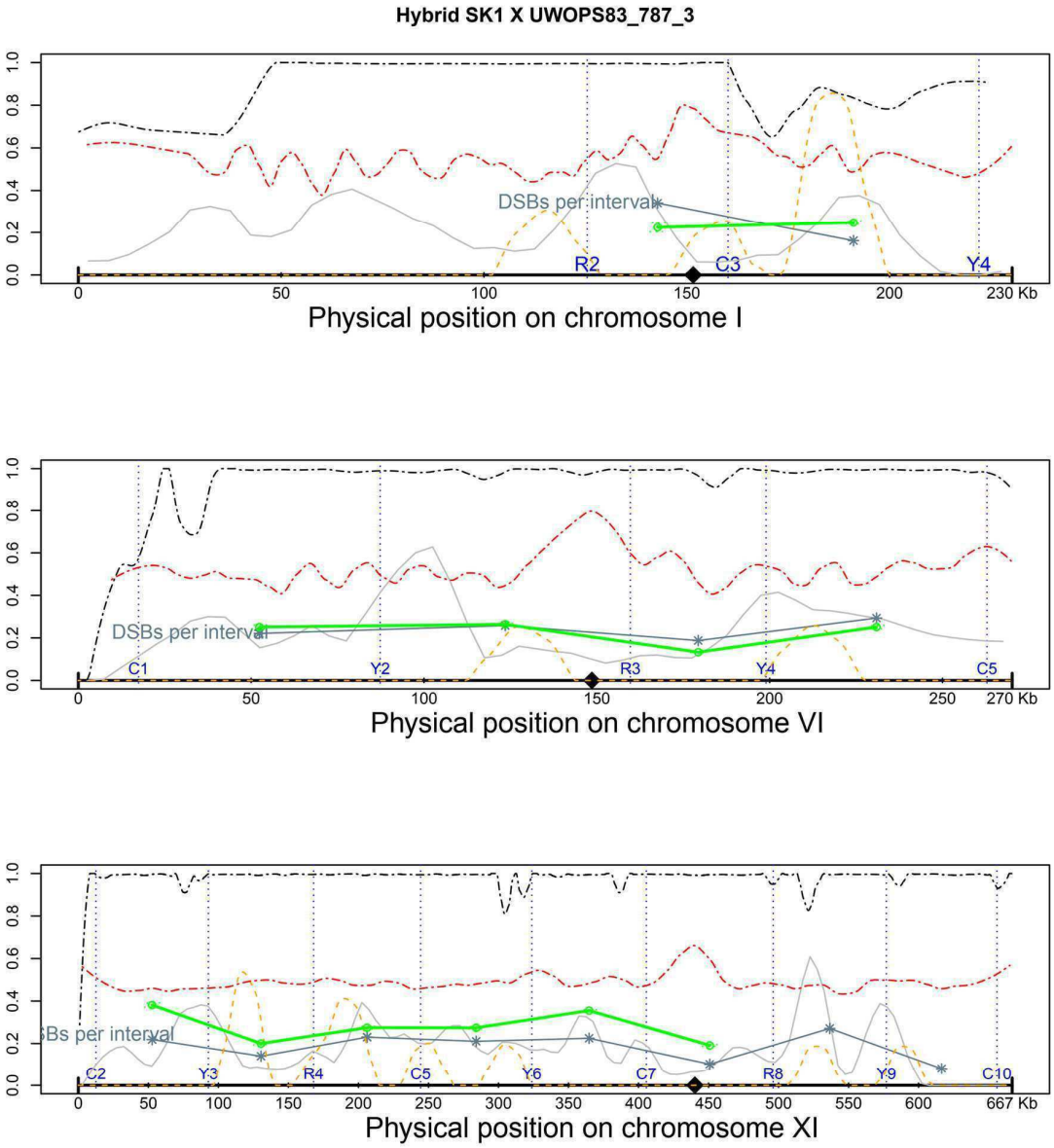

Hybrid SK1 X YS9
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

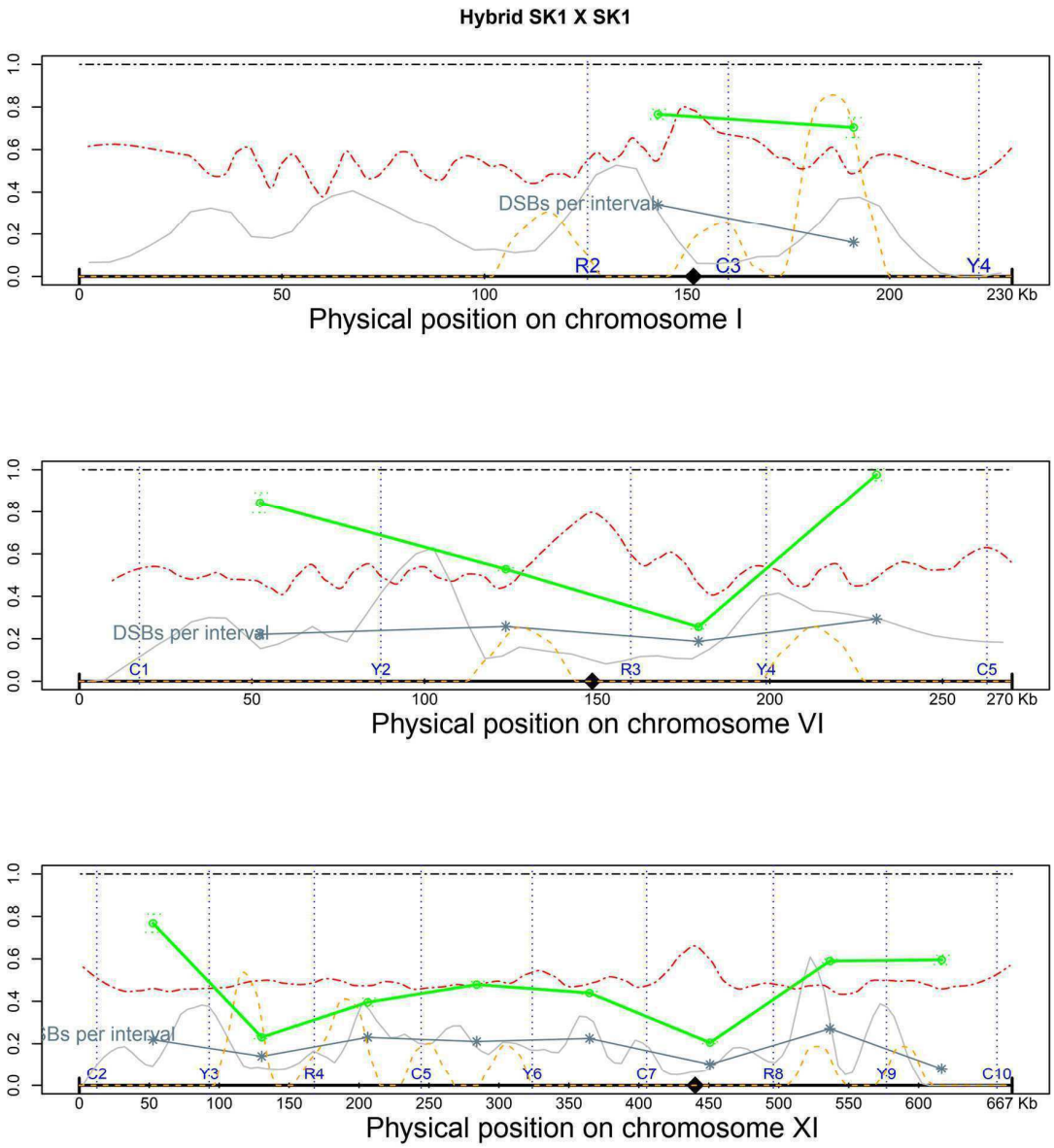

Hybrid SK1 X 273614N
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

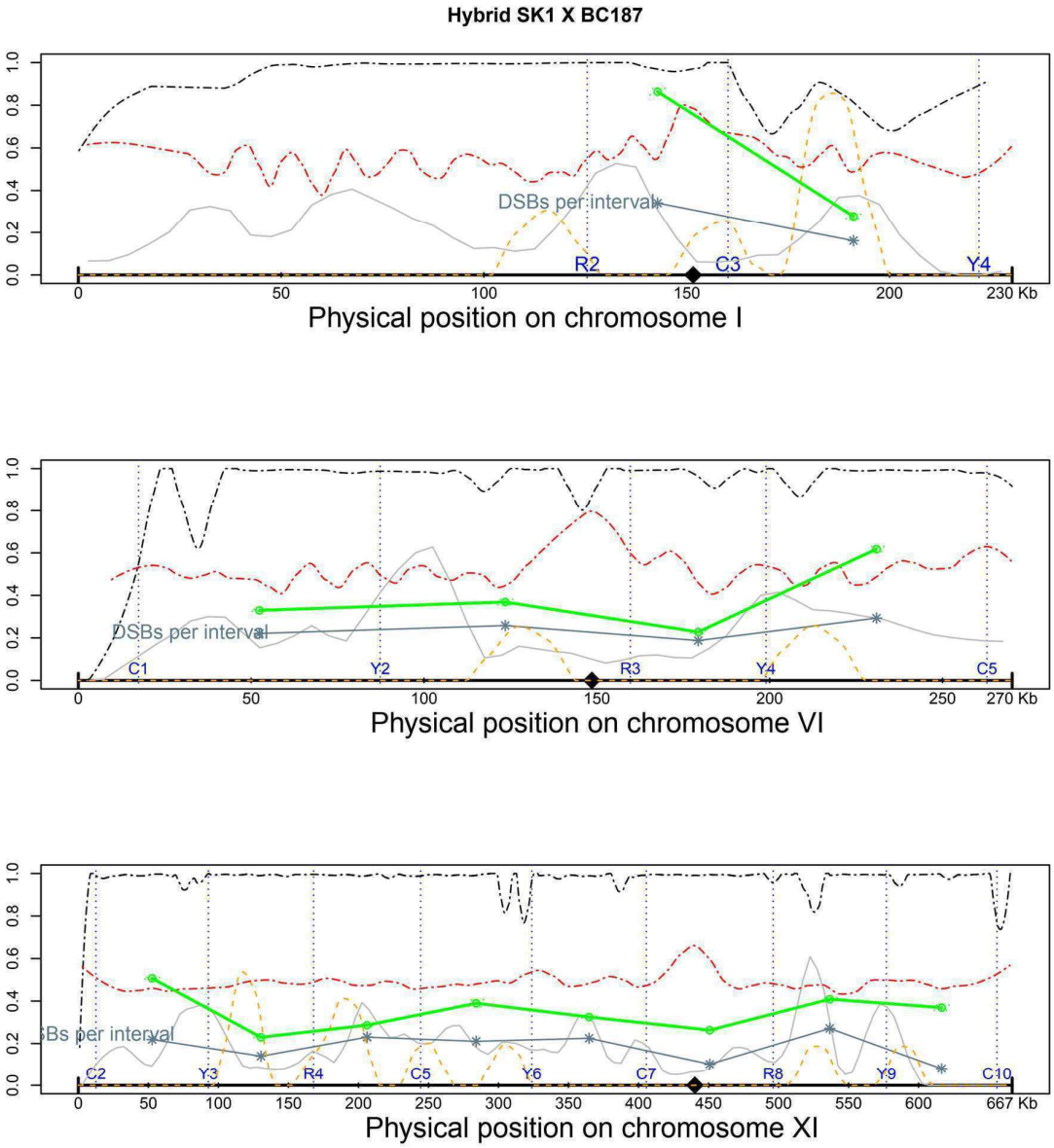

Hybrid SK1 X YIIc17_E5
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

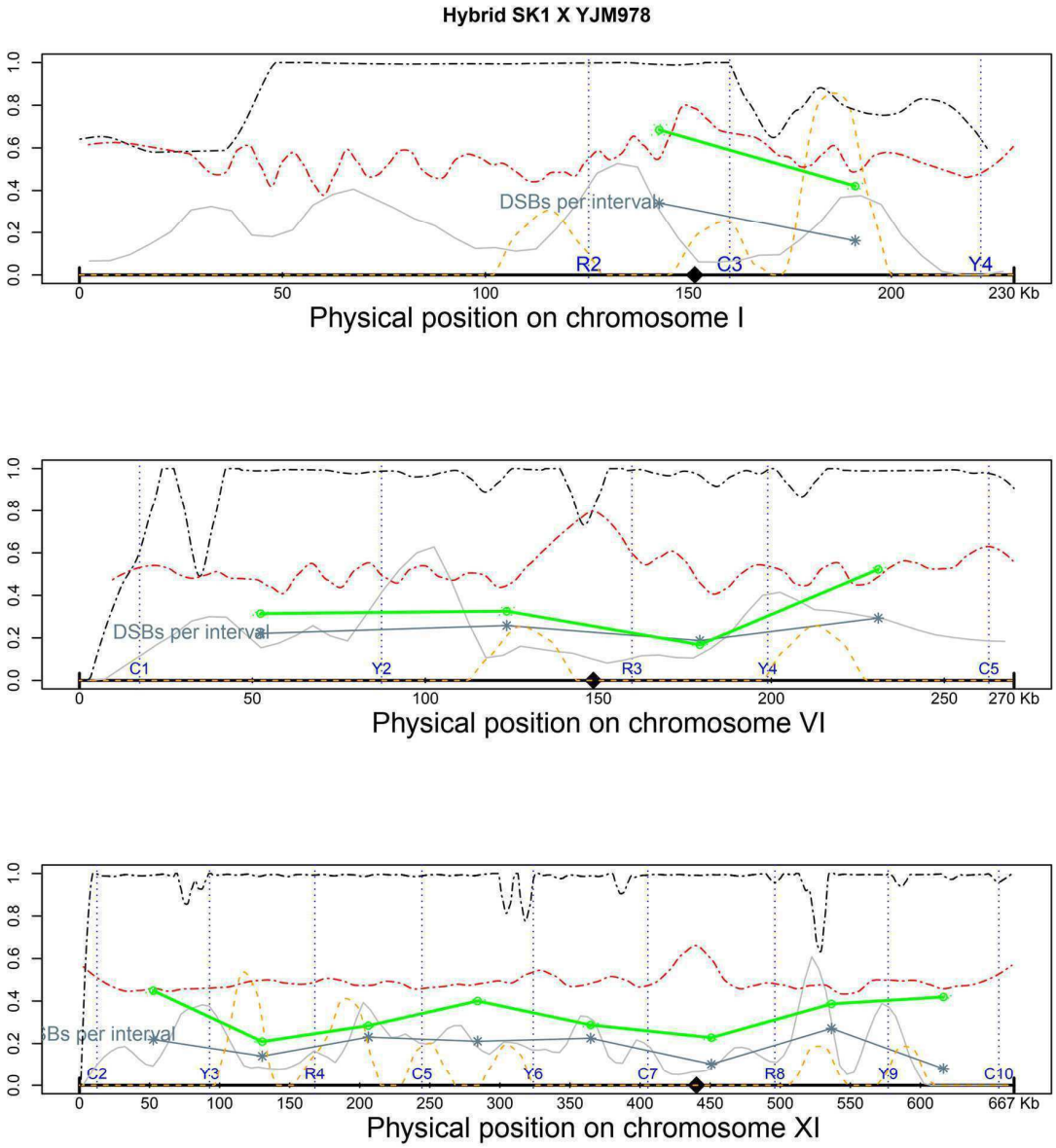

Hybrid SK1 X 322134S
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

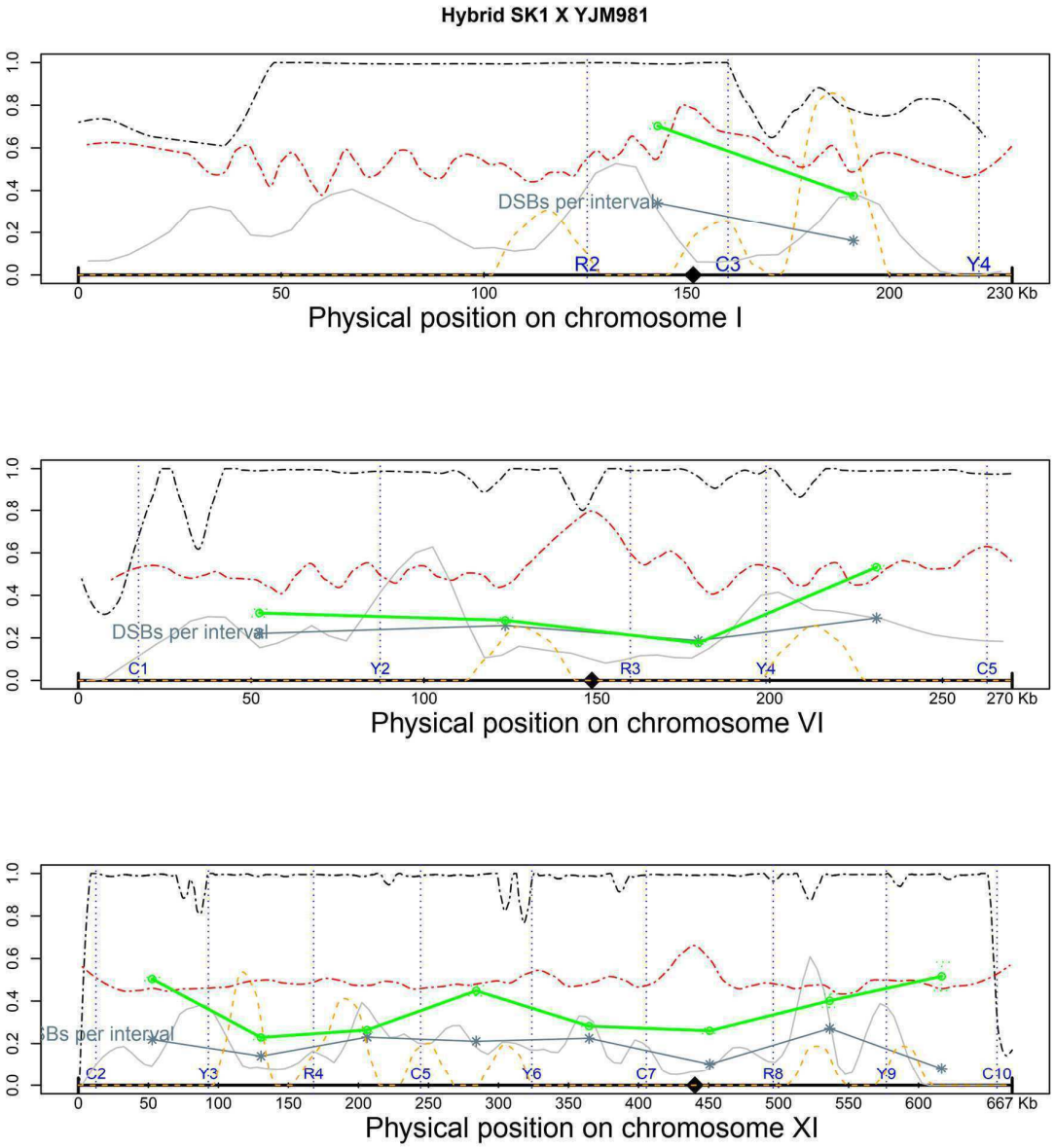

Hybrid SK1 X Y55
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

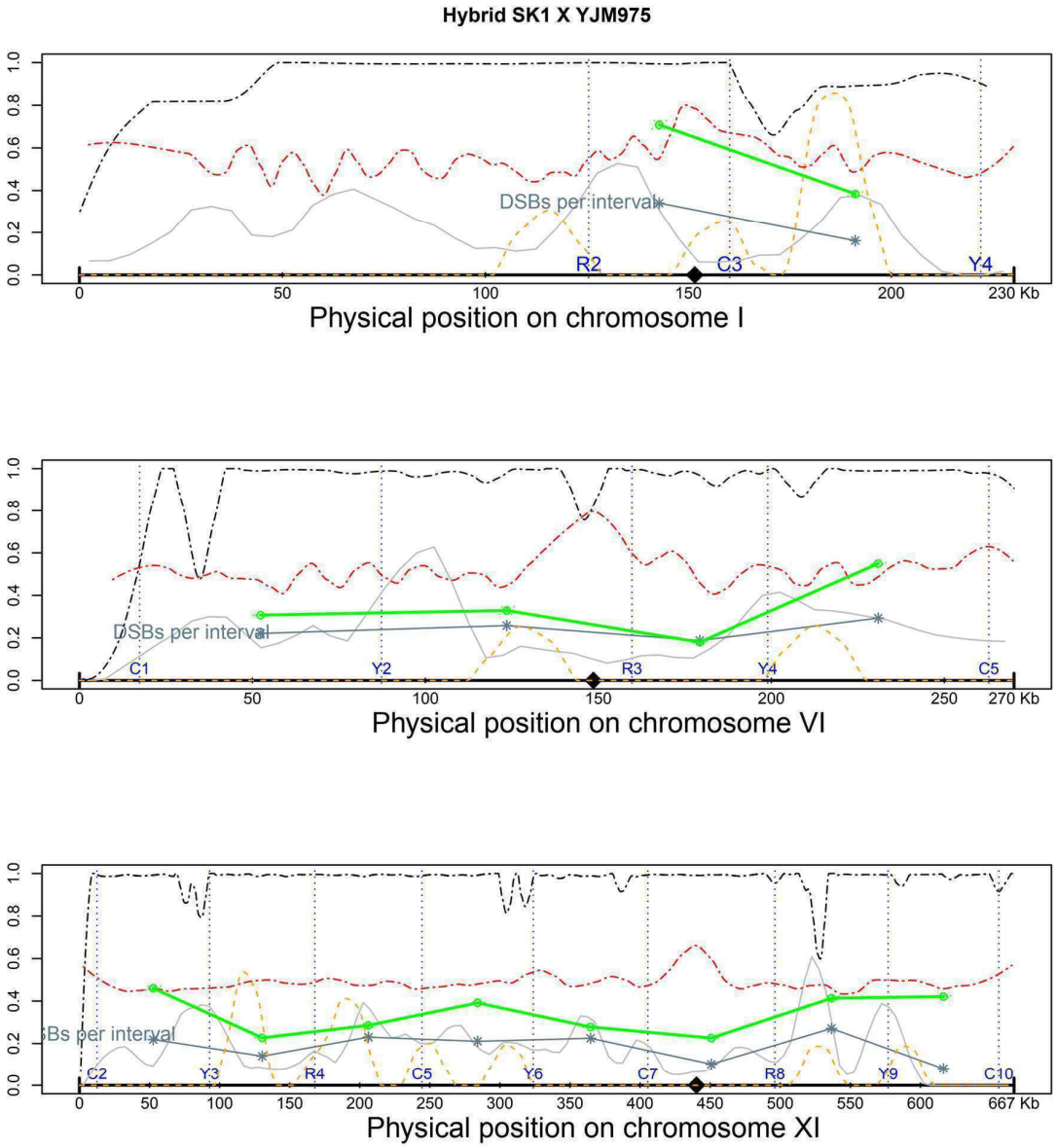

Hybrid SK1 X UWOPS83_787_3
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

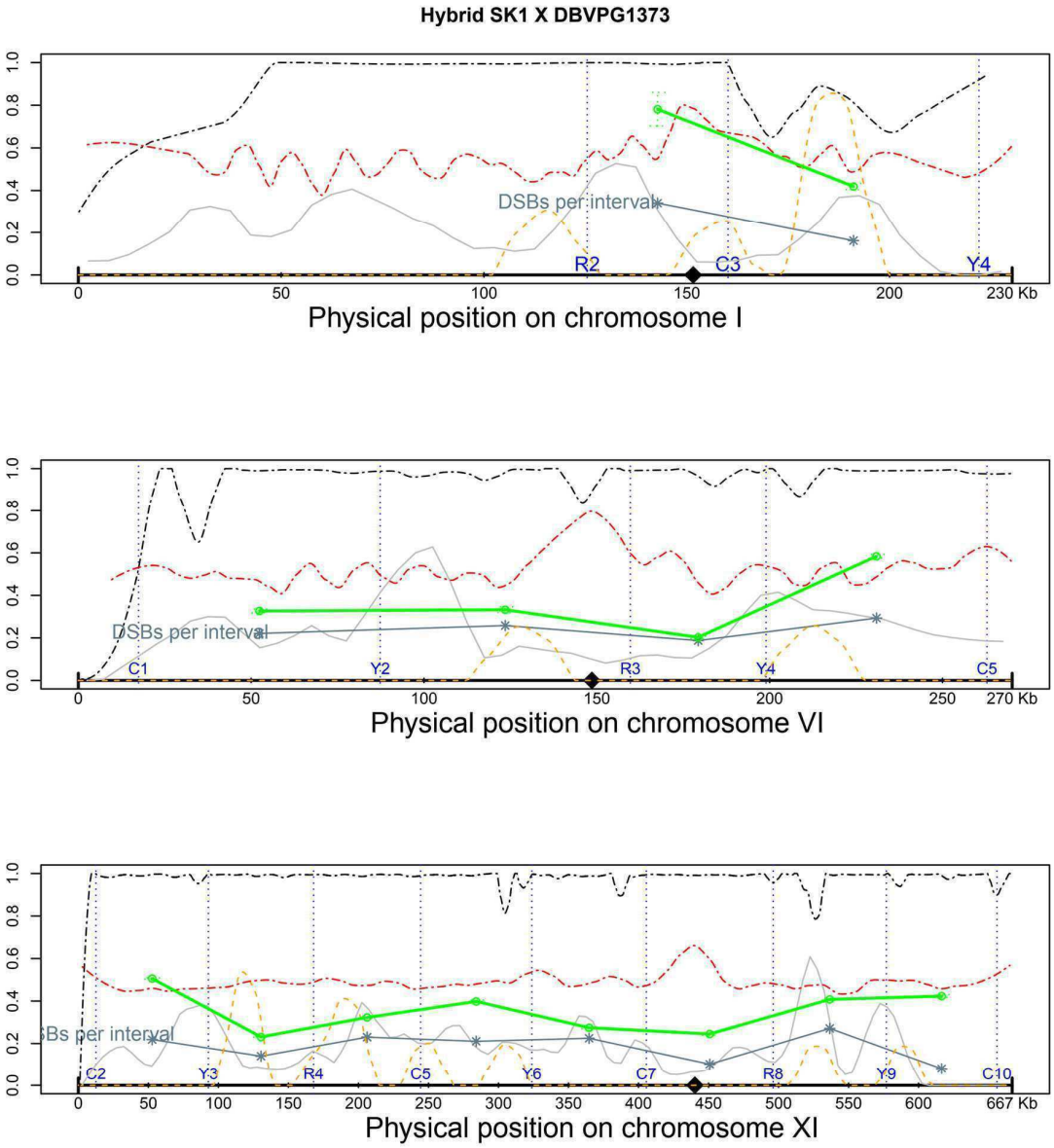

Hybrid SK1 X SK1
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

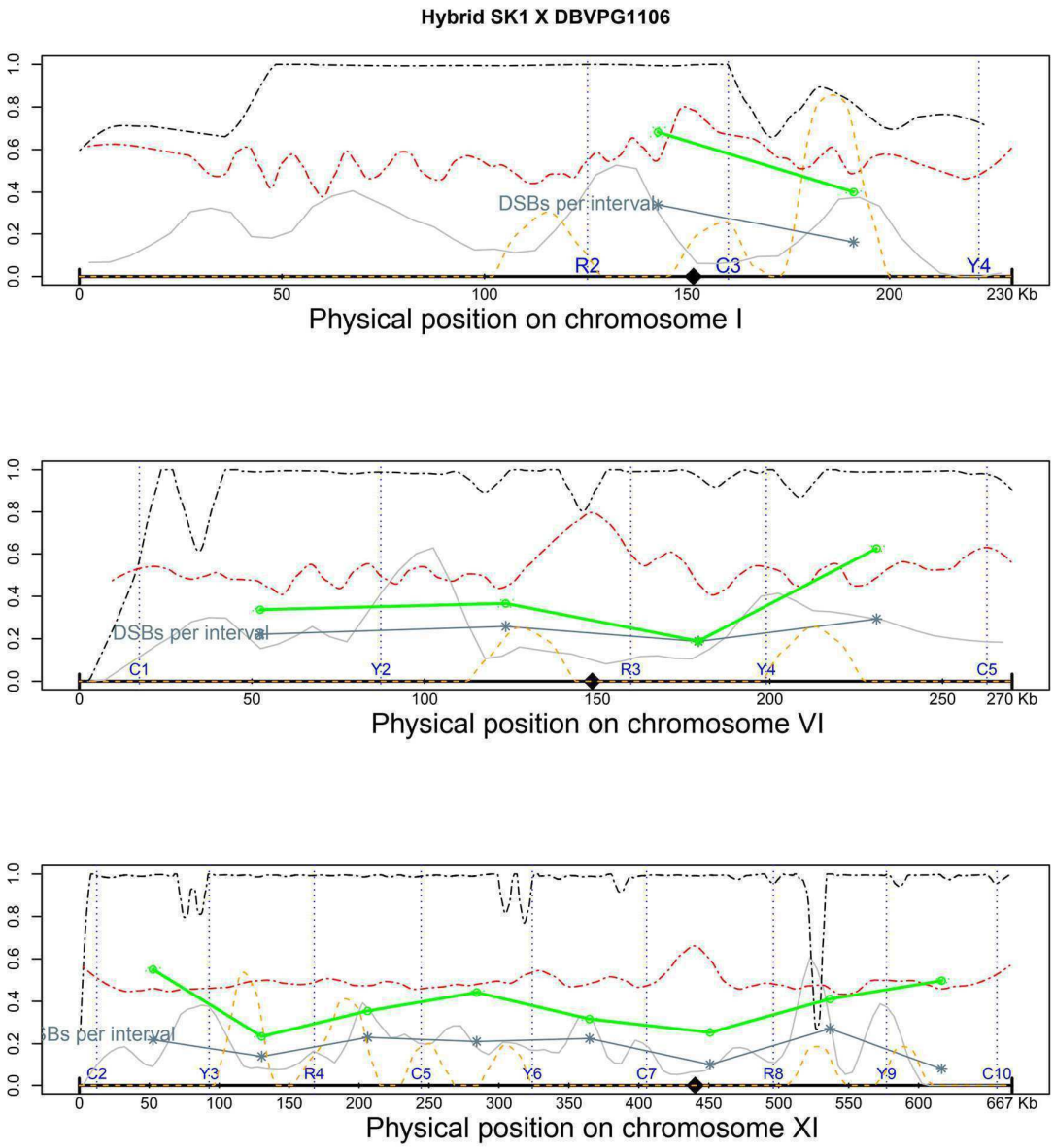

Hybrid SK1 X BC187
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

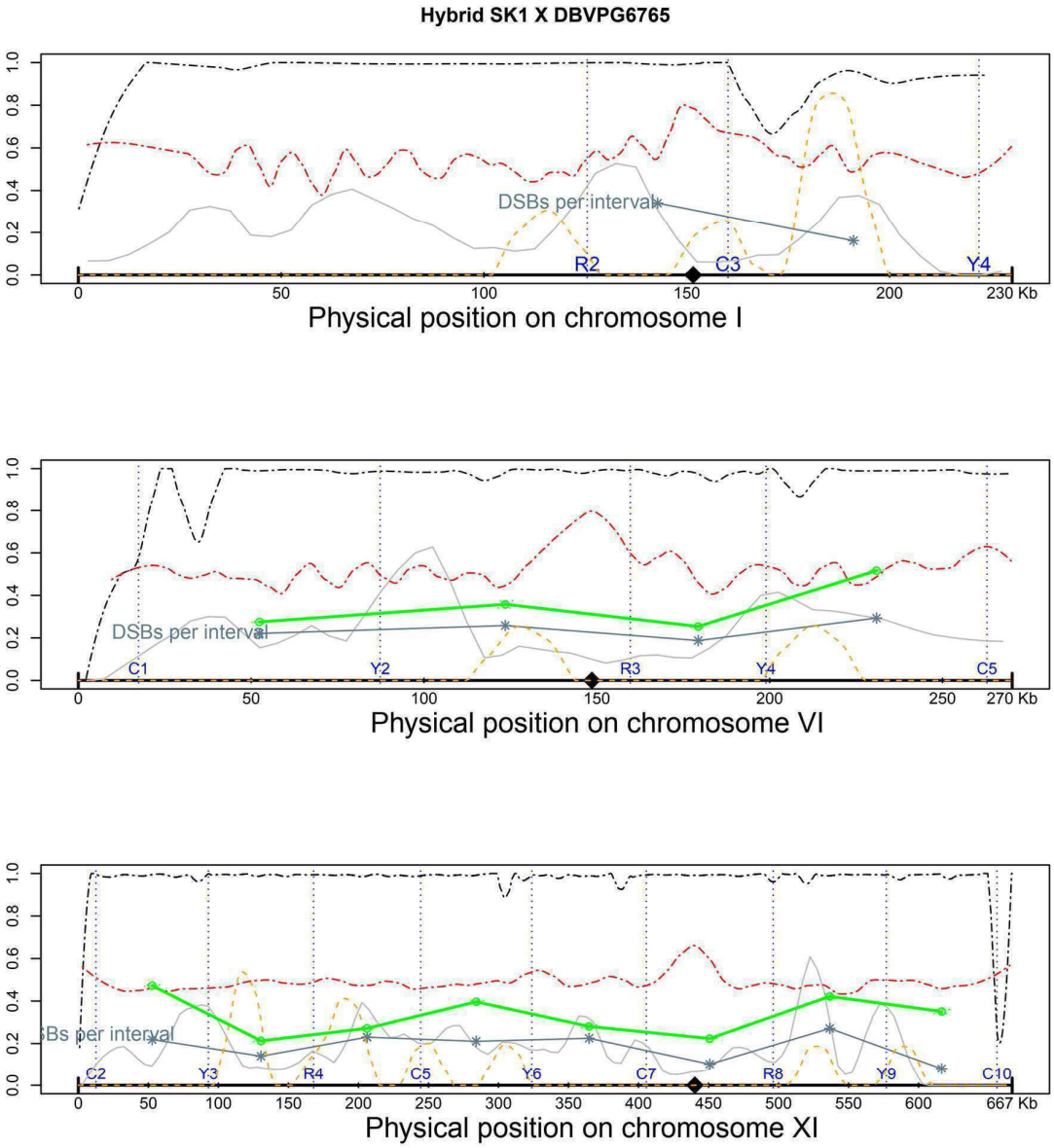

Hybrid SK1 X YJM978
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
Bs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

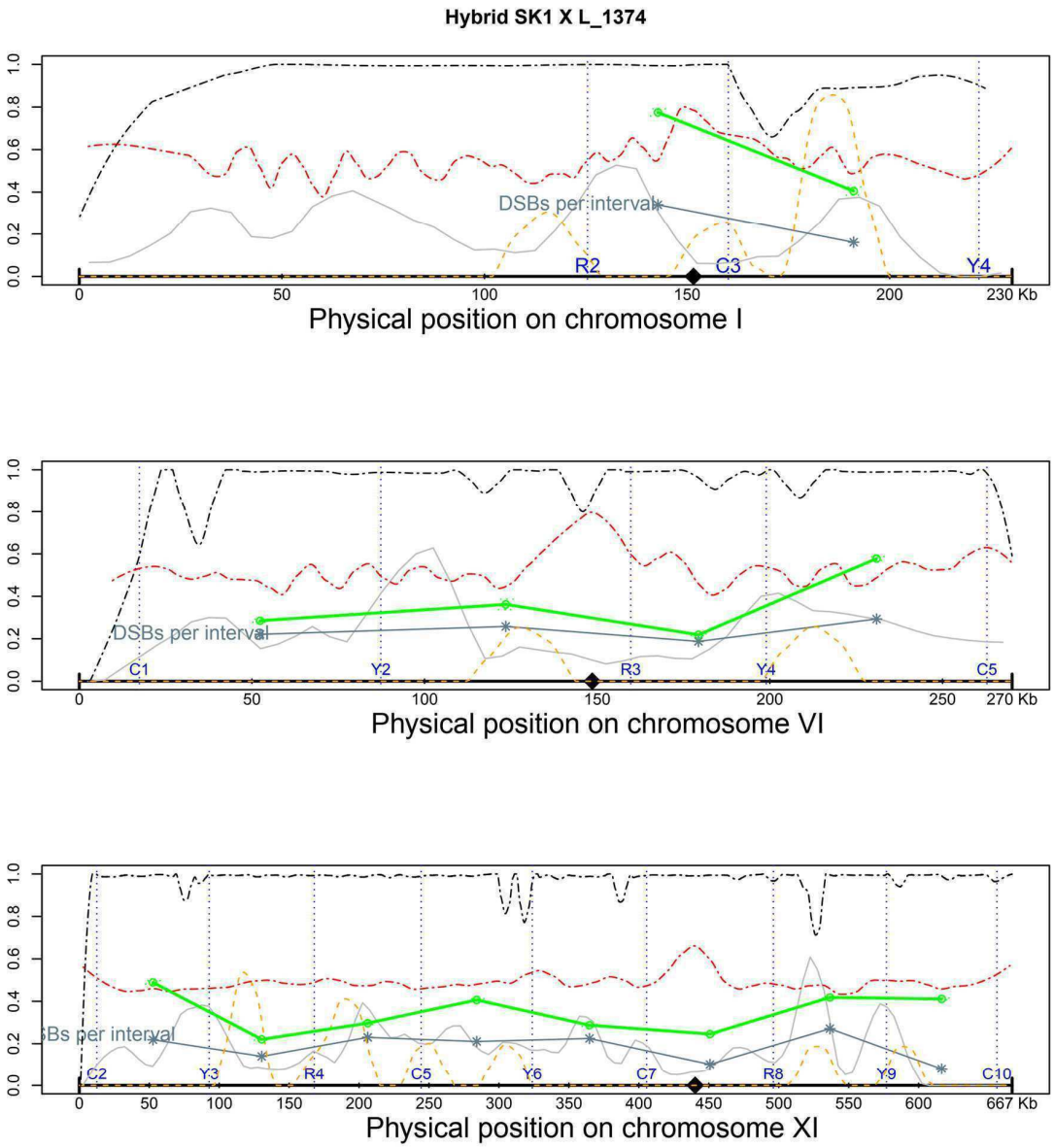

Hybrid SK1 X YJM981
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

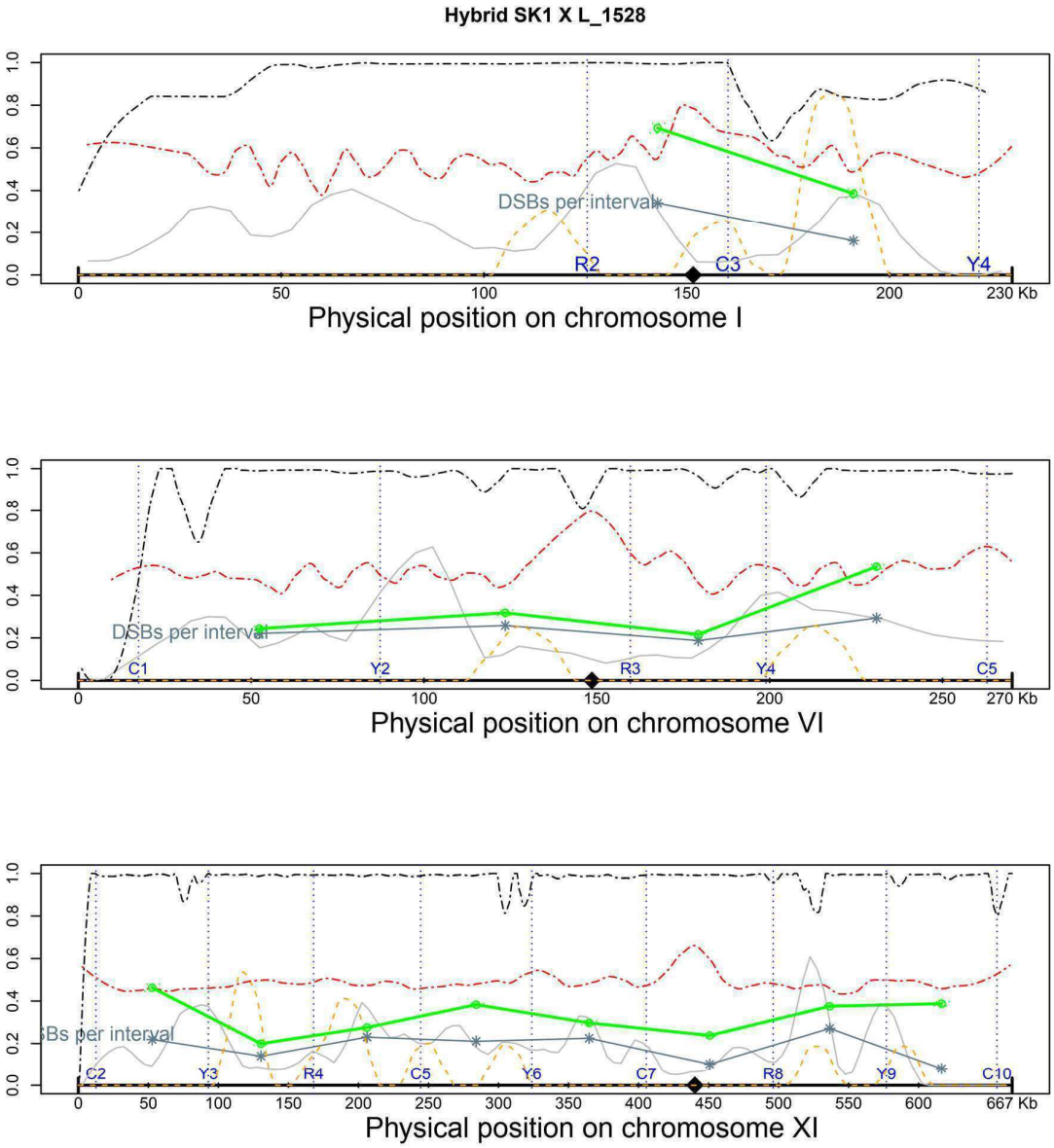

Hybrid SK1 X YJM975
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

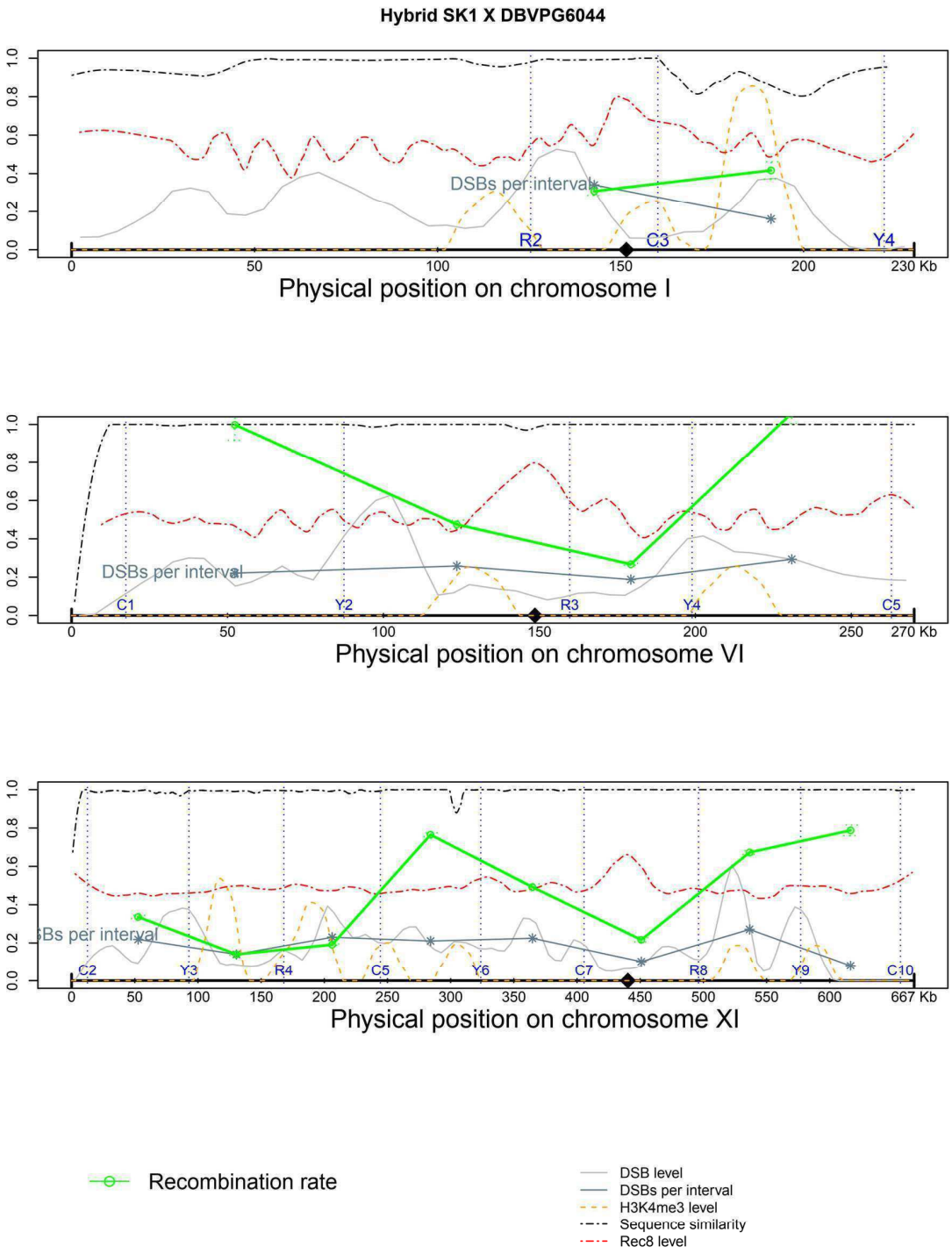

Hybrid SK1 X DBVPG1373
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

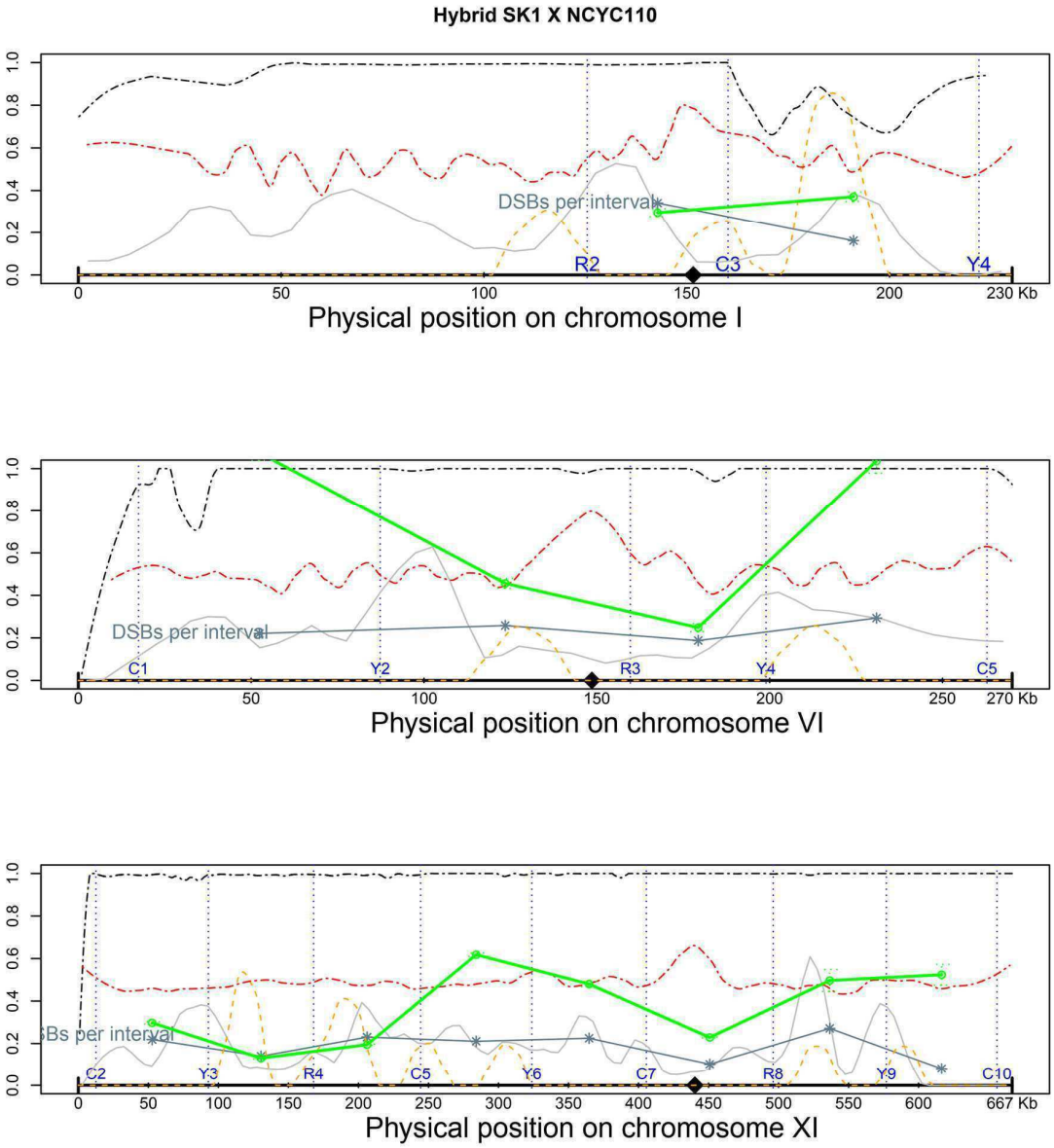

Hybrid SK1 X DBVPG1106
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

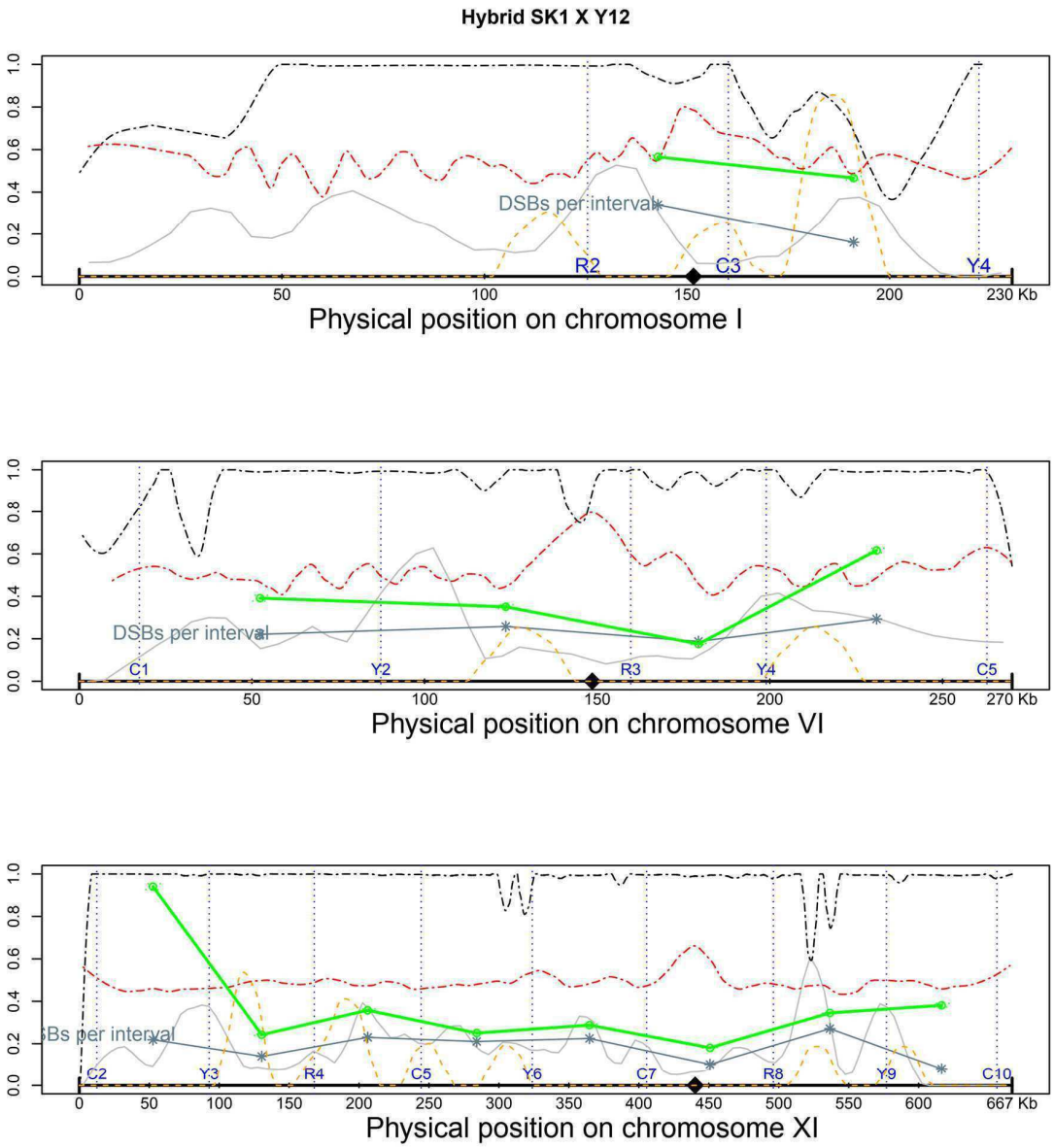

Hybrid SK1 X DBVPG6765
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

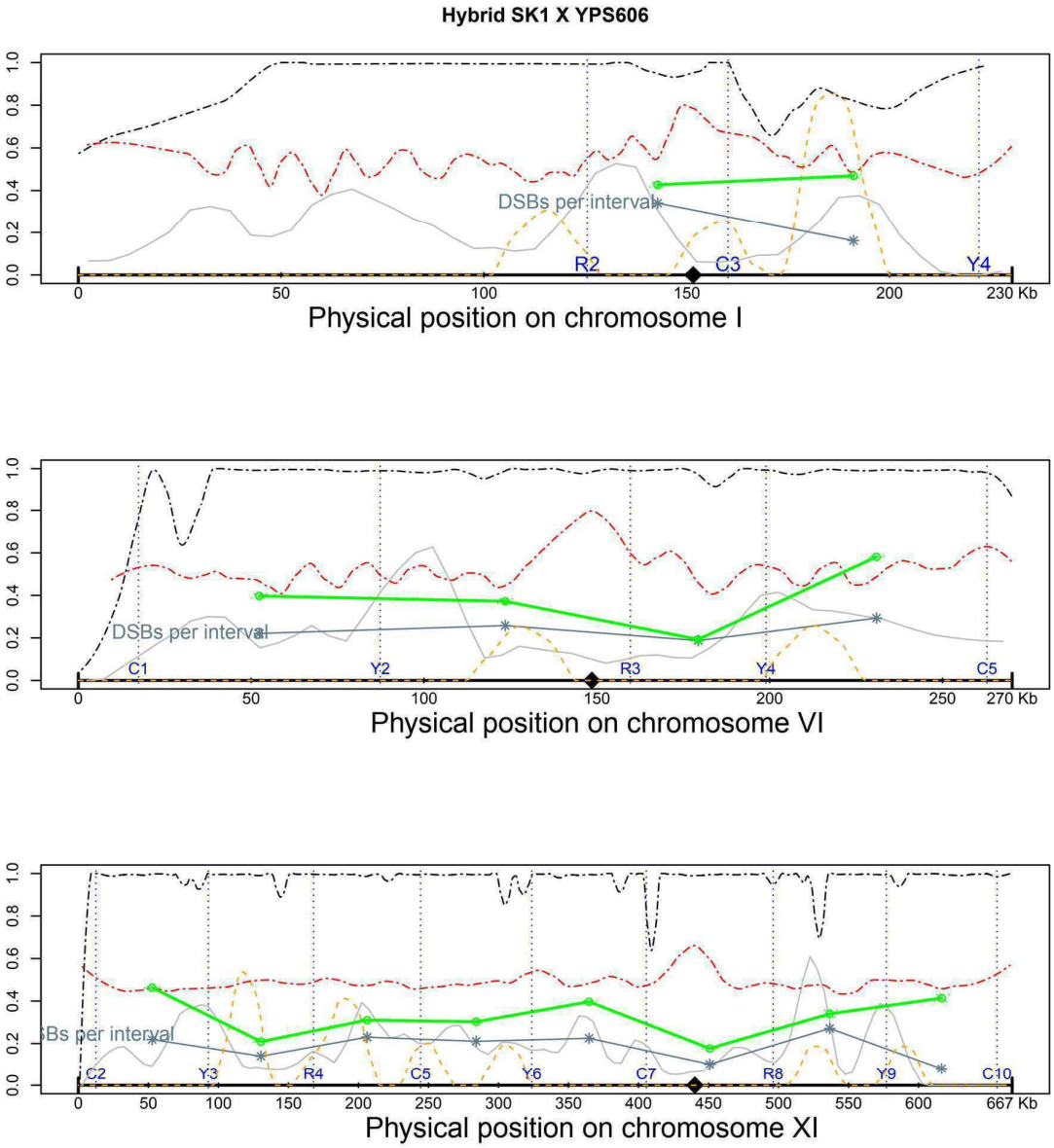

Hybrid SK1 X L_1374
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
Bs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

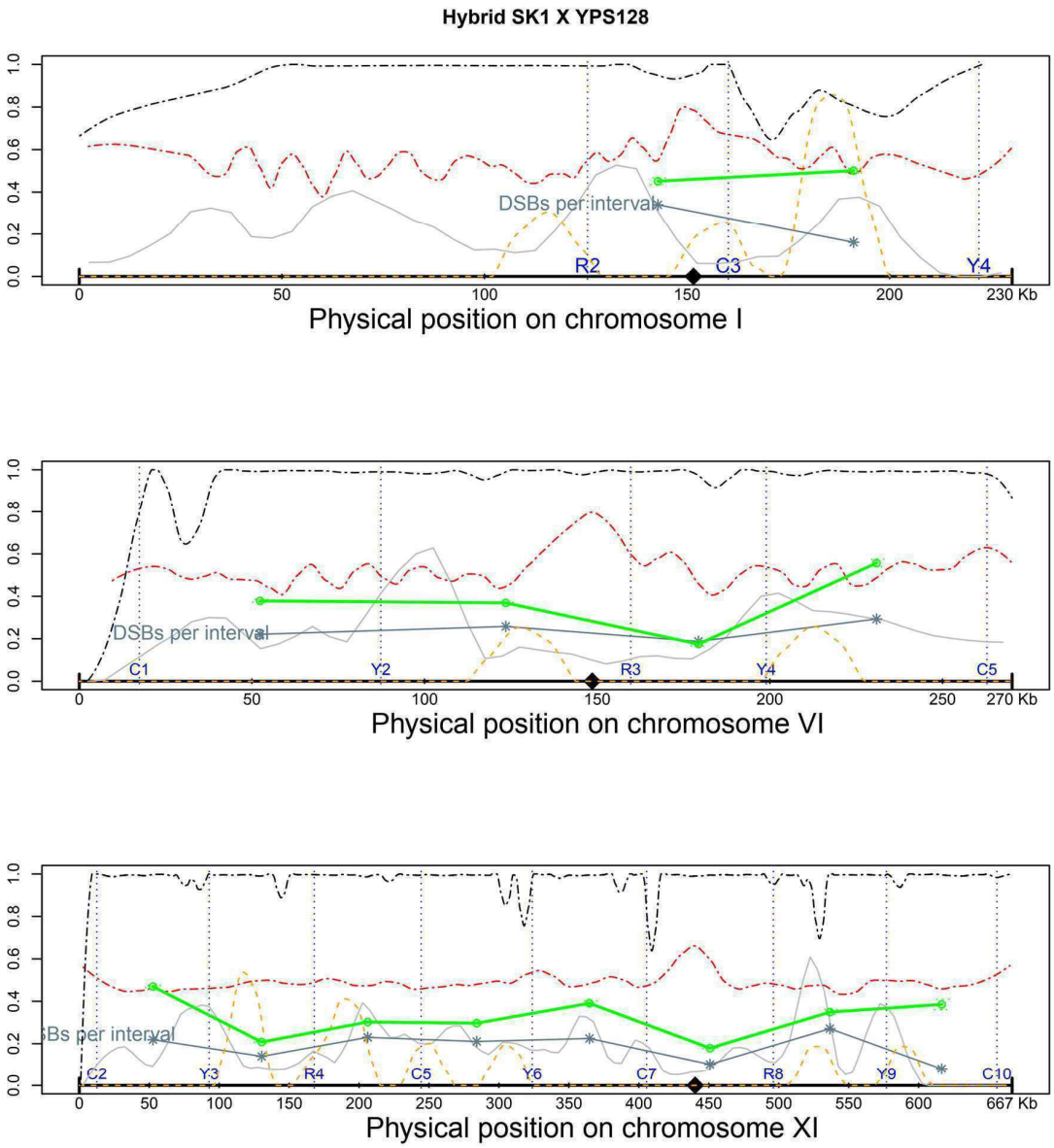

Hybrid SK1 X L_1528
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level


Hybrid SK1 X DBVPG6044
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level


Hybrid SK1 X NCYC110
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level


Hybrid SK1 X Y12
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level


Hybrid SK1 X YPS606
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
DSBs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level


Hybrid SK1 X YPS128
DSBs per interval
R2
C3
Y4
Physical position on chromosome I
DSBs per interval
C1
Y2
R3
Y4
C5
Physical position on chromosome VI
Bs per interval
C2
Y3
R4
C5
Y6
C7
R8
Y9
C10
Physical position on chromosome XI
Recombination rate
DSB level
DSBs per interval
H3K4me3 level
Sequence similarity
Rec8 level

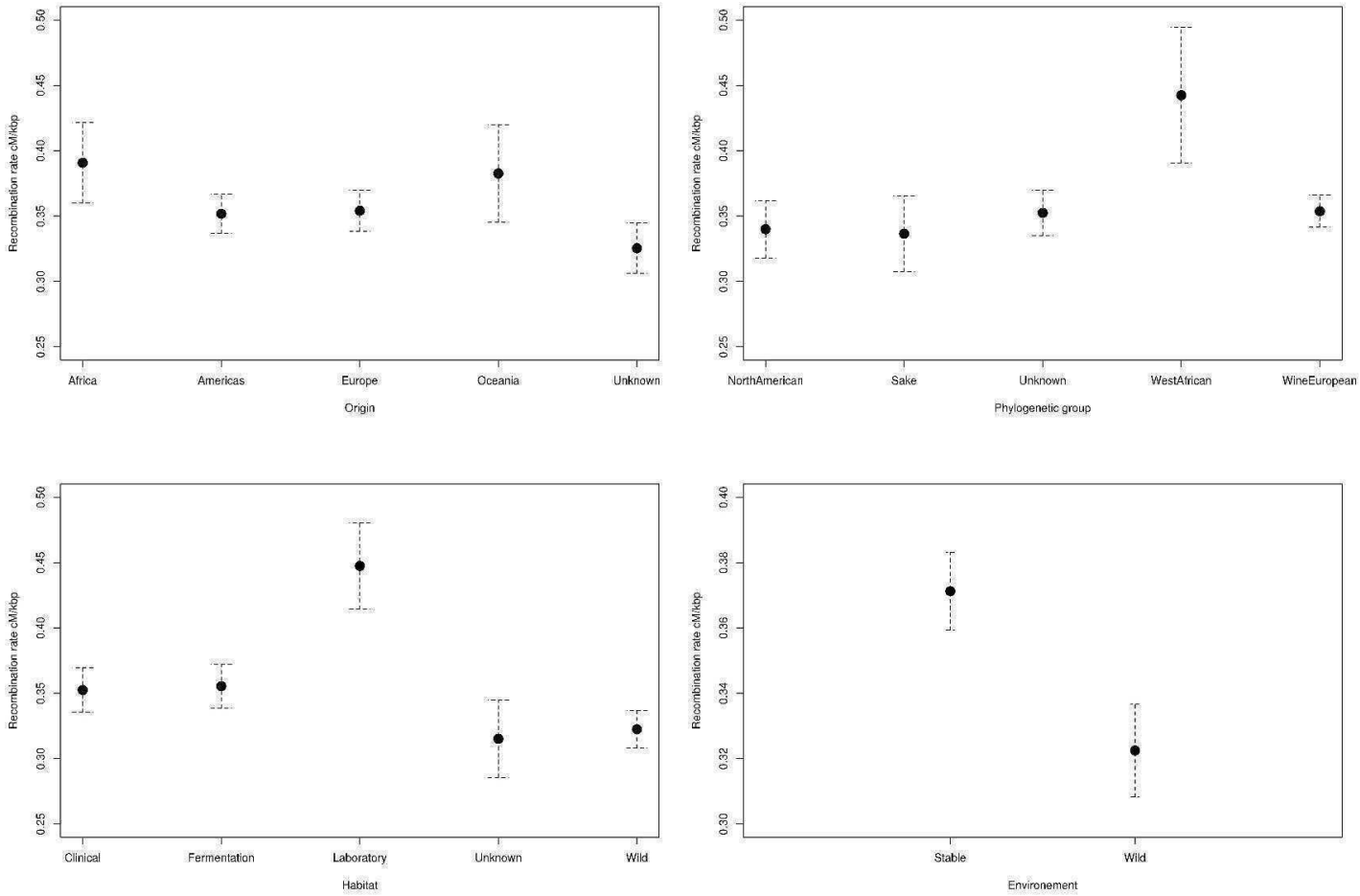
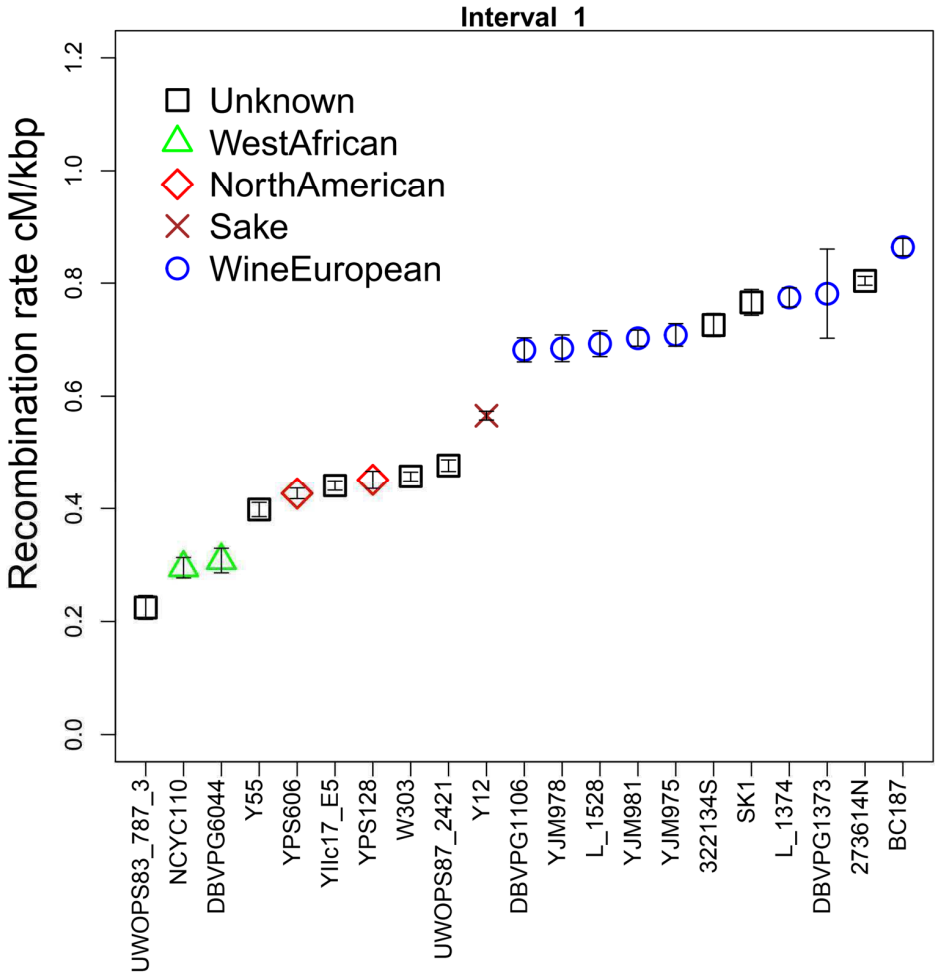
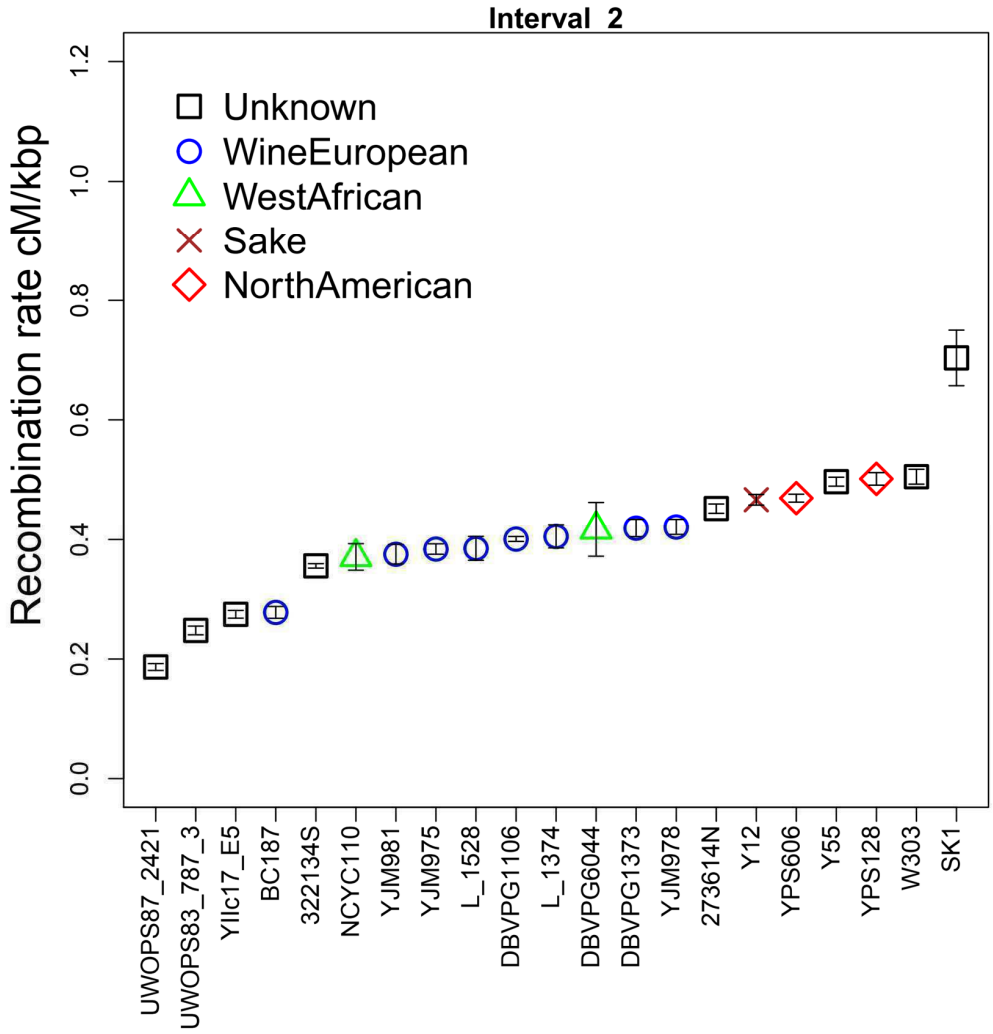
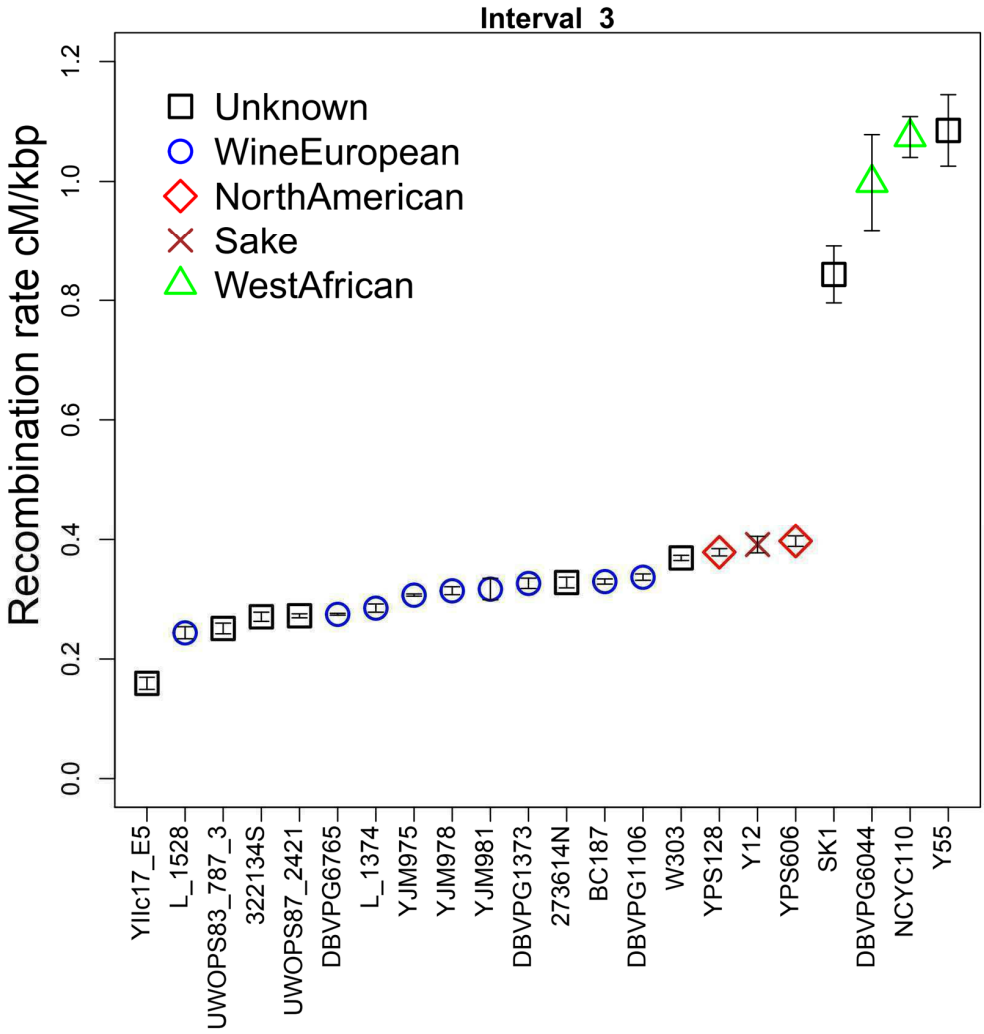


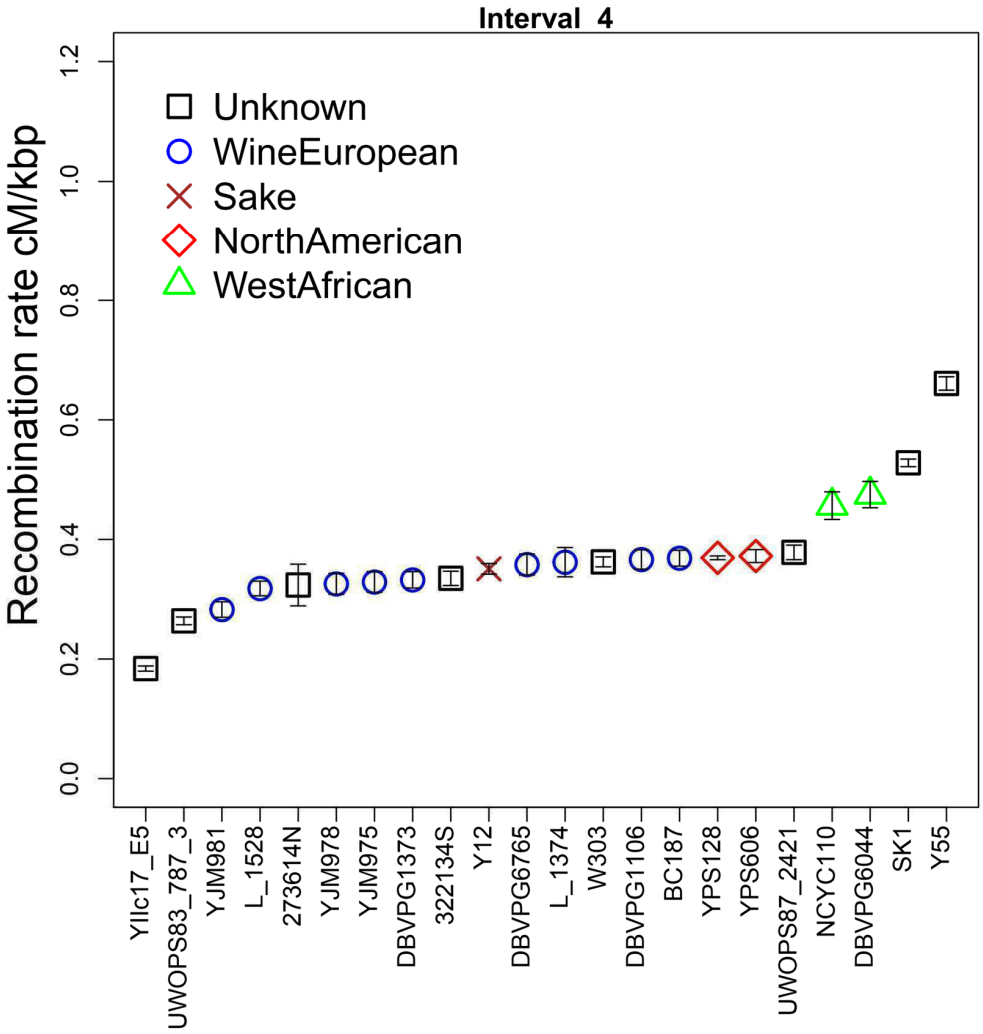
Figure S8: Recombination rates when pooling strains based on their geographic origin, phylogenetic group (Liti *et al.* 2009), habitat, or stable environment (including laboratory, fermentation, and clinical strains) *vs* wild environment. Error bars indicate 95% confidence interval.

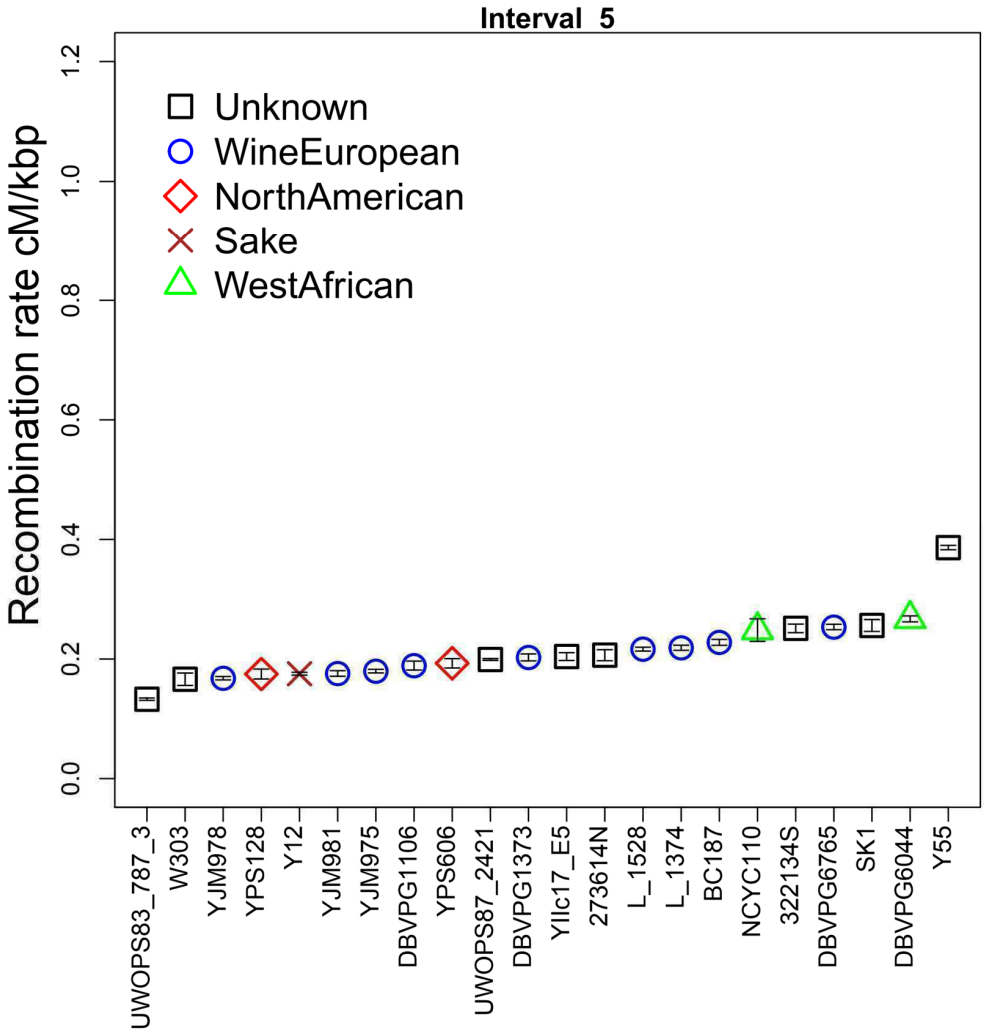
Figure S9: Recombination rates of hybrids between SK1 and each strain of the collection, in every interval separately (each page represents an interval). Strains are ordered by increasing recombination rate. Colors refer to the phylogenetic groups of the parental strains.

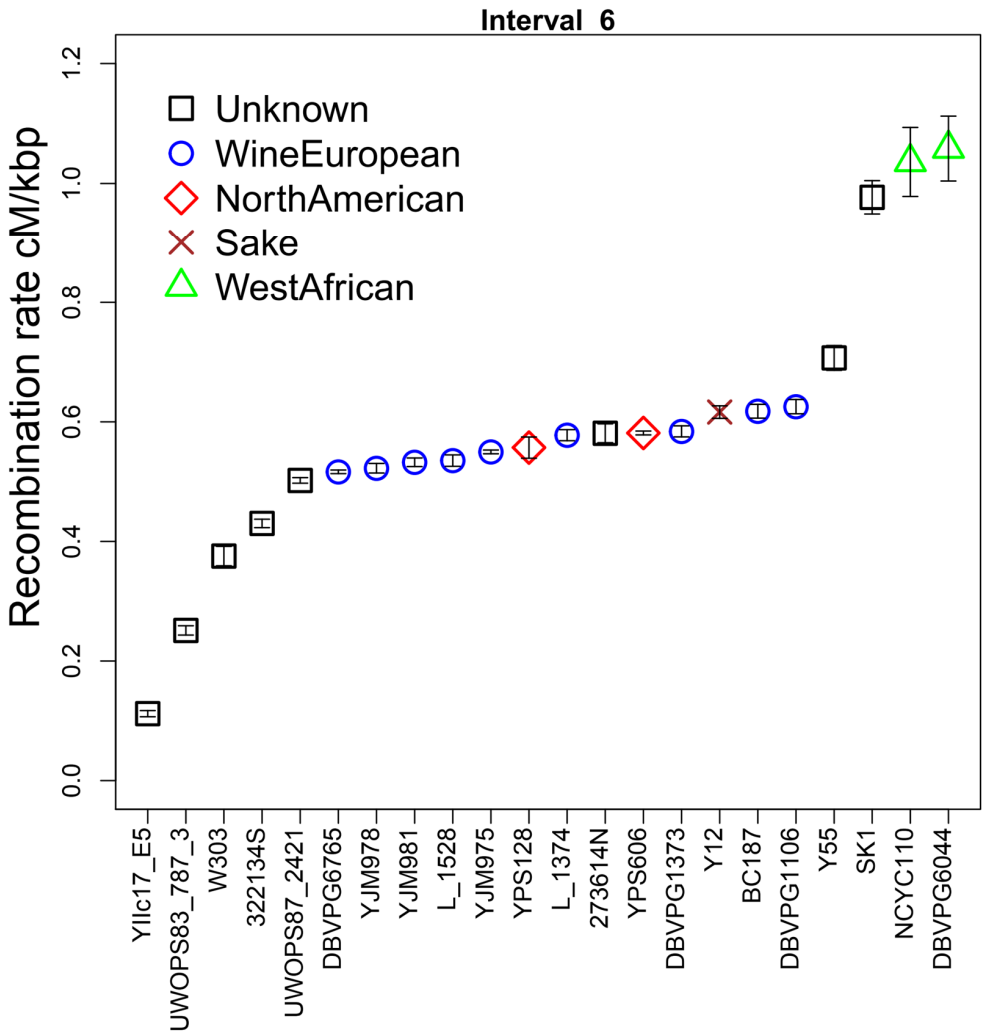


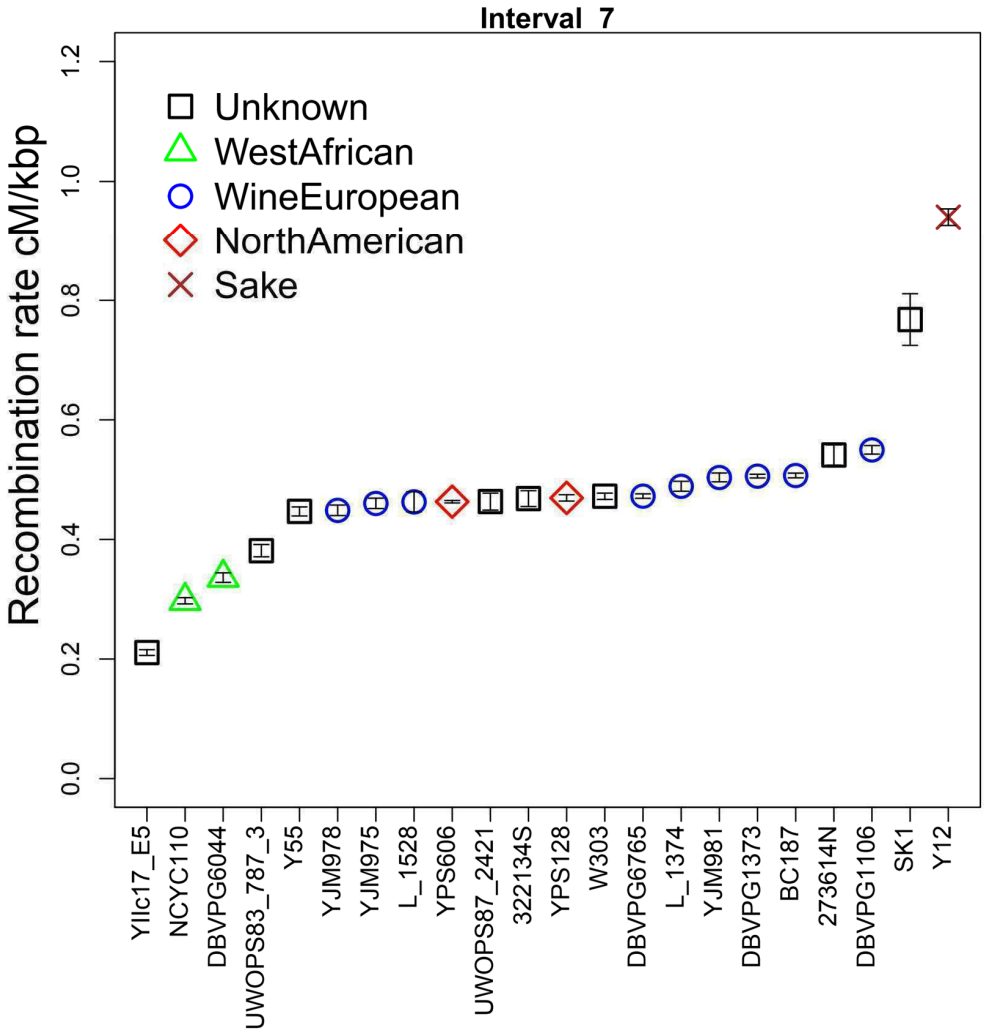

Interval 2
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WineEuropean
WestAfrican
Sake
NorthAmerican
UWOPS87_2421
UWOPS83_787_3
YIIc17_E5
BC187
322134S
NCYC110
YJM981
YJM975
L_1528
DBVPG1106
L_1374
DBVPG6044
DBVPG1373
YJM978
273614N
Y12
YPS606
Y55
YPS128
W303
SK1

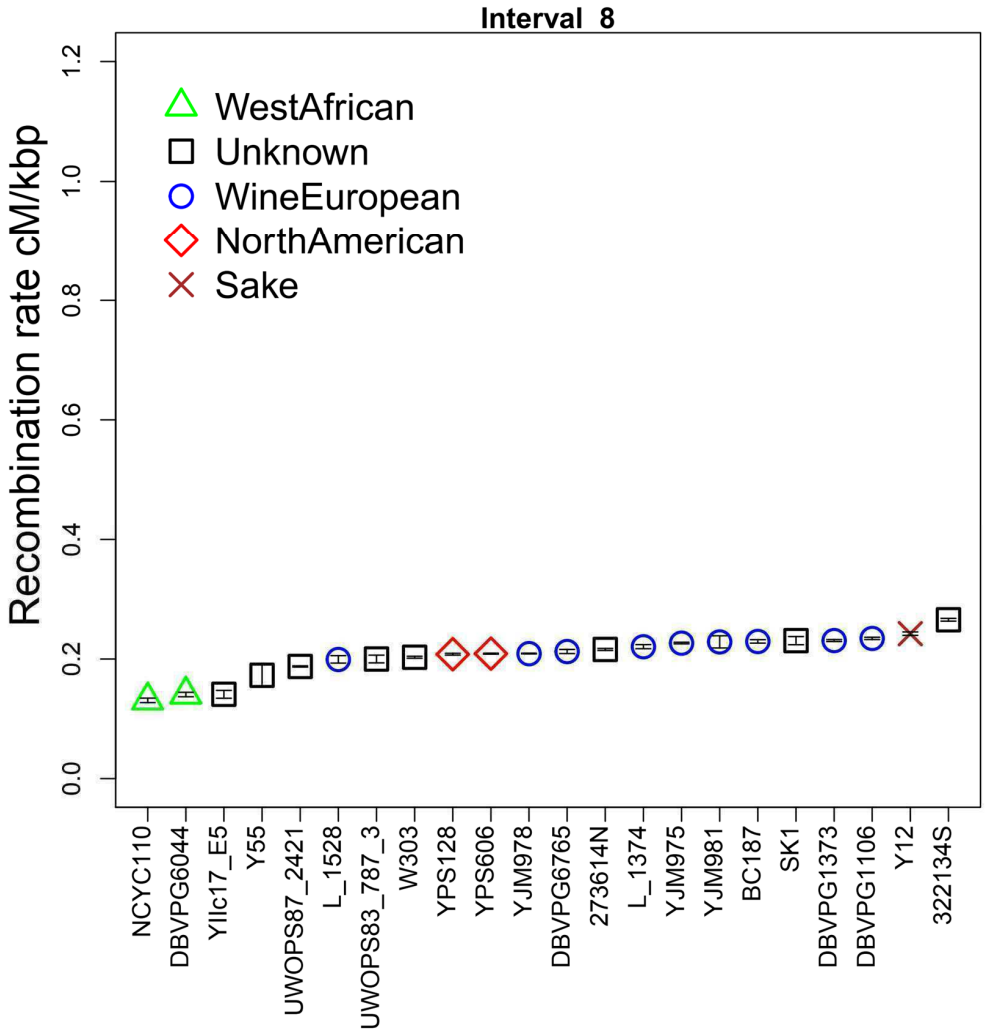

Interval 3
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WineEuropean
NorthAmerican
Sake
WestAfrican
YIIc17_E5
L_1528
UWOPS83_787_3
322134S
UWOPS87_2421
DBVPG6765
L_1374
YJM975
YJM978
YJM981
DBVPG1373
273614N
BC187
DBVPG1106
W303
YPS128
Y12
YPS606
SK1
DBVPG6044
NCYC110
Y55

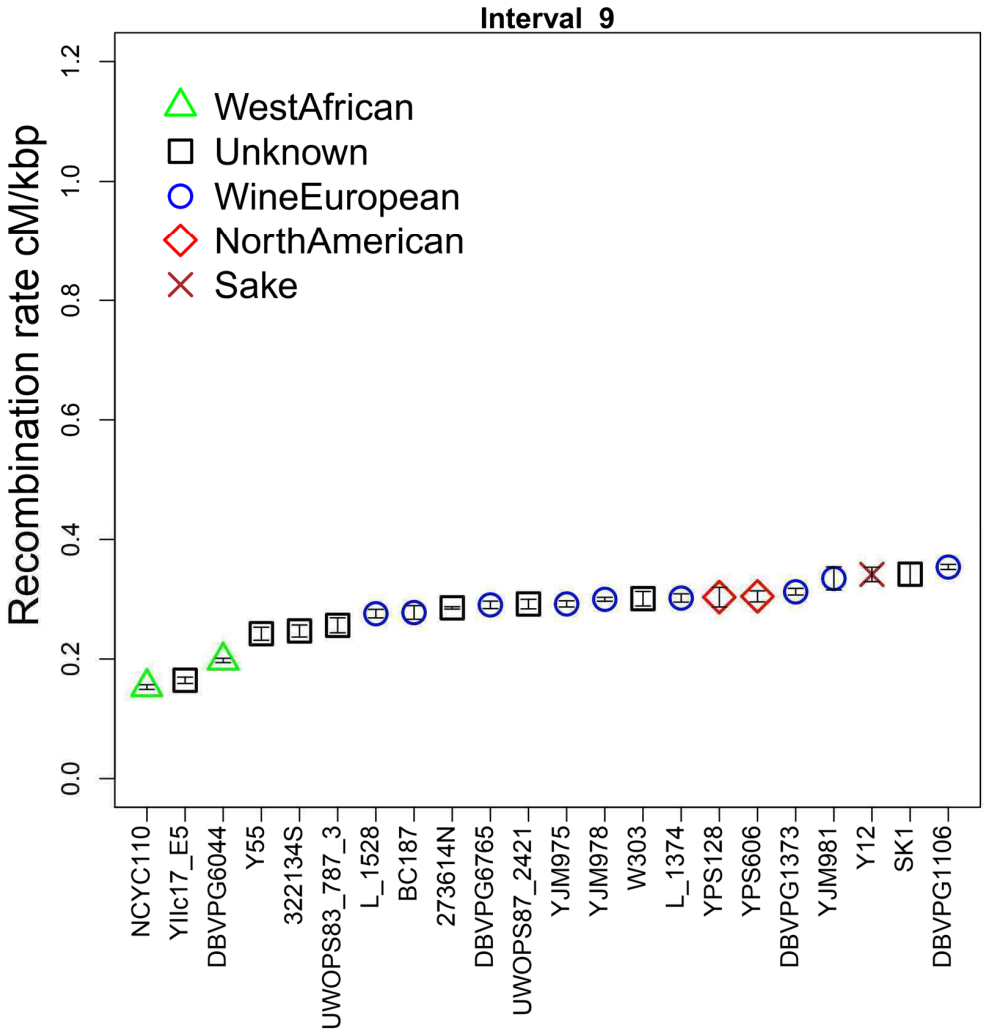

Interval 4
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WineEuropean
Sake
NorthAmerican
WestAfrican
YIIc17_E5
UWOPS83_787_3
YJM981
L_1528
273614N
YJM978
YJM975
DBVPG1373
322134S
Y12
DBVPG6765
L_1374
W303
DBVPG1106
BC187
YPS128
YPS606
UWOPS87_2421
NCYC110
DBVPG6044
SK1
Y55

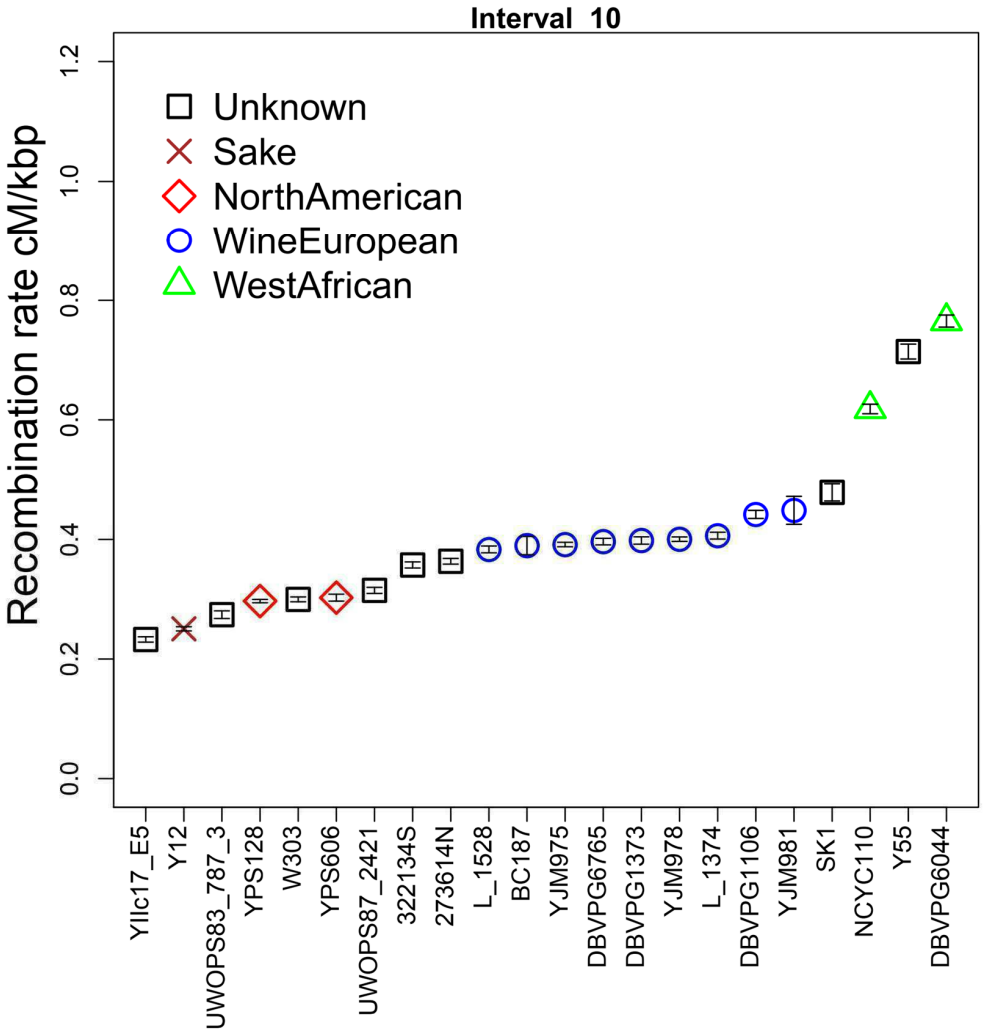

Interval 5
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WineEuropean
NorthAmerican
Sake
WestAfrican
UWOPS83_787_3
W303
YJM978
YPS128
Y12
YJM981
YJM975
DBVPG1106
YPS606
UWOPS87_2421
DBVPG1373
YIIc17_E5
273614N
L_1528
L_1374
BC187
NCYC110
322134S
DBVPG6765
SK1
DBVPG6044
Y55

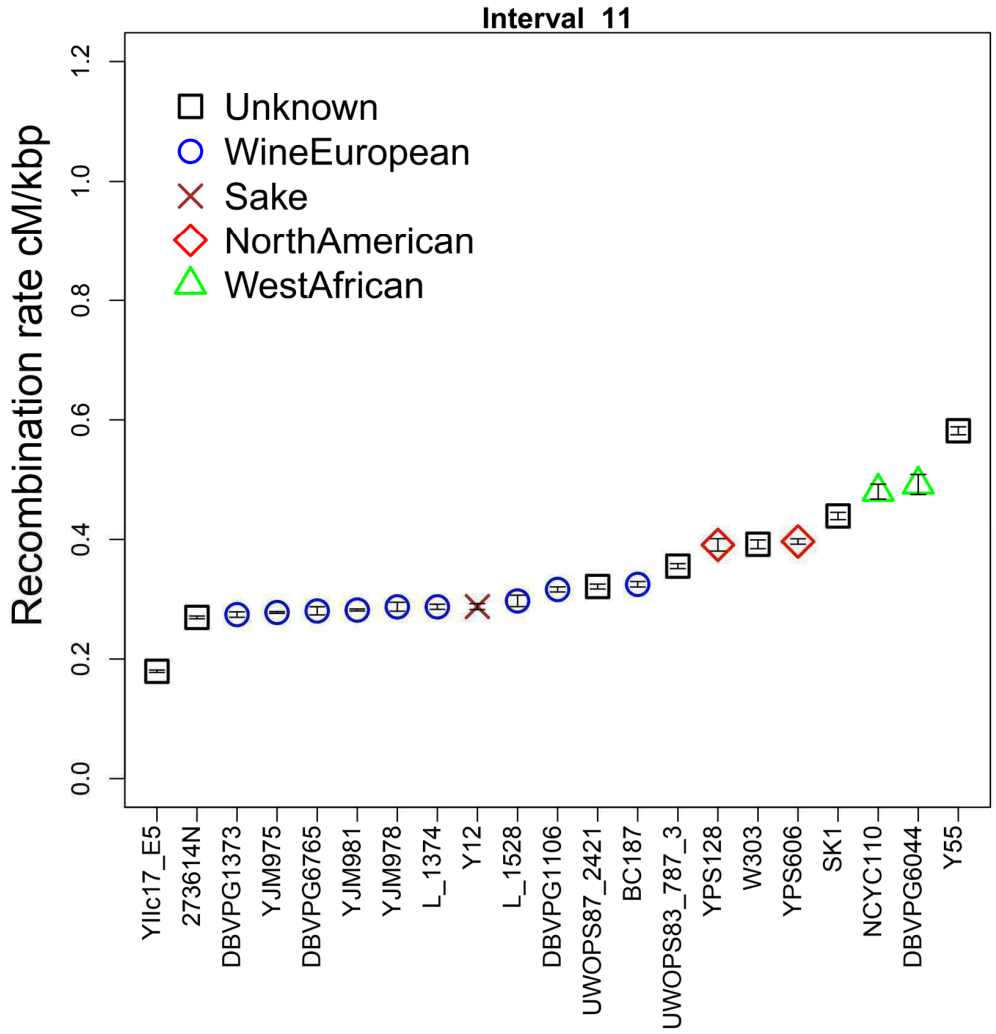

Interval 6
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WineEuropean
NorthAmerican
Sake
WestAfrican
YIIc17_E5
UWOPS83_787_3
W303
322134S
UWOPS87_2421
DBVPG6765
YJM978
YJM981
L_1528
YJM975
YPS128
L_1374
273614N
YPS606
DBVPG1373
Y12
BC187
DBVPG1106
Y55
SK1
NCYC110
DBVPG6044

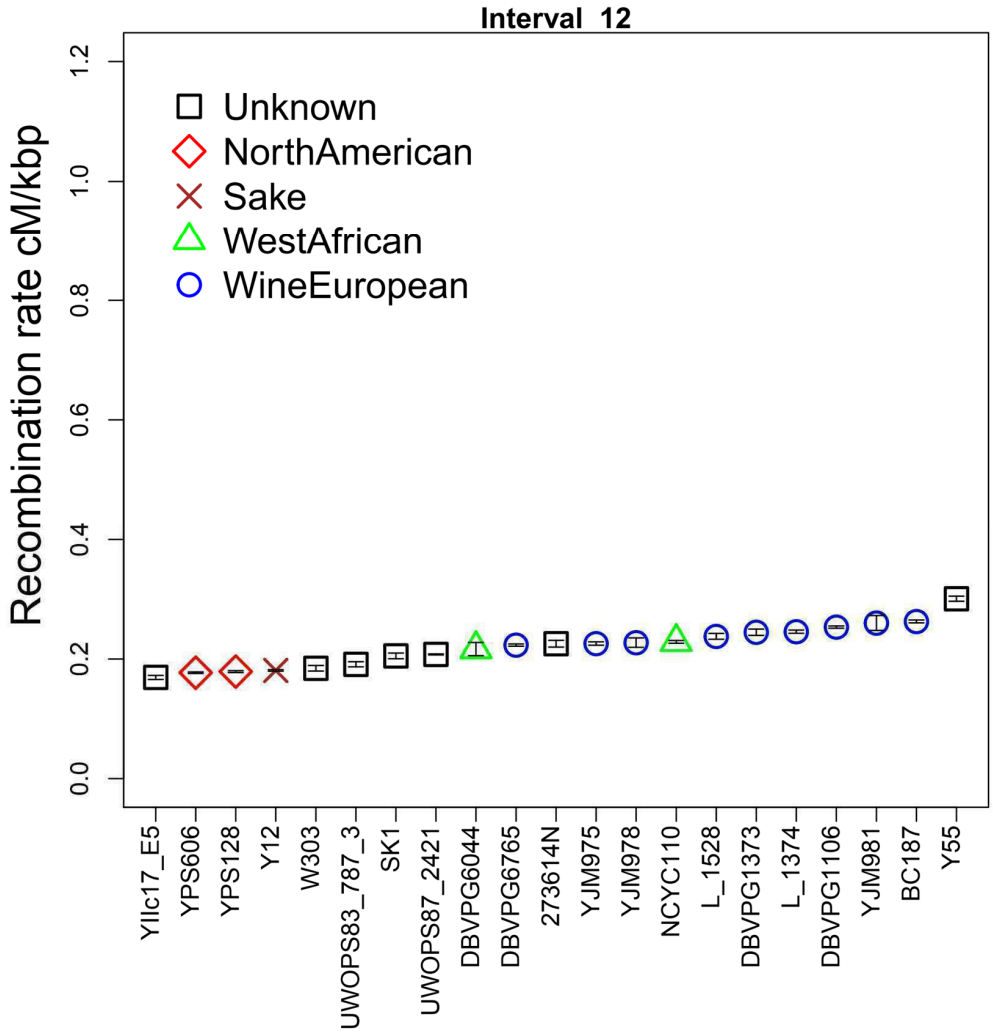

Interval 7
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WestAfrican
WineEuropean
NorthAmerican
Sake
YIIc17_E5
NCYC110
DBVPG6044
UWOPS83_787_3
Y55
YJM978
YJM975
L_1528
YPS606
UWOPS87_2421
322134S
YPS128
W303
DBVPG6765
L_1374
YJM981
DBVPG1373
BC187
273614N
DBVPG1106
SK1
Y12

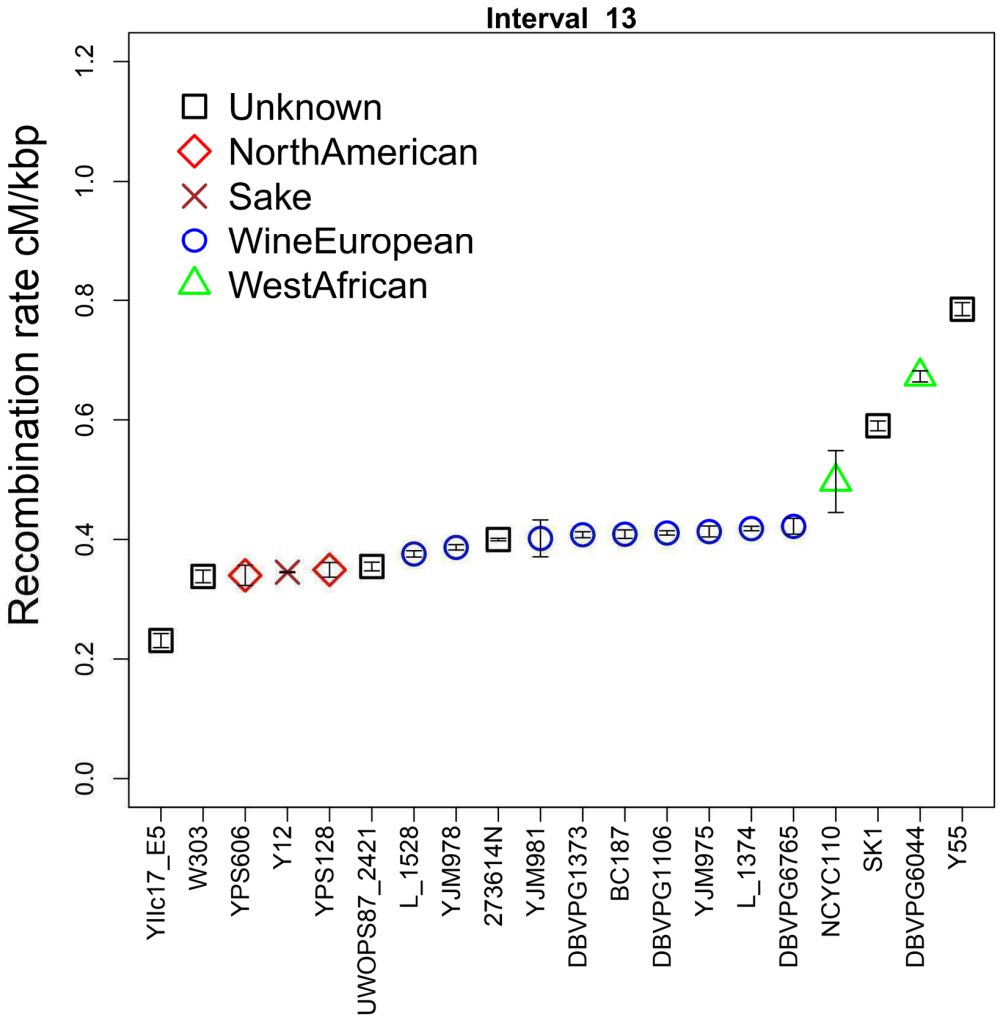

Interval 8
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
WestAfrican
Unknown
WineEuropean
NorthAmerican
Sake
NCYC110
DBVPG6044
YIIc17_E5
Y55
UWOPS87_2421
L_1528
UWOPS83_787_3
W303
YPS128
YPS606
YJM978
DBVPG6765
273614N
L_1374
YJM975
YJM981
BC187
SK1
DBVPG1373
DBVPG1106
Y12
322134S

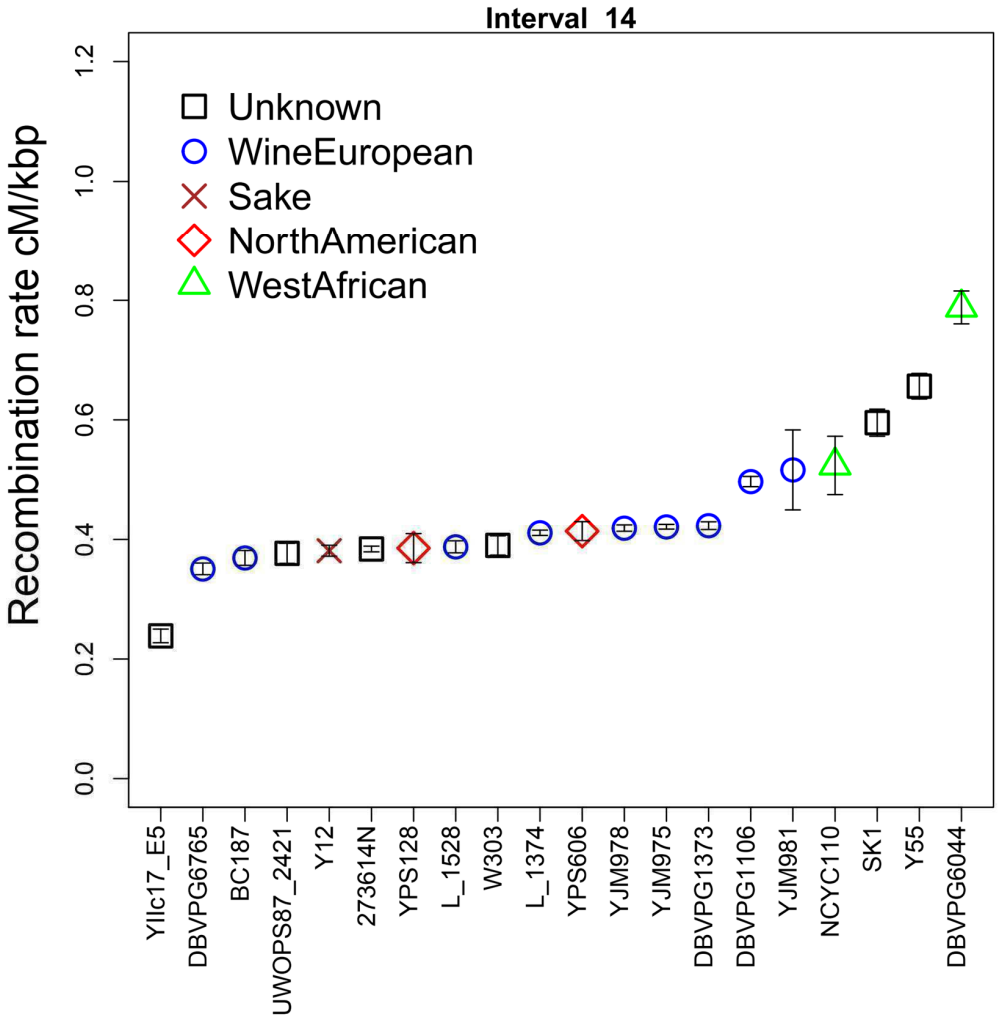

Interval 9
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
WestAfrican
Unknown
WineEuropean
NorthAmerican
Sake
NCYC110
YIIc17_E5
DBVPG6044
Y55
322134S
UWOPS83_787_3
L_1528
BC187
273614N
DBVPG6765
UWOPS87_2421
YJM975
YJM978
W303
L_1374
YPS128
YPS606
DBVPG1373
YJM981
Y12
SK1
DBVPG1106


Interval 10
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
Sake
NorthAmerican
WineEuropean
WestAfrican
YIIc17_E5
Y12
UWOPS83_787_3
YPS128
W303
YPS606
UWOPS87_2421
322134S
273614N
L_1528
BC187
YJM975
DBVPG6765
DBVPG1373
YJM978
L_1374
DBVPG1106
YJM981
SK1
NCYC110
Y55
DBVPG6044


Interval 11
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WineEuropean
Sake
NorthAmerican
WestAfrican
YIIc17_E5
273614N
DBVPG1373
YJM975
DBVPG6765
YJM981
YJM978
L_1374
Y12
L_1528
DBVPG1106
UWOPS87_2421
BC187
UWOPS83_787_3
YPS128
W303
YPS606
SK1
NCYC110
DBVPG6044
Y55


Interval 12
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
NorthAmerican
Sake
WestAfrican
WineEuropean
YIIc17_E5
YPS606
YPS128
Y12
W303
UWOPS83_787_3
SK1
UWOPS87_2421
DBVPG6044
DBVPG6765
273614N
YJM975
YJM978
NCYC110
L_1528
DBVPG1373
L_1374
DBVPG1106
YJM981
BC187
Y55


Interval 13
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
NorthAmerican
Sake
WineEuropean
WestAfrican
YIIc17_E5
W303
YPS606
Y12
YPS128
UWOPS87_2421
L_1528
YJM978
273614N
YJM981
DBVPG1373
BC187
DBVPG1106
YJM975
L_1374
DBVPG6765
NCYC110
SK1
DBVPG6044
Y55


Interval 14
Recombination rate cM/kbp
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Unknown
WineEuropean
Sake
NorthAmerican
WestAfrican
YIIc17_E5
DBVPG6765
BC187
UWOPS87_2421
Y12
273614N
YPS128
L_1528
W303
L_1374
YPS606
YJM978
YJM975
DBVPG1373
DBVPG1106
YJM981
NCYC110
SK1
Y55
DBVPG6044

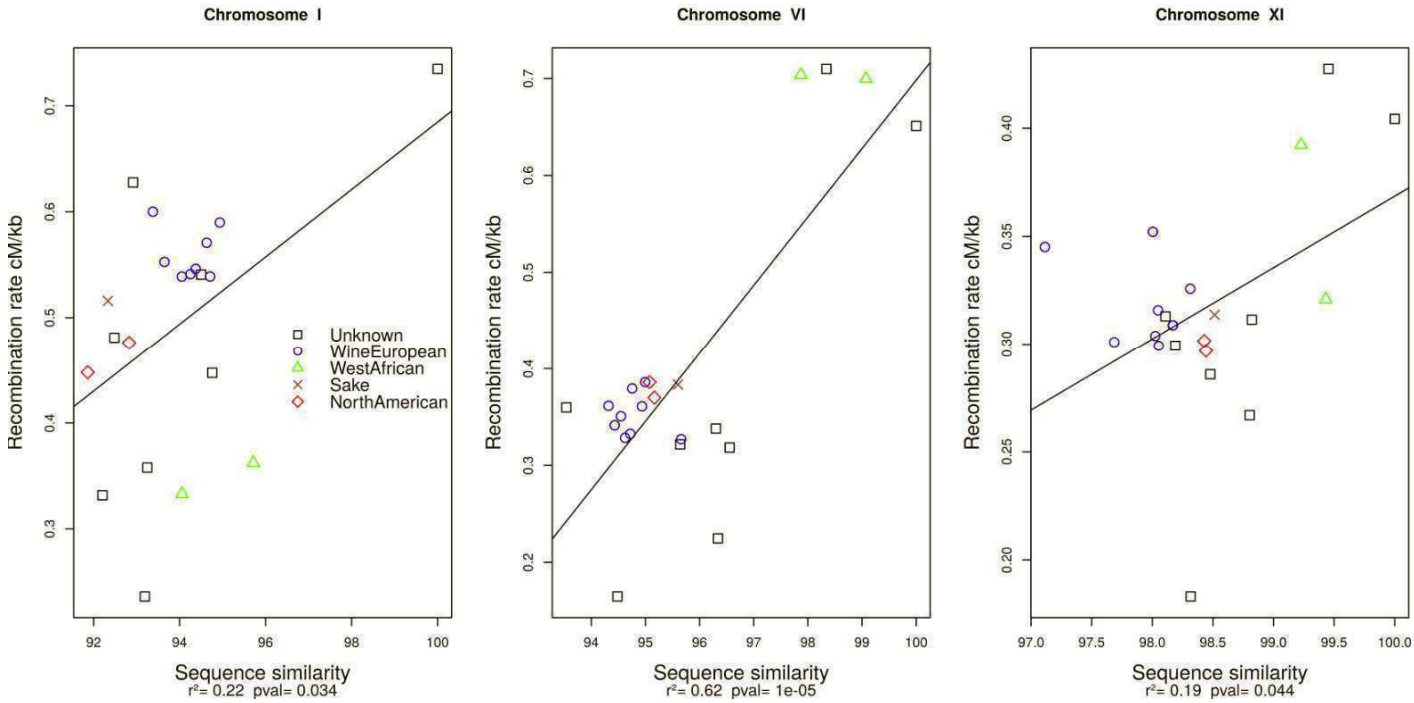


Figure S10: Correlation between sequence similarity (across intervals of one given chromosome), and the mean recombination rate of hybrids. X-axis: percentage of sequence similarity (see Materials & Methods), Y-axis: for each strain of the collection, average of the recombination rates of the hybrids obtained by crossing the strain with the tester(s) corresponding to the chromosome considered. Colors refer to the phylogenetic groups of the parental strains.

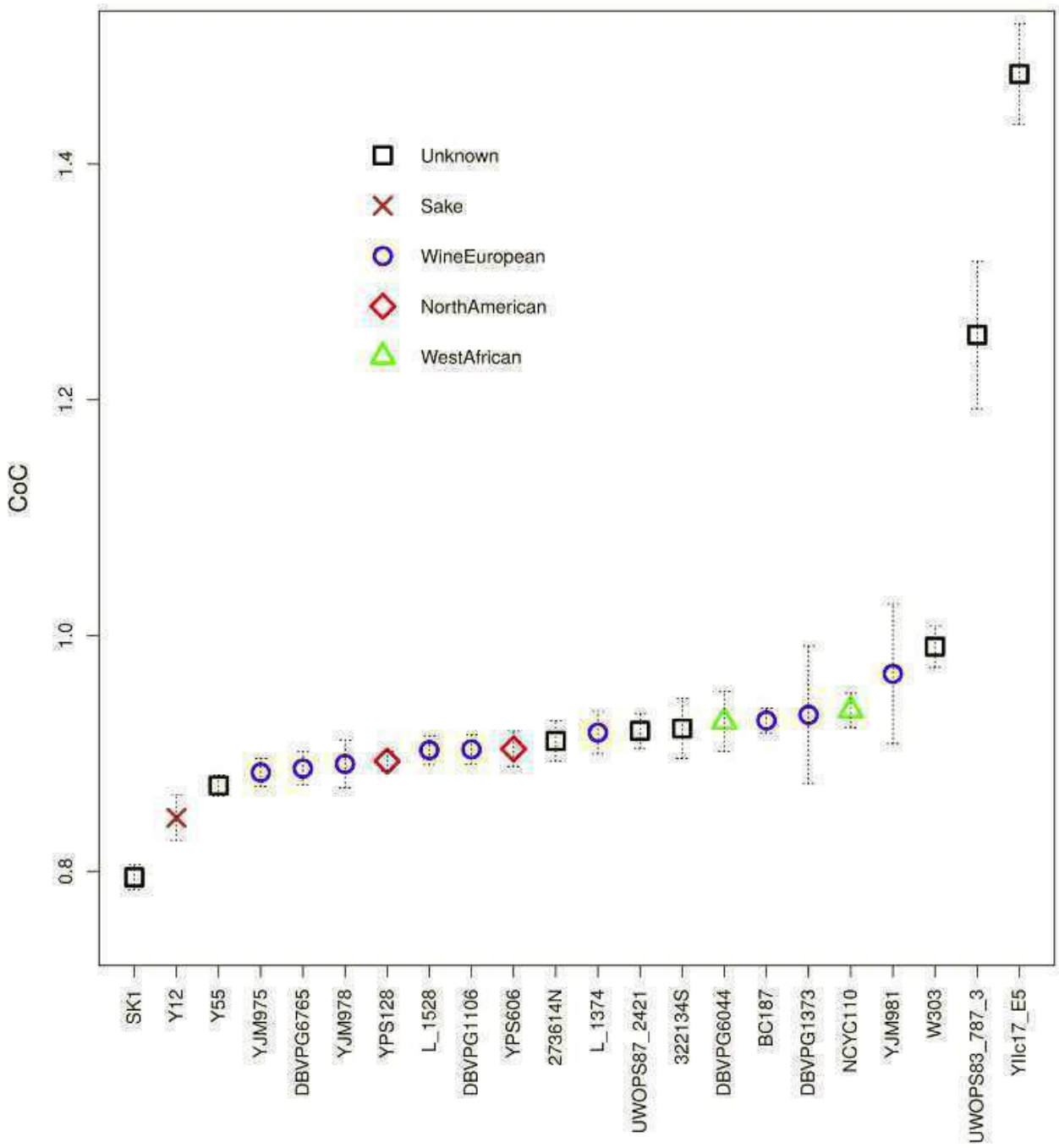


Figure S11: Values of the coefficient of coincidence (CoC) across hybrids. X-axis: name of the parent crossed with SK1 tester to produce the hybrids. Y-axis: average CoC value over all seven testers. Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. Colors refer to the phylogenetic group of the strains

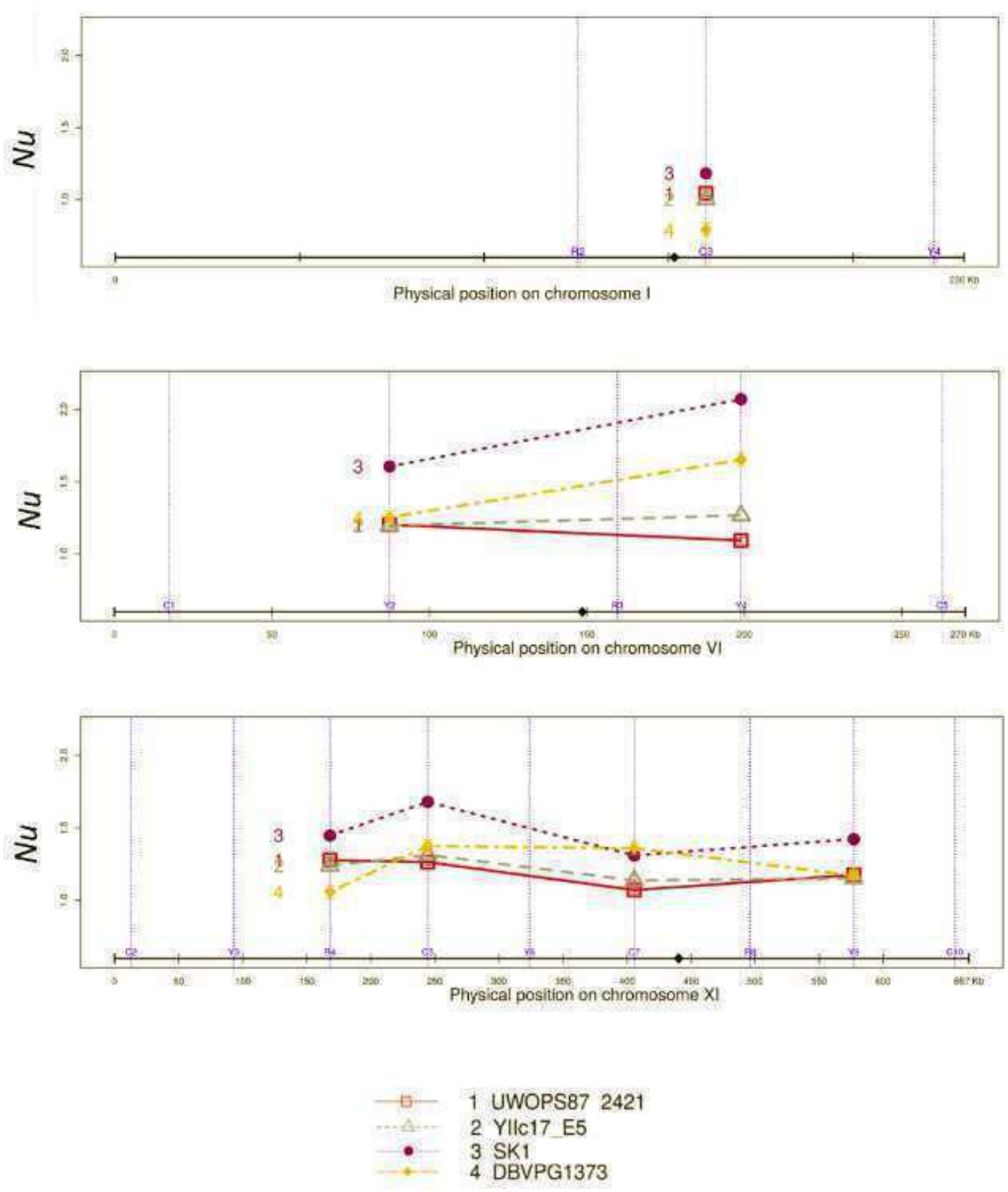


Figure S12: Interference strength profiles along chromosomes for three strains that illustrate different patterns. X-axis: physical position along chromosome I (upper panel), VI (middle panel) or XI (lower panel). Error bars indicate 95% confidence interval based on four biological replicates. Vertical blue dashed lines indicate the positions of fluorescent markers. Diamonds at the bottom show centromere positions.

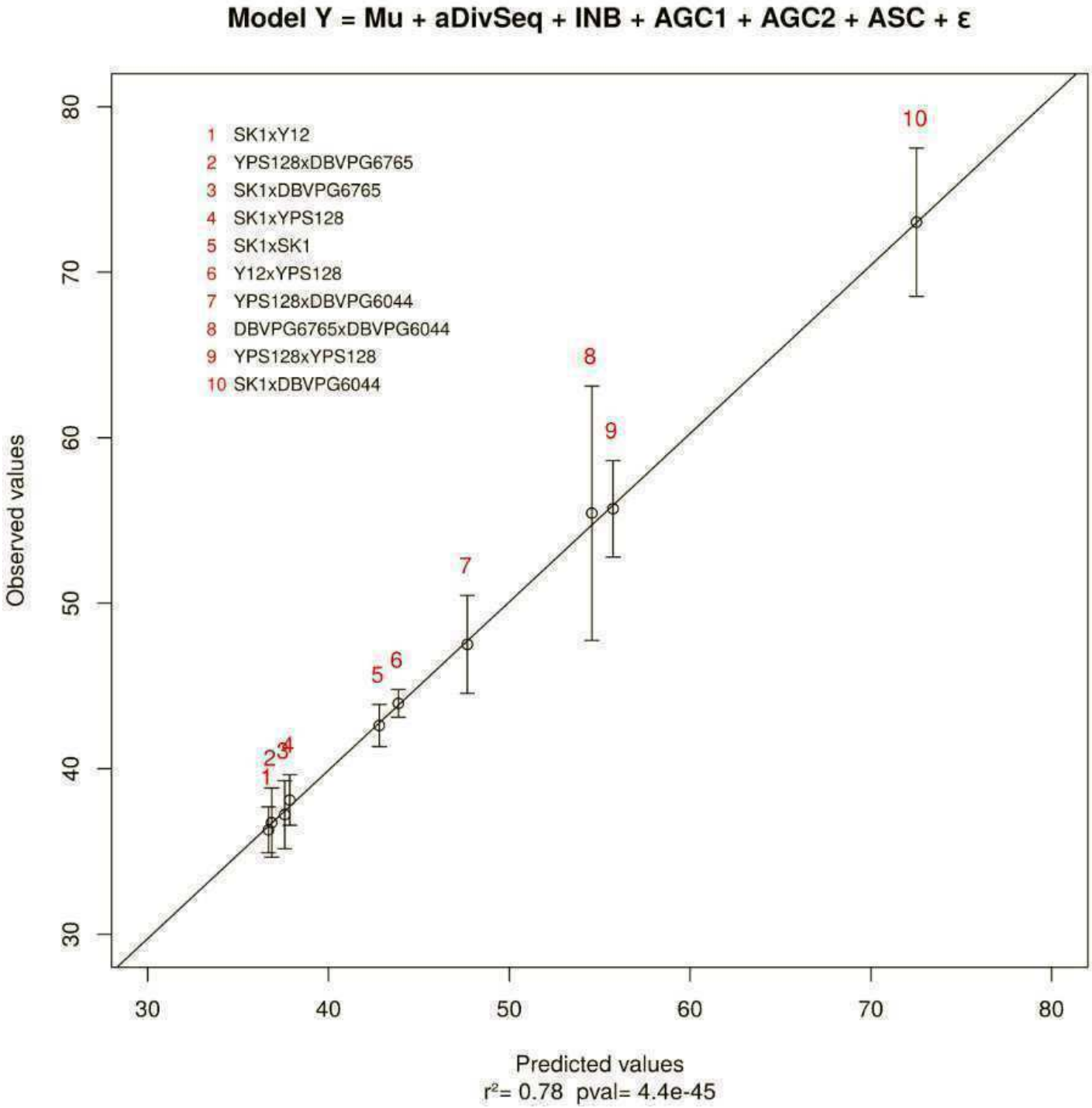


Figure S13: correlation between observed and predicted values of recombination after fitting the model (see Results) with the diallel data.

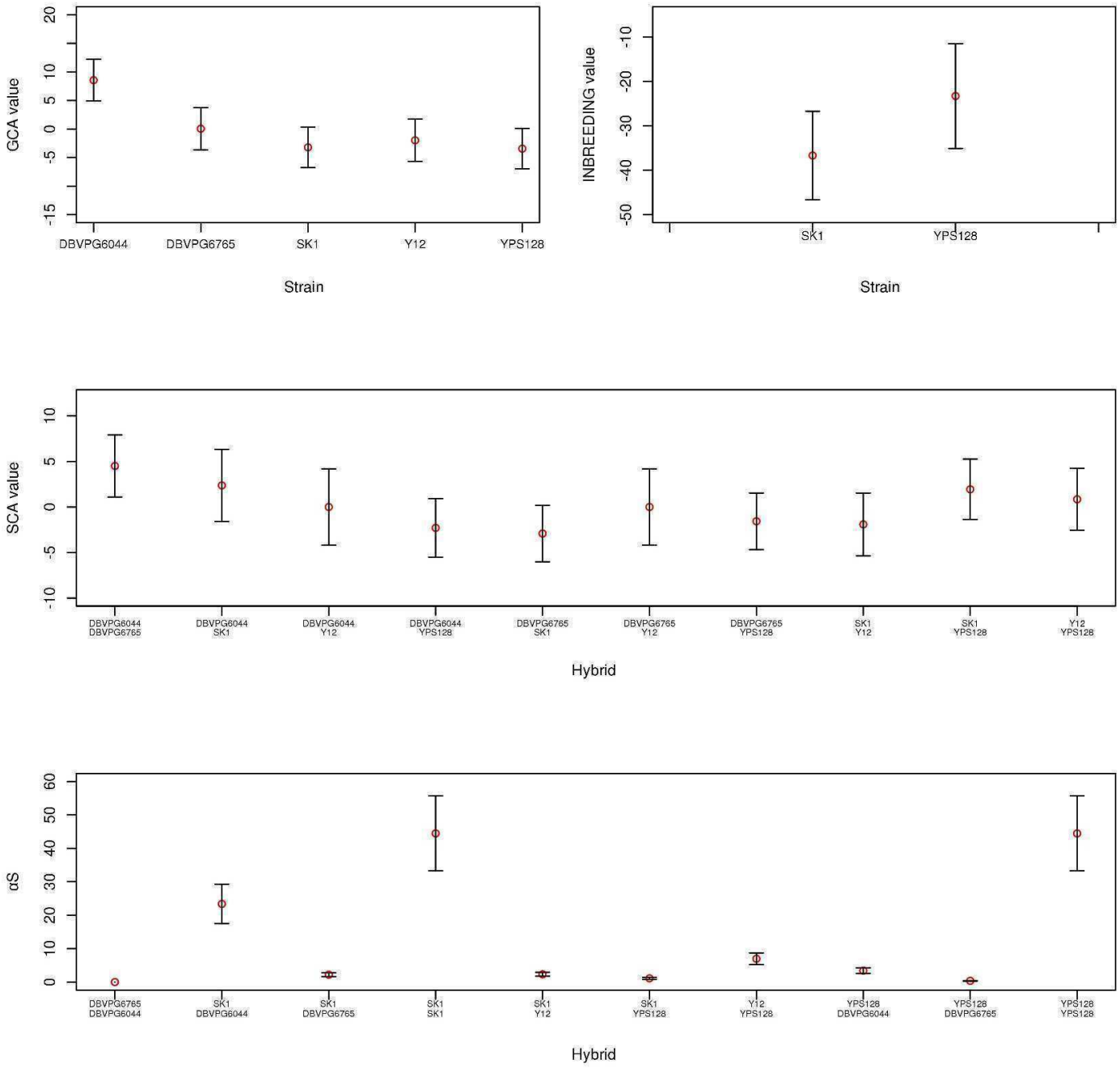


Figure S14: Estimated values of the parameters of the diallel model. GCA: general combining ability (in centiMorgans). SCA: specific combining ability (in centiMorgans). αS: predicted effect of sequence divergence (in centiMorgans) .

Supplementary Methods : File S1

A-Segregation bias and fluorescence extinction

To check for possible experimental/technical biases in our experiment, we designed the following two tests for Mendelian segregation:

(1) *Single locus segregation in all hybrids:* we investigated to what extent our recombination phenotyping method is robust to different genetic backgrounds, particularly with hybrids from more or less distantly related parental strains. We observed single-locus segregation ratios of fluorescent *vs* non-fluorescent (NF) spores ranging from 0.47 (*sd*=0.013) to 0.51 (*sd*=0.008) among 22 hybrids (average of all markers), and ranging from 0.48 (*sd*=0.0128) to 0.50 (*sd*=0.011) among 15 markers (average of all hybrids). The lowest values of these ratios always corresponded to strains YIIc17_E5, UWOPS83_787_3, and marker CFP-XI-2 for which we observed a deficit of fluorescent spores.

(2) *Three-locus analysis*: from our data, we calculated the ratio between frequencies of spores with external markers only and spores with the central marker only. This ratio ranged from 0.54 (*sd*=0.078) to 0.64 (*sd*=0.135) among 22 hybrids (average of all markers) and from 0.49 (*sd*=0.040) to 0.81 (*sd*=0.069) among eight testers (average of all hybrids). Outliers showing an excess of spores with only the two external markers were again observed with hybrids from strains YIIc17_E5 and UWOPS83_787_3, and with tester XI-R1C2Y3 (containing marker CFP-XI-2 at middle position).

In a previous paper (Raffoux *et al.*, 2018. Yeast, doi:10.1002/yea.3315), we observed on strains SK1 and W303 that some parental-type tri-fluorescent spores lost the fluorescence phenotype for the central locus. Such fluorescence extinction resulted in some extent of segregation bias, mainly affecting multi-locus segregation and thus interference measurement. Our present results on many more strains are fully consistent with these previous observations. To correct for this bias, we thus used the mathematical model described in our first paper to estimate fluorescent extinction frequencies as well as corrected recombination rates and interference strength (true coefficient of coincidence) from flow cytometry data (see Materials and Methods). Using this model with all testers and all hybrids, the average extinction frequencies estimated for the three consecutive markers of a tester were 0.5% (*sd*=0.8), 1.3% (*sd*=1.5), and 0.7% (*sd*=0.9). As expected, the highest extinction

rates were obtained for strains YIIc17_E5, UWOPS83_787_3 which showed the strongest segregation distortion for all single markers (Supp Figure 2). These values are consistent with the rate of experimental fluorescence extinction measured in a SK1 homozygous fluorescent diploid as described in our previous paper, indicating that there is no bias in the recovery of all the expected classes of spores.

B-Experimental design and normalization

Each experiment was composed of one of the eight tri-fluorescent testers crossed with each of the 26 strains of the collection, plus one control sample: (Y12 Mat a X SK1-VI-Y3R4C5 Mat α). Four technical replicates were achieved for each cross and placed at different locations in the incubator during sporulation. As recombination rate values of the control sample didn't show significant variation between the eight experiments corresponding to the eight testers (ANOVA *p*-value = 0.99), we normalized the results as follows: every recombination rate obtained in experiment *E* was multiplied by the average recombination rate of the control across the eight experiments, and divided by the recombination rate of the control in experiment *E*.

C-Translating a coefficient of coincidence into an interference strength

When modeling interference, one usually assumes a process that generates COs on a continuous chromosome such that nearby COs are less likely to arise than by chance (*i.e.*, than when COs arise independently). In such models (Kleckner *et al.*, 2004, Proc Natl Acad Sci U S A 101: 12592-12597; McPeek and Speed, 1995, Genetics 139: 1031-1044), interference *strength* is quantified by a single parameter. Suppose the considered model is used to simulate a large number of meioses; interference in such data can be characterized either by that single model parameter or by the coefficients of coincidence (CoCs) produced. The « problem » with CoCs is that they require specifying the size of the intervals used. Since the CoCs will be very small for small intervals and will approach 1 for large intervals, CoCs do not give a direct measure of interference strength. It is thus wisest to rely on an underlying model if the objective is to quantify and compare interference strength. In the case of our dataset however, we do not have CO positions along a continuous chromosome, we just know whether adjacent intervals are recombinant or not. In view of the previous remarks, it is best to « translate » the CoCs of these interval pairs into estimates of the model's interference strength parameter, thus overcoming the dependence of CoC on interval sizes. We do this for our dataset by asking which value of the model's interference parameter leads to the experimental CoC, given the recombination rates in each interval. For specificity, we use the Gamma model (McPeek and Speed, 1995, Genetics 139: 1031-1044) of CO interference but our method for mapping CoCs to interference strength is more general. The steps for a given pair of intervals are as follows.

(1) First it is necessary to relate genetic distance (« *d* » in Morgans) and recombination rate (« *r* », ratio without dimension). Indeed, Haldane's formula, namely $d = -0.5 \ln(1 - 2r)$, linking those two quantities, assumes that there is no interference; unfortunately, in the presence of interference, no such formula is available. We thus resort to simulation to determine the relation between *d* and *r*, assuming a given value of ν (the Gamma model interference parameter). This is done by simulating 10^5 meioses, considering two *ad hoc* markers at distance *d* and extracting the fraction of meioses leading to an odd number of COs between those two markers. In practice, we do this for regularly spaced values of *d*, *d*=0,2,4,6,8,… cM, thereby creating a table relating genetic distance and recombination rate. This table can then be used to interpolate and obtain the curve linking *d* and *r*. Supp Figure S3 illustrates this mapping for the specific values $\nu = 1.4$ and $\nu = 2.5$.

(2) Second, we extend the single interval analysis just described to study the CoC arising for the *two* intervals of interest. Specifically, the mapping between *d* and *r* allows us to infer each interval's genetic length, d_1 and d_2 (just search the table, with spline polynomial interpolation, to find the two distances that give rise to each interval's recombination r_1 and r_2.). Then as above we can introduce *ad hoc* markers delimiting the positions of the two intervals and extract the fraction of double recombinants generated by the simulations. This thereby provides a « theoretical » value for the CoC, and thus the translation between ν and CoC. Note that this translation requires knowing d_1 and d_2 (or equivalently, r_1 and r_2). In practice the experimental measurements provide the CoC and so it is necessary to perform a scan in ν to see which value of ν leads to a translation into the experimental value of the CoC. In Supp Figure S4 we illustrate the result of this scan for two of our pairs of intervals.

In summary, for each interval, we use these two steps to infer the value of the corresponding interference parameter ν, thereby overcoming the caveats of using the CoC directly as a measure of interference strength.

Strain #	Name	Origin	Phylogenetic group	Habitat
3582	UWOPS87_2421	Americas	Unknown	Wild
3583	W303	Unknown	Unknown	Laboratory
3584	YS9	Asia	Unknown	Baking
3585	273614N	Europe	Unknown	Clinical
3586	YIIc17_E5	Europe	Unknown	Fermentation
3587	322134S	Europe	Unknown	Clinical
3588	Y55	Europe	Unknown	Laboratory
3589	UWOPS83_787_3	Americas	Unknown	Wild
3590	SK1	Americas	Unknown	Laboratory
3591	BC187	Americas	WineEuropean	Fermentation
3592	YJM978	Europe	WineEuropean	Clinical
3593	YJM981	Europe	WineEuropean	Clinical
3594	YJM975	Europe	WineEuropean	Clinical
3595	DBVPG1373	Europe	WineEuropean	Wild
3596	DBVPG1106	Oceania	WineEuropean	Fermentation
3597	DBVPG6765	Unknown	WineEuropean	Unknown
3598	L_1374	Americas	WineEuropean	Fermentation
3599	L_1528	Americas	WineEuropean	Fermentation
3600	DBVPG6044	Africa	WestAfrican	Fermentation
3601	NCYC110	Africa	WestAfrican	Fermentation
3602	UWOPS03_461_4	Asia	Malaysian	Wild
3603	UWOPS05_217_3	Asia	Malaysian	Wild
3604	UWOPS05_227_2	Asia	Malaysian	Wild
3605	Y12	Africa	Sake	Fermentation
3606	YPS606	Americas	NorthAmerican	Wild
3607	YPS128	Americas	NorthAmerican	Wild

Supp Table 1: Strain code, name, origin, phylogenetic group, and habitat of the strains used. Extracted from table 1 of (Liti *et al.* 2009)

Chromosome	Tester	Interval	Lowest strain	Recombination rate cM/kbp	Highest strain	Recombination rate cM/kbp	*p*- value	Ratio
I	I-R2C3Y4	R2C3	UWOPS83_787_3	0.22	BC187	0.86	5.4e-09	3.84
		C3Y4	UWOPS87_2421	0.19	SK1	0.7	6.4e-07	3.77
VI	VI-C1Y2R3	C1Y2	YIIc17_E5	0.16	Y55	1.09	9.1e-08	6.81
		Y2R3	YIIc17_E5	0.18	Y55	0.66	3.1e-10	3.59
VI	VI-R3Y4C5	R3Y4	UWOPS83_787_3	0.13	Y55	0.39	2.2e-11	2.91
		Y4C5	YIIc17_E5	0.11	DBVPG6044	1.06	4.2e-08	9.46
XI	XI-R1C2Y3	R1C2			Not used			
		C2Y3	YIIc17_E5	0.21	Y12	0.94	7.6e-11	4.46
XI	XI-Y3R4C5	Y3R4	NCYC110	0.13	322134S	0.27	1.3e-09	2.03
		R4C5	YIIc17_E5	0.16	SK1	0.37	4.3e-07	2.32
XI	XI-R4C5Y6	R4C5	YIIc17_E5	0.16	SK1	0.38	5.4e-08	2.37
		C5Y6	YIIc17_E5	0.23	DBVPG6044	0.77	9.6e-11	3.29
XI	VI-Y6C7R8	Y6C7	YIIc17_E5	0.18	Y55	0.58	3.1e-11	3.24
		C7R8	YIIc17_E5	0.17	Y55	0.3	6.3e-09	1.78
XI	VI-R8Y9C10	R8Y9	YIIc17_E5	0.23	Y55	0.79	6.7e-10	3.4
		Y9C10	YIIc17_E5	0.24	DBVPG6044	0.79	3.0e-10	3.3

Supp Table 2: Diversity of recombination rate for each interval flanked by fluorescent markers. Lowest strain, highest strain: strains with lowest and highest recombination rates. *p*-value: *p*-value for strain effect (ANOVA). Ratio: ratio between recombination rates of the most and the least recombining strains for each interval.

Genome wide		All intervals		All intervals of a chromosome				Each interval		DSB hotspots within interval		30kb surrounding the interval	
R^2	*p* -value	R^2	*p* -value	Chromosome	R^2	*p* -value	Interval number	R^2	*p* -value	R^2	*p* -value	R^2	*p* -value
				I	0.22	0.034	1	0.24	0.023	0.01	0.66	0.05	0.33
							2	0.15	0.087	0.03	0.43	0.46	0.0007
				VI	0.62	1,00E-05	3	0.74	0	0.44	0.0007	0.53	0.0001
							4	0.26	0.016	0.18	0.045	0.38	0.002
							5	0.04	0.38	0.22	0.029	0.04	0.38
							6	0.45	0.0006	0.34	0.004	0.05	0.34
				XI	0.19	0.044	7	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0.54	9.5e-05	0.43	9.00e-04				8	0.01	0.6	0.07	0.23	0.15	0.071
							9	0.03	0.42	0.24	0.019	0.02	0.52
							10 / 11	0.28	0.01	0.02	0.56	0.01	0.73
								0.24	0.02	0,01	0.70	0.01	0.54
							12	0.48	0.0003	0.64	8,00E-06	0.13	0.103
							13	0.69	3,00E-06	0.25	0.022	0.33	0.0065
							14	0.17	0.064	0.18	0.053	0	0.88
							15	0.43	0.0016	0.29	0.014	0.54	0.0002
							16	0.16	0.08	0.3	0.011	0.06	0.306

Supp Table 3: Correlation between recombination rate and sequence similarity at different scales. Genome-wide: considering average genome-wide sequence similarity with recombination rate averaged over all intervals. All intervals: considering average sequence similarity within all intervals with recombination rate averaged over all intervals. All intervals of a chromosome: same as before, but for each chromosome separately. Each interval: considering sequence similarity and recombination rate within each interval. DSB hotspots within interval: considering sequence similarity within DSB-rich regions in each interval with recombination rate in the corresponding interval. 30Kb surrounding the interval: considering sequence similarity in 30kb flanking sequences outside each interval on both sides, with recombination rate in the interval.

Cross	Y (cM)	μ	αS	GCA		SCA/INB	Residuals (cM)
				P1	P2		
SK1 X SK1	42.6		44.44	-3.2	-3.2	-36.67	0.17
YPS128 X YPS128	55.7	41.4	44.44	-3.4	-3.4	-23.28	0.02
SK1 X YPS128	38.1		1.11	-3.2	-3.4	1.94	-0.25

Supp Table 4: Measured recombination rate (Y), and estimated values of the diallele model parameters (see text). SCA/INB: value of SCA for the hybrids or INB for the homozygotes.

Quatrième partie

4 Conception et préparation d'une expérience de sélection récurrente sur le taux de recombinaison

Cette partie de mon manuscrit décrit les premières étapes d'un projet qui est en cours et continuera après ma soutenance de thèse. J'ai choisi de présenter ce chapitre à la manière d'un projet de recherche, d'où le rappel de certains points déjà présentés dans l'introduction de la thèse.

4.1 Introduction

Le changement climatique en cours risque fort d'être accompagné d' une baisse des rendements pour de nombreuses cultures (Hawkins *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2016), ainsi qu'une réorganisation des relations hôte-pathogène rendant les cultures beaucoup plus sensibles aux attaques (Garrett *et al.*, 2006). De plus, les agronomes, statisticiens et économistes s'accordent pour reconnaître une stagnation actuelle des rendements (Brisson *et al.*, 2010; Ray *et al.*, 2012). Pourtant, si l'on veut couvrir les besoins alimentaires d'une population grandissante, la productivité doit augmenter à un taux plus important que dans le passé (Garrett *et al.*, 2006). L'agriculture moderne doit donc répondre à de nombreux enjeux tels que d'assurer les approvisionnements alimentaires futurs tout en réduisant les impacts sur l'environnement. Afin de relever ces défis, une connaissance la plus exhaustive possible de l'organisation du génome des plantes, de leur fonctionnement et de leur diversité est nécessaire. La génomique a un rôle central pour l'amélioration de la productivité des espèces agricoles, par exemple en détectant les variations génétiques permettant l'augmentation des performances des plantes. Les avancées récentes en séquençage et assemblage des génomes permettent aujourd'hui d'avoir accès aux génomes des plantes cultivées. Elles ont révélé une large gamme de variations génétiques et ont permis de conduire des études d'associations avec divers caractères d'intérêt agronomique. En combinaison avec le phénotypage automatique et les analyses de génomique fonctionnelle, les avancées réalisées fournissent de nouveaux éléments qui pourront permettre une amélioration de l'agriculture.

Ainsi, de nombreuses études ont pour but d'identifier les facteurs génétiques (ou au moins les *régions* génomiques, appelées QTL pour « quantitative trait locus ») qui contrôlent des caractères d'intérêt agronomique. Ces travaux peuvent être conduits en étudiant la descendance de croisements contrôlés (études de type « linkage »), ou en utilisant une collection d'individus non apparentés (études de type « association »). Lors de ces études, l'objectif est d'identifier des régions génomiques dont le polymorphisme est associé à la variation d'un caractère d'intérêt. La localisation des QTL consiste dans un cas comme dans l'autre à identifier la plus petite région possible associée au caractère, typiquement délimitée de chaque côté par un point de recombinaison dans la population. Ces recombinaisons se sont produites lors des méioses, soit pendant la construction de la population de cartographie (études de

type « linkage »), soit tout au long de la généalogie des individus constituants la collection (études de type « association »). La précision de l'approche dépend essentiellement du nombre de points de recombinaison. En pratique, la précision de la localisation des QTL dépend également de différents facteurs qui sont : le nombre d'individus étudiés, la précision du génotypage, et la fréquence des différents allèles dans la population étudiée. Dans le cadre de l'amélioration génétique, ce travail de détection de QTL est suivi par la mise en œuvre de stratégies de sélection, dont le rôle est de combiner les allèles favorables à différents QTL. Le génotypage haut débit et les études basées sur des croisements multiparentaux ont permis de gagner en précision sur le positionnement des QTL. Cependant, de larges zones des génomes ne sont pas ou très peu soumises au phénomène de recombinaison méiotique (par exemple les régions péri-centromériques chez le maïs). La détection précise des QTL dans ces zones pose donc un énorme problème puisque ces régions se présentent sous forme de blocs haplotypiques dans lesquels il est impossible de localiser plus finement les QTL. De même, il est très difficile, en sélection, de casser des combinaisons alléliques dans ces régions ou de créer de nouvelles combinaisons favorables d'allèles situés dans des régions peu recombinantes.

Bien que les événements de recombinaisons soient au cœur des études conduites pour identifier les QTL et essentiels au travail d'amélioration génétique des plantes, les connaissances sur le déterminisme génétique de la recombinaison font cruellement défaut. Même si des travaux récents ont permis de décrire des méthodes pour faire varier le niveau de recombinaison chez certaines espèces d'intérêt agronomique (Fernandes *et al.*, 2018b; Marimuthu *et al.*, 2011; Pelé *et al.*, 2017b; Serra *et al.*, 2018), les connaissances limitées sur le déterminisme génétique de la recombinaison ne permettent pas d'explorer pleinement cette voie. Une meilleure connaissance dans ce domaine pourrait permettre de contrôler le nombre et la distribution des CO dans les régions faiblement recombinantes des génomes, permettant non seulement de détecter les QTL plus finement, mais aussi de sélectionner plus efficacement les individus cumulant les allèles favorables en amélioration génétique des plantes.

Nos connaissances actuelles sur les mécanismes moléculaires et sur la régulation de la recombinaison sont issues de différentes approches. (1) Les études de génétique directe visent, pour un phénotype mutant donné, à identifier le gène responsable de ce phénotype. En génétique inverse, on étudie la fonction d'un gène par l'observation des mutants correspondants. Ces deux méthodes, bien que puissantes, ont certaines faiblesses. Dans les deux cas, l'étude du processus biologique se fait par l'intermédiaire de mutants chez lesquels on ne sait pas dans quelle mesure le phénotype observé n'est pas biaisé par le génotype extrême de ces individus. De plus, avec ce type d'étude, les seuls gènes étudiés

sont ceux qui, une fois mutés, conduisent à un phénotype suffisamment différent du génotype sauvage pour être décelable dans un criblage à haut débit. Enfin, ces études sont réalisables uniquement pour les espèces modèles chez lesquelles on dispose de ressources de mutants. (2) Les études d'association explorent quant à elles les variations de fréquence des différents allèles le long du génome dans une population d'individus non apparentés. Ainsi, il est possible de détecter par étude d'association les corrélations entre la présence d'un allèle particulier à un certain locus chez les individus de la population, avec la valeur d'un caractère. Ces travaux permettent alors d'identifier les gènes ou QTL ayant une influence possible sur le phénotype. Grâce aux progrès de séquençage, les études d'association peuvent être réalisées sur l'ensemble du génome avec une précision de détection relativement fine, ce qui est regroupé sous le terme « Genome Wide Association Studies » (Bevan *et al.*, 2017). Il est également possible par étude d'association de détecter les réarrangements structuraux du génome corrélés avec la variation d'un caractère (Chaney *et al.*, 2016). (3) Certaines études sont conduites sur des populations particulières de type « Nested Association Mapping » (NAM) permettant de combiner les avantages du déséquilibre de liaison apporté par les événements de recombinaison récents et les avantages des études d'association basées sur le déséquilibre de liaison dû aux recombinaisons anciennes (McMullen *et al.*, 2009). Ce type de croisement étant réalisé à partir d'individus avec une large diversité génétique, il est possible de détecter et localiser finement des QTL. Cette méthodologie a déjà été appliquée sur une population NAM de blé et de maïs afin d'étudier l'architecture génétique de la recombinaison (Jordan *et al.*, 2018; McMullen *et al.*, 2009). La variation du taux de recombinaison est le résultat de rares allèles avec un effet faible expliquant tout de même presque la moitié de la variation observée. La majorité des QTL détectés sont additifs et ont un effet à distance sur le génome (effet en *trans*).

Cependant, les études d'association nécessitent de génotyper et phénotyper un grand nombre d'individus ce qui est problématique dans le cas de la recombinaison, les méthodes de phénotypage de la recombinaison posent en effet de nombreux problèmes pratiques et se font donc généralement à faibles effectifs. (4) Enfin, il est possible d'étudier l'évolution d'un caractère dans une population soumise à une pression de sélection artificielle lors de cycles de sélection. Ainsi, les individus présentant les allèles responsables de certaines valeurs du caractère sélectionné vont voir leur fréquence augmenter ou diminuer dans la population. Les zones du génome montrant des différences de fréquences entre la population avant sélection et la population après sélection correspondent alors possiblement à des QTL ayant un rôle dans la variation du caractère étudié. La pression de sélection peut être soit appliquée directement sur le caractère dont on souhaite étudier la réponse, soit appliquée

indirectement en étudiant la réponse d'autres caractères. Ainsi, quelques travaux ont étudié l'évolution de la recombinaison en réponse à des pressions de sélection indirectes. Chez la drosophile, dans une expérience de sélection basée sur le nombre de soies, le niveau de recombinaison dans deux paires d'intervalles entre marqueurs situés sur les chromosomes 2 et 3 augmente, et ce pour les deux directions de sélection (positive ou négative) alors que la recombinaison semble être réduite dans le témoin sans sélection (Rodell *et al.*, 2004). De même, en réponse à une sélection faite sur différents stress (dessiccation, hypoxie, hyperoxie) chez la drosophile, le taux de recombinaison augmente jusqu'à 50% dans certains intervalles, l'interférence étant relaxée montrant même une interférence négative apparente (Aggarwal *et al.*, 2015). Ces deux expériences suggèrent qu'une élévation du niveau de recombinaison génétique pourrait permettre une augmentation de valeur sélective dans le contexte d'un changement d'environnement. Le niveau de recombinaison pourrait ensuite revenir à un niveau de base une fois la population adaptée (réduction de la recombinaison en l'absence de sélection). En modulant le niveau de recombinaison et donc la vitesse à laquelle la diversité est produite, les populations augmenteraient ainsi leur adaptabilité à long terme. Le taux de recombinaison peut également répondre à une pression de sélection directe. Chez la drosophile, une expérience de sélection sur le taux de recombinaison entre deux gènes situés sur le chromosome sexuel montre une diminution continue du taux de recombinaison, de 15.4% à 8.5% après 33 générations dans le cas d'une sélection vers un taux de recombinaison bas, et une augmentation continue au cours des générations, de 15.4% à 22.1%, dans le cas d'une sélection vers une recombinaison élevée (Chinnici, 1971). Dans une autre étude, en sélectionnant des femelles sur le taux de recombinaison, celui-ci passe de 14.8% à 30% en 12 générations, atteignant alors un plateau, le mode de sélection pour une recombinaison faible ne montrant pas de réponse à la sélection (Kidwell, 1972). Toujours chez la drosophile, dans une expérience de sélection directe sur le taux de recombinaison entre deux paires de marqueurs situés sur le chromosome 3 de la femelle, le taux de recombinaison dans la première paire de marqueurs passe de 13% à 22% (Charlesworth and Charlesworth, 1985a). Les trois chromosomes autosomiques contribuent à cette différence de taux de recombinaison, le chromosome 3 portant au moins deux QTL de recombinaison (Charlesworth and Charlesworth, 1985b). Ces résultats confirment que le taux de recombinaison est un caractère qui répond à la sélection qu'elle soit directe ou indirecte. La réponse du caractère à la sélection étant continue, ce caractère peut être contrôlé par un grand nombre de gènes (contrôle multigénique) et/ou par une gamme d'allèles à un locus dans la population. De plus, le plafonnement de la recombinaison observé suggère que la sélection agit contre un taux de

recombinaison trop élevé, les individus trop recombinants étant alors contre-sélectionnés. La contre-sélection des individus trop recombinants pourrait être due au fait que trop de recombinaison briserait les combinaisons favorables d'allèles chez ces individus et ainsi abaisserait leur valeur génétique. Les différents mécanismes moléculaires permettant de réguler la recombinaison (*cf* introduction du manuscrit) pourraient ainsi être sélectionnés en fonction de leur efficacité à réguler la recombinaison. A l'inverse, l'absence de réponse à la sélection vers une recombinaison faible pourrait être le fait que des individus trop peu recombinants seraient contre-sélectionnés car il leur manquerait le CO obligatoire.

Cependant, les études de la réponse de la recombinaison à une pression de sélection directe ou indirecte souffrent souvent d'un manque de puissance. En effet, tout comme avec les techniques de génétique directe ou inverse, il est nécessaire dans le cas d'expériences de sélection directe sur le taux de recombinaison, d'être en mesure de sélectionner un très grand nombre d'individus selon leur phénotype (c'est-à-dire le nombre de CO) ce qui est très difficile aujourd'hui. Les rares expériences d'évolution dirigée ciblées sur le taux de recombinaison sont réalisées sur des échantillons très restreints représentant une très faible diversité génétique. Or, dans ce type d'expériences il est essentiel d'utiliser un matériel biologique présentant la plus grande diversité possible. En effet, une grande diversité génétique est essentielle pour une analyse fine des déterminants génétiques contrôlant le caractère.

Nous avons précédemment développé une méthode permettant le phénotypage à haut débit de la recombinaison chez la levure *S. cerevisiae* (Raffoux *et al.*, 2018). En complétant cette approche par une étape de tri cellulaire, nous sommes capables de sélectionner à haut débit les spores, en fonction du niveau de recombinaison de leur cellule mère dans un intervalle donné. Nous sommes donc aujourd'hui en mesure de conduire une expérience de sélection récurrente directe sur le taux de recombinaison méiotique chez *S. cerevisiae*, et ceci à large échelle, aussi bien en termes de nombre d'individus qu'en termes de diversité génétique soumise à sélection si l'on choisit une population appropriée.

Pour cela, nous utiliserons une population mosaïque de 10^9 individus déjà obtenue par intercroisements répétés entre quatre souches représentant une grande partie de la diversité de l'espèce (Cubillos *et al.*, 2013a). Nous croiserons cette population avec un de nos huit testeurs fluorescents (Raffoux *et al.*, 2018), puis nous soumettrons la population d'hybrides obtenus à dix cycles de sélection, en ne conservant à chaque génération que les individus ayant recombiné (sélection positive) ou n'ayant pas recombiné (sélection négative) entre les marqueurs fluorescents. L'utilisation du cytomètre trieur nous permettra de travailler avec un grand nombre d'individus ($> 10^6$) limitant ainsi les éventuels effets de dérive génétique, ce qui permettra de conserver un niveau élevé de diversité génétique. Nous mesurerons

ensuite le niveau de recombinaison et d'interférence sur les 14 régions du génomes couvertes par la méthode que nous avons mise au point précédemment (Raffoux *et al.*, 2018), et ceci à chaque génération et pour chaque type de sélection (négative, neutre, positive).

Ces données nous permettront d'étudier la réponse à la sélection (pour le taux de recombinaison sur un intervalle) du taux de recombinaison et de l'interférence, d'une part dans l'intervalle soumis à sélection, et d'autre part sur d'autres régions du génome (chromosomes complets VI et XI et une partie du chromosome I). Enfin, nous séquencerons à grande profondeur la population initiale et les populations évoluées obtenues après sélection positive, neutre ou négative, afin de détecter des régions du génome montrant des différences de fréquence allélique entre ces populations, régions qui devraient correspondre à des QTL de recombinaison. Étant donné la très grande taille de la population, la résolution de cette détection devrait permettre d'identifier directement des gènes candidats. Ce travail inédit contribuera à mieux comprendre les mécanismes fondamentaux de la recombinaison méiotique et de sa régulation en identifiant les gènes et allèles responsables de variations du taux de recombinaison.

4.2 Le matériel biologique adapté à ce projet est disponible

4.2.1 La population soumise à sélection

La population « Saccharomyces Genome Resequencing Project » (SGRP)-4X est le produit d'un intercroisement entre quatre souches de levure *S. cerevisiae* représentatives de la diversité de l'espèce (**Figure 1**). Il s'agit des souches YPS128, DBVPG6044, Y12 et DBVPG6765, appartenant respectivement aux groupes phylogénétiques North American (NA), West African (WA), Sake (SA) et Wine/European (WE). Ces souches ségrègent pour 64% des SNP précédemment décrits (Liti *et al.*, 2009). Elles ont été très bien caractérisées génétiquement (Liti *et al.*, 2009) , phénotypiquement (Warringer *et al.*, 2011) et ont déjà été utilisées en croisement à deux parents dans des expériences de détection de QTL (Cubillos *et al.*, 2011b; Parts *et al.*, 2011; Salinas *et al.*, 2012). Chacun des quatre parents a été reséquencé et les assemblages contiennent plus de 95% de la séquence de chacune des souches. Aucun variant structural n'a été trouvé entre ces souches, ce qui en fait de bons candidats à l'intercroisement.

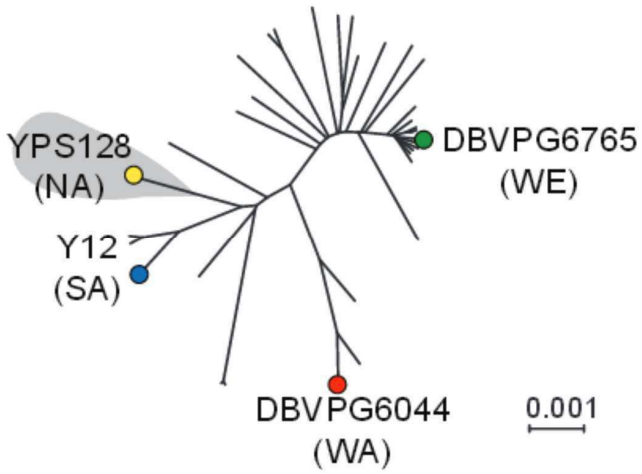


Figure 1: Diversité génétique des quatre souches utilisées.

Arbre phylogénétique des souches séquencées dans le projet SGRP (Liti *et al.*, 2009). La couleur des points représente l'origine géographique (vert: Afrique, rouge: Amérique, bleu: Europe et jaune: Asie). Souches YPS128, DBVPG6044, Y12 et DBVPG6765, appartenant respectivement aux groupes phylogénétiques North American (NA), West African (WA), Sake (SA) et Wine/European (WE). Figure extraite de (Cubillos *et al.*, 2013b).

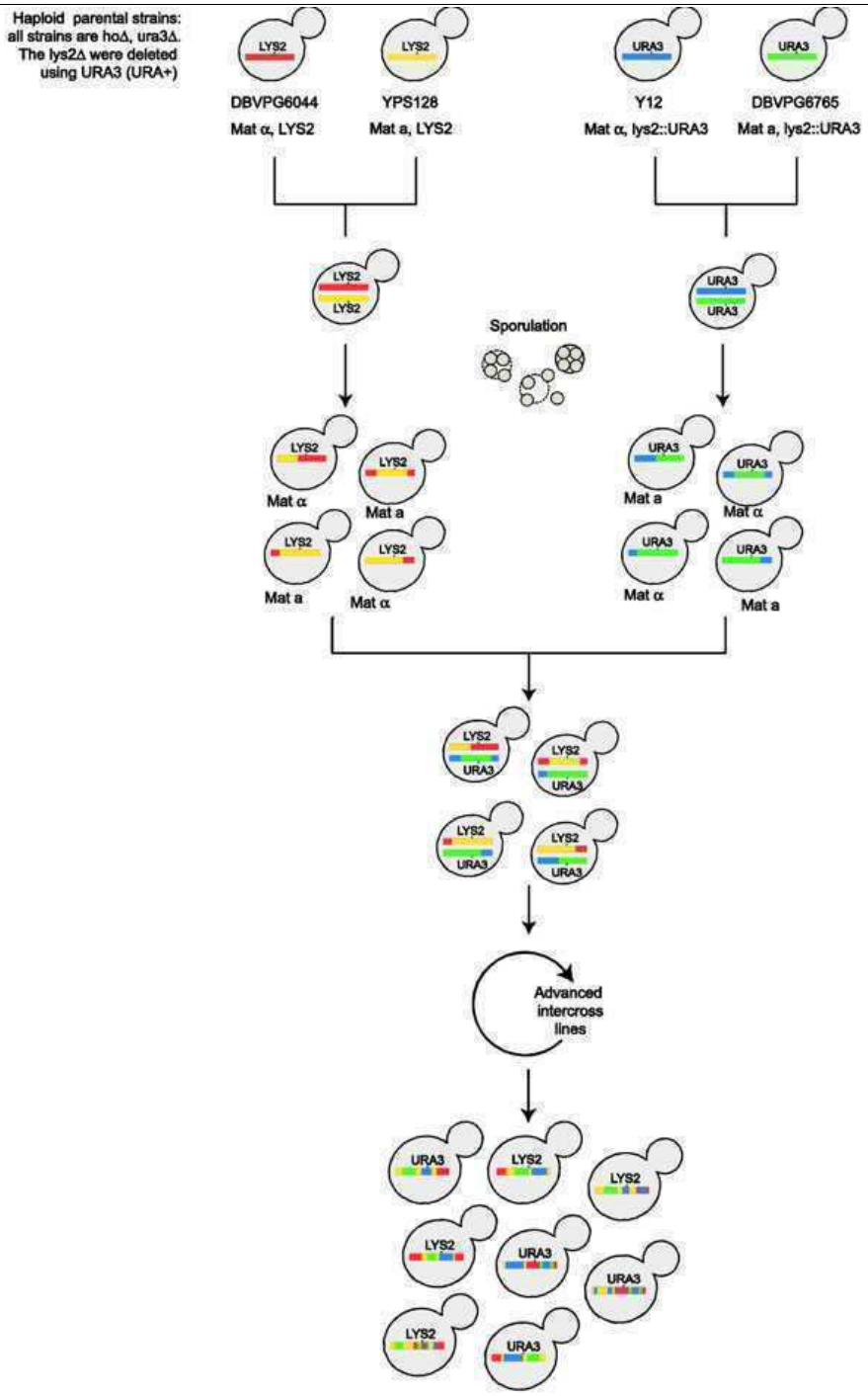


Figure 2: Plan de croisement utilisé pour construire la population SGRP-4X

Figure extraite de (Cubillos *et al.*, 2013b).

Les souches YPS128 et DBVPG6044 (*ho::HygMX, ura3::KanMX*), ont étés croisées pour former des hybrides F1 et il en a été de même avec les souches , Y12 et DBVPG6765 (*ho*::*HygMX, ura3::KanMX, lys2::URA3*). Après préparation des spores (Parts *et al.*, 2011), des spores issues de chacun de ces deux hybrides ont été mélangées en quantités égales et les hybrides quatre voies ont été sélectionnés sur des milieux spécifiques pour avoir une contribution génétique de chacun des quatre parents. Après sporulation des hybrides quatre voies et panmixie, les diploïdes ont été sélectionnés pour constituer ainsi la population de troisième génération. Cette procédure (sporulation des diploïdes, préparation des spores, panmixie, sélection des diploïdes) a été répétée 11 fois pour créer une population de génération 12 (F12) formée de plus de 10 millions de ségrégants (**Figure 2**). La majorité du génome de chacun des quatre parents est en principe représentée de façon égale dans la population F12, soit une fréquence attendue de 25% de chaque parent en l'absence de sélection. L'étude génétique de 192 spores issues de la population F12 a montré que chaque génome est découpé en blocs haplotypiques provenant de l'un des parents, avec en moyenne 374 blocs d'une taille de 23kb. Du fait de la taille de population très grande, la perte de diversité par dérive génétique est quasiment nulle (Cubillos *et al.*, 2013a). Les sites en ségrégation sont uniformément répartis sur le génome et les profils de recombinaison sont semblables à ceux connus chez *S. cerevisiae*, avec un niveau de recombinaison plus faible près des centromères. Dans ces régions, le taux de recombinaison est égal à 65% du taux moyen calculé sur le génome (Illingworth *et al.*, 2013). Le phénotypage des capacités de croissance mitotique dans différents environnements des 179 ségrégants montre que les cycles d'intercroisement réalisés n'ont pas eu d'impact sur la fitness, et n'ont pas imposé de pression de sélection particulière. Une détection de QTL a permis d'identifier 6, 16 et 3 régions impliquées respectivement lors de la réponse à l'exposition à la chaleur, à l'arsenic et au paraquat. La taille moyenne de ces QTL est de 27.8kb. Dans la plupart des cas, les régions détectées contiennent un gène déjà identifié comme important dans l'environnement concerné (Cubillos *et al.*, 2013a).

Cette population de ségrégants est donc un matériel biologique tout à fait adapté aux expériences de détection de QTL après une phase de sélection, comme déjà réalisé pour différents caractères (Cubillos *et al.*, 2013a, 2017).

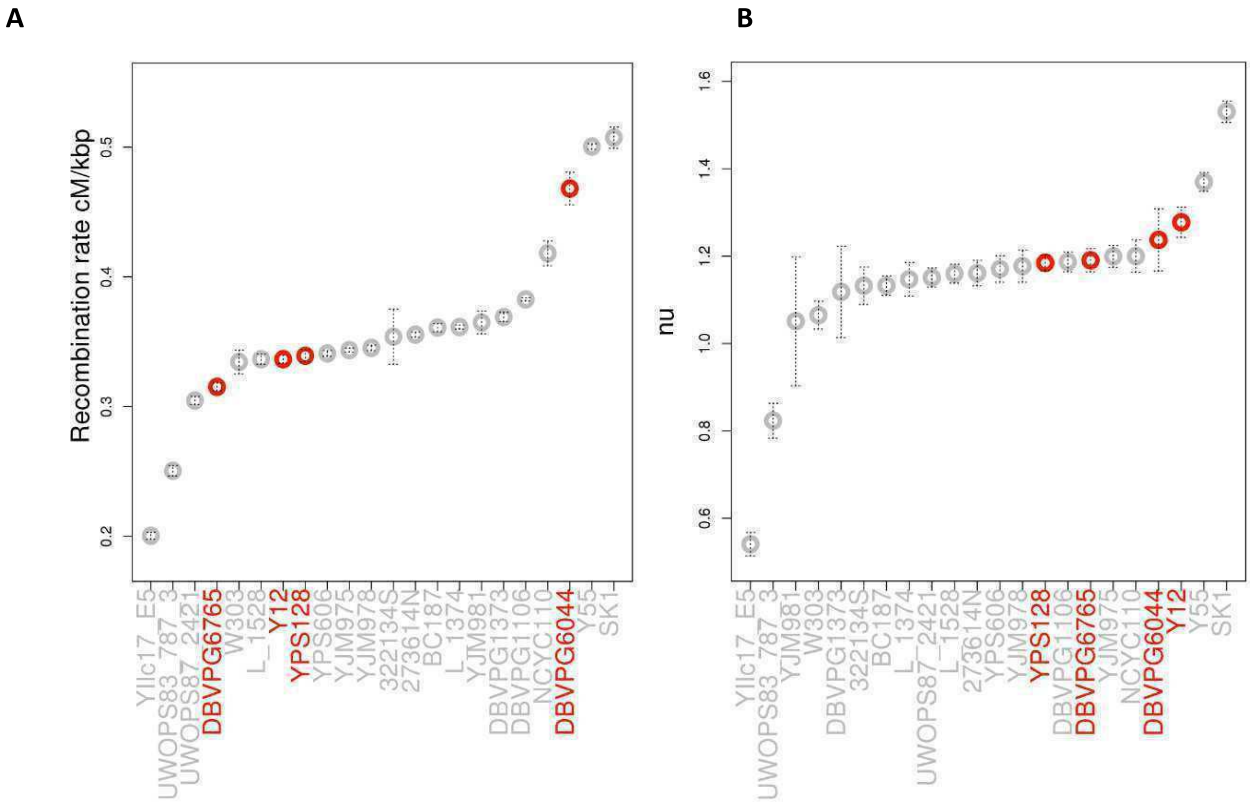


Figure 3 Panel A: Diversité du taux de recombinaison.

Moyenne du taux de recombinaison sur les 14 intervalles, pour chaque souche de la collection SGRP croisée avec les testeurs SK1. Les barres d'erreur indiquent l'interval de confiance à 95% basé sur quatre réplicas biologiques. Les quatre souches parentes de la population SGRP-4X sont indiquées en rouge.

Figure 3 Panel B: Diversité de l'interférence

Diversité de la force d'interférence mesurée par le paramètre *ν* (nu) de la loi gamma. Axe-x: nom de la souche croisée avec les testeurs SK1, axe-y: valeur moyenne du paramètre *ν* pour les sept testeurs. Les barres d'erreur indiquent l'intervalle de confiance à 95% basé sur quatre réplicas biologiques. Les quatre souches parentes de la population SGRP-4X sont indiquées en rouge.

Notre objectif est de conduire une expérience de détection de QTL après sélection sur le taux de recombinaison, en utilisant pour cette sélection les souches fluorescentes que nous avons précédemment construites (Raffoux *et al.*, 2018). Pour cela, il est essentiel de vérifier que la population SGRP-4X est un matériel bien approprié en vérifiant les points suivants: (1) les quatre souches parentes de la population SGRP-4X doivent pouvoir être croisées avec les souches « testeurs » fluorescentes de fond génétique SK1, et (2) le niveau de recombinaison doit présenter une certaine diversité entre les quatre souches fondatrices de la population pour qu'il existe de la diversité génétique pour la recombinaison dans la population.

Le paragraphe suivant présente donc les résultats obtenus en utilisant notre méthode de mesure à haut débit de la recombinaison (Raffoux *et al.*, 2018) sur les hybrides formés par chacune des quatre souches parentales de la population SGRP-4X, croisées avec chacun des huit testeurs fluorescents permettant de mesurer la recombinaison sur le chromosome I partiellement et sur la totalité des chromosome VI et XI. Le taux de sporulation après 10 jours des quatre hybrides (SK1-XI-R1C2Y3) × YPS128, DBVPG6044, Y12, et DBVPG6765 est respectivement de 51%, 63%, 47% et 54%. Le taux de viabilité des spores issues de ces hybrides est respectivement de 57%, 71%, 68% et 62% (les taux de sporulation et de viabilité des spores sont de bons indicateurs pour vérifier la progression correcte de la méiose). Dans le cas des quatre souches fondatrices de la population SGRP-4X, ces taux sont dans la moyenne de ceux obtenus avec une collection de 26 souches représentatives de la diversité de l'espèce (*cf* troisième partie) et sont le reflet d'une progression de méiose normale. Chacune des quatre souches peut donc être croisée avec les testeurs de fond génétique SK1 qui va être utilisés dans notre expérience de sélection récurrente. Le taux de recombinaison moyen mesuré sur les huit testeurs est respectivement de 0.34cM/kb, 0.47cM/kb, 0.34cM/kb et 0.31cM/kb. Ces valeurs de recombinaison sont représentatives de la diversité du taux de recombinaison mesuré chez l'espèce (**Figure 3 Panel A**). Le paramètre *v* (nu) de la loi gamma mesurant la force de l'interférence est respectivement de 1.18, 1.23, 1.27 et 1.19 (**Figure 3 Panel B**). Enfin, pour ce qui concerne la corrélation entre le taux de recombinaison moyen sur l'ensemble des intervalles étudiés et la similarité de séquence, les quatre souches représentent bien la diversité de l'espèce (**Figure 4**).

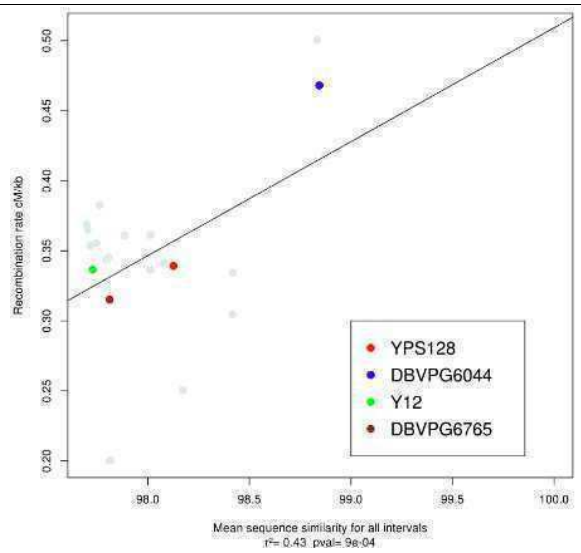


Figure 4: Corrélation entre homologie de séquence et taux de recombinaison.

Corrélation entre la similarité de séquence (moyenne sur tous les intervalles) et le taux de recombinaison moyen des hybrides obtenus en croisant une souche de la collection SGRP avec les huit testeurs SK1 fluorescents. Les quatre souches fondatrices de la population SGRP-4X sont indiquées en couleur.

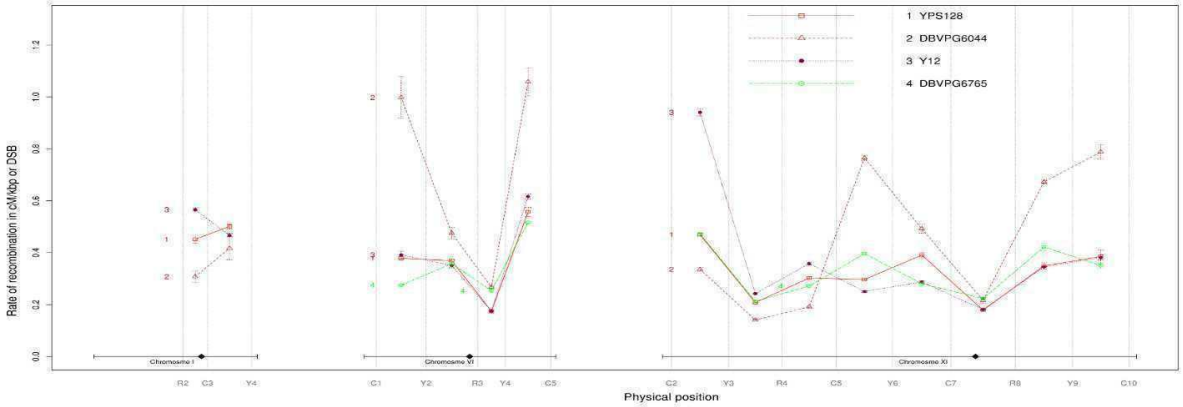


Figure 5 : Profil de recombinaison le long des chromosomes

Taux de recombinaison en cM/kb le long des chromosomes pour les hybrides entre SK1 et les souches YPS128, DBVPG6044, Y12 et DBVPG6765, parents de la population SGRP-4X. Les barres d'erreur indiquent l'intervalle de confiance à 95% basé sur quatre réplicas biologiques. Les lignes verticales en pointillé indiquent la position des marqueurs fluorescents. Les lignes horizontales indiquent la position des chromosomes avec les losanges noirs indiquant l'emplacement des centromères.

Chromosome	Testeur	Intervalle	Variance
I	I-R2C3Y4	R2C3	0.017
		C3Y4	0.001
VI	VI-C1Y2R3	C1Y2	0.108
		Y2R3	0.003
VI	VI-R3Y4C5	R3Y4	0.002
		Y4C5	0.063
XI	XI-R1C2Y3	R1C2	NA
		C2Y3	0.070
XI	XI-Y3R4C5	Y3R4	0.002
		R4C5	0.005
XI	XI-R4C5Y6	R4C5	0.062
		C5Y6	0.054
XI	VI-Y6C7R8	Y6C7	0.010
		C7R8	0.0005
XI	VI-R8Y9C10	R8Y9	0.024
		Y9C10	0.043

Tableau 1 : Variance du taux de recombinaison des souches fondatrices de la population SGRP-4X

Les quatre souches fondatrices de la population SGRP-4X présentent des différences de recombinaison entre elles, sont bien représentatives de la diversité de la recombinaison de l'espèce, et enfin, la similarité de séquence de ces souches avec la souche SK1 montre de la diversité qui est, elle aussi, représentative de la diversité de l'espèce.

4.2.2 Appliquer une pression de sélection sur le niveau de recombinaison

Parmi les testeurs produits lors de mon travail de thèse, un des huit sera croisé avec la population SGRP-4X afin de produire des diploïdes soumis ensuite à pression de sélection. Cette pression de sélection se fera en conservant à chaque génération uniquement les individus, (1) ayant recombinés entre deux marqueurs du testeur choisi « sélection positive », (2) n'ayant pas recombiné entre ces deux marqueurs « sélection négative », (3) pris au hasard « sélection neutre ». Dans ce type d'expérience, il est préférable de choisir un phénotype présentant le plus de variance possible, permettant ainsi une meilleure réponse à la sélection. Nous devons donc choisir, parmi les 14 intervalles couverts par nos huit testeurs, celui qui montre le plus de variance avec les quatre génotypes composant la population SGRP-4X. Nous avons ainsi choisi l'intervalle compris entre les marqueurs C1 et Y2 du chromosome VI (**Tableau 1**) (**Figure 5**) en utilisant donc le testeur VI-C1Y2R3 (voir Raffoux *et al.*, 2018), qui sera croisé avec la population initiale SGRP-4X.

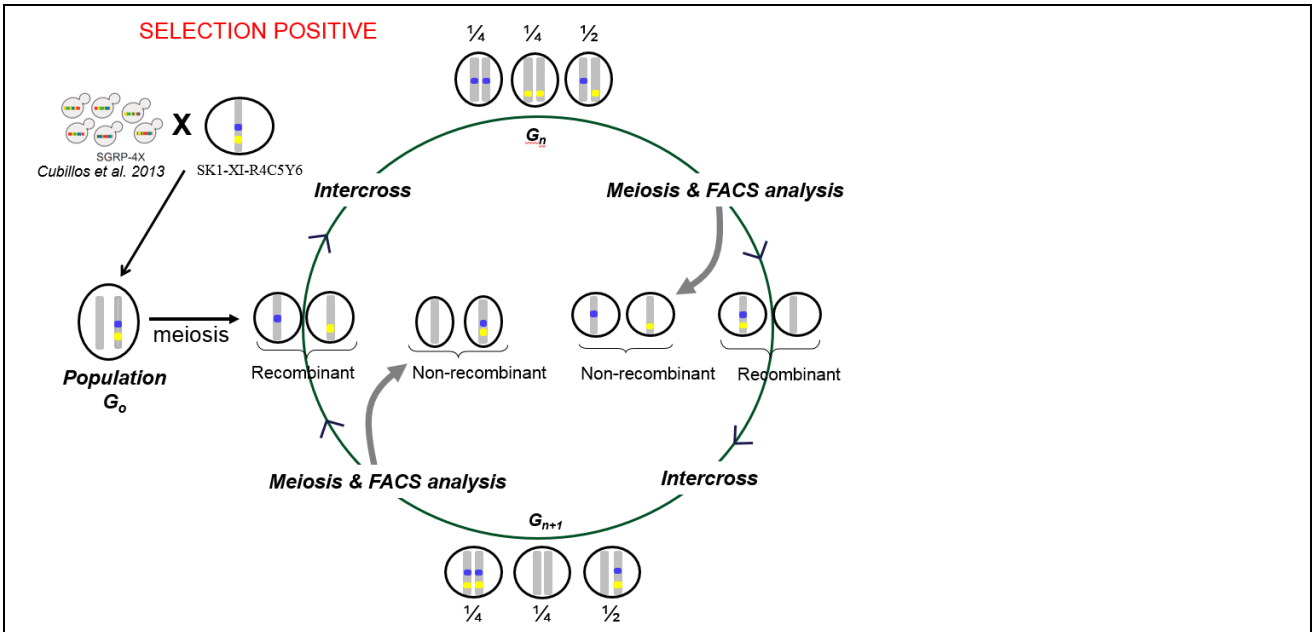


Figure 6: Schéma des cycles de sélection positive pour le taux de recombinaison

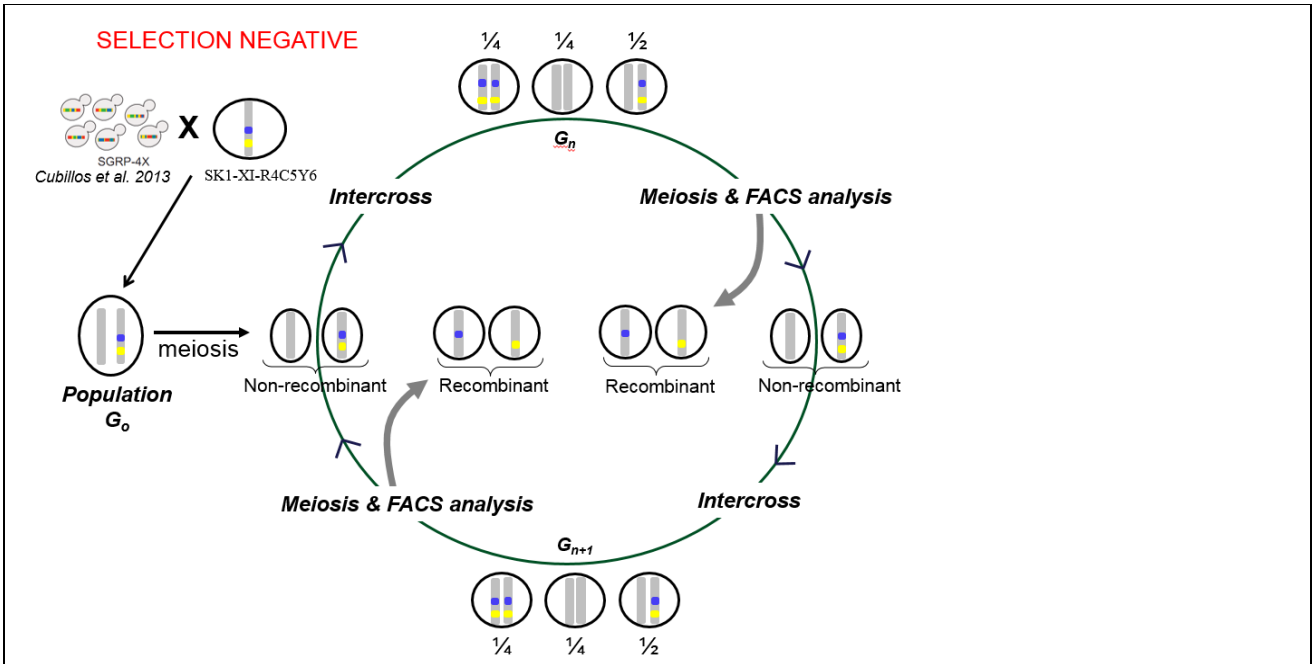


Figure 7: Schéma des cycles de sélection négative pour le taux de recombinaison

4.2.3 Préparer la population aux cycles de sélection

En préambule aux cycles de sélection, la population SGRP-4X diploïde (ura3::kanMX, ho::Hygro, lys2 ::URA3 ou ura3::kanMX ho::Hygro) sera mise à sporuler. Après préparation (voir M&Ms, Raffoux *et al.*, 2018), nous obtiendrons une suspension de spores (½ ura3::kanMX ho::Hygro lys2 ::URA3 et ½ ura3::kanMX ho::Hygro). Ces spores seront croisées avec le testeur SK1- VI-C1Y2R3 (mat α, ho, ura3, kanMX, NatMX) sur milieu complet puis les diploïdes seront sélectionnés sur milieu –URA –LYS + NAT, formant ainsi la population G_0.

4.3 Description des cycles de sélection

Dans l'article présentant la méthode de mesure à haut débit de la recombinaison, nous avons montré qu'il est possible de trier des spores en fonction de leur profil de fluorescence (tri de spores double recombinantes, Raffoux *et al.*, 2018). Nous appliquerons donc la même méthode avec le même matériel afin de sélectionner à haut débit les spores selon leur fluorescence.

Dans le cas de la sélection positive (**Figure 6**), parmi les spores issues de la méiose de la population G_0, seules seront sélectionnées celles ayant recombiné entre les marqueurs fluorescents C1 et Y2, c'est-à-dire les spores qui fluorescent en cyan uniquement (Cerulean) ou en jaune uniquement (Venus). Ces spores seront intercroisées en panmixie pour conduire à la population diploïde G_1. Parmi les spores issues des diploïdes G_1, seules seront sélectionnées celles ayant recombiné entre les marqueurs fluorescents C1 et Y2, c'est-à-dire les spores (issues de la moitié des diploïdes G_1 correspondant aux individus hémizygotes pour les deux marqueurs) qui fluorescent à la fois en cyan (Cerulean) et en jaune (Venus) ou ni dans l'un ni dans l'autre. Ces spores seront intercroisées en panmixie pour conduire à la population diploïde G_2. Parmi les spores issues des diploïdes G_2, seules seront sélectionnées celles ayant recombiné entre les marqueurs fluorescents C1 et Y2, c'est-à-dire les spores (issues de la moitié des diploïdes G_2 correspondant aux individus hémizygotes pour les deux marqueurs) qui fluorescent en cyan uniquement (Cerulean) ou en jaune uniquement (Venus). A ce stade, après donc deux générations de sélection, la situation est la même qu'après tri des spores issues de la population G_0. Les cellules issues des spores seront ensuite intercroisées en panmixie pour conduire à la population diploïde G_3, et ainsi de suite selon le schéma de la **figure 6**. Concernant la sélection négative, la méthodologie sera similaire à celle décrite précédemment mais selon le schéma de la **figure 7**. Il existe une difficulté supplémentaire avec cette sélection puisque parmi les diploïdes des générations G_n, les ¼ homozygotes pour les deux

marqueurs et les ¼ sauvages produisent des spores qui seront sélectionnées comme « non recombinantes », et cela indépendamment de la recombinaison. La pression de sélection négative, imposée uniquement sur la moitié des diploïdes G_n étant hémizygotes pour les deux marqueurs sera donc moindre que celle imposée en sélection positive. Dans le cas de la sélection neutre, les cycles de sélection se feront comme précédemment, avec une sélection des spores indépendante de la fluorescence. Toutes ces expériences feront l'objet de quatre réplicas afin d'explorer éventuellement des trajectoires évolutives différentes dues aux recombinaisons pendant les cycles de sélection, ou dues à de la mutation.

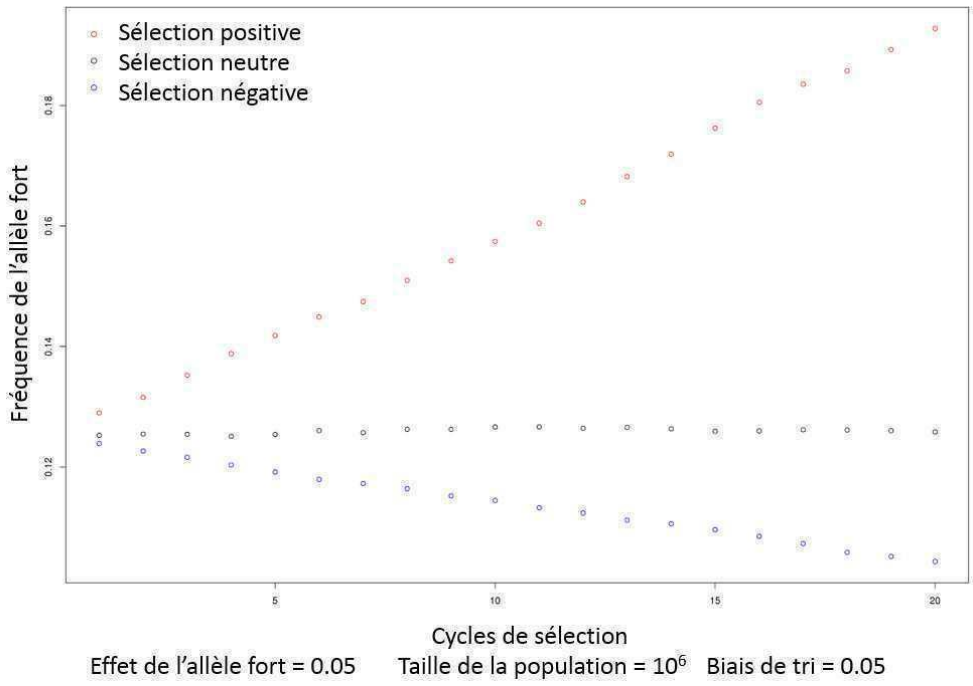


Figure 8: Simulation de sélection positive avec un QTL d'effet 5%

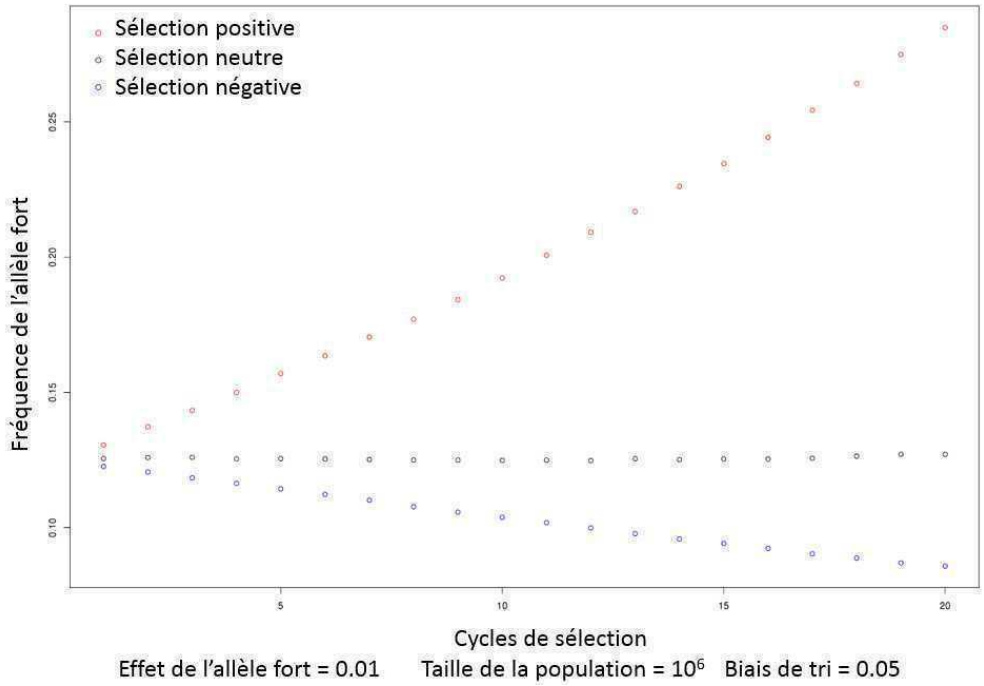


Figure 9: Simulation de sélection positive avec un QTL d'effet 10%

4.4 Dimensionnement de l'expérience

Afin de dimensionner correctement cette expérience en termes de nombre d'individus et de nombre de cycles de sélection à effectuer, pour être en mesure de détecter les différences de fréquence alléliques avec une profondeur de séquençage raisonnable, nous avons réalisé des simulations. Pour cela, nous avons fixé certains paramètres connus: la taille du chromosome VI (275kb), la moyenne du taux de recombinaison pour les quatre souches entre les marqueurs C1 et Y2 (0.51 cM/kb), la distance physique entre les marqueurs C1 et Y2 (69.9 kb), la fréquence initiale du QTL dans la population (0.125), la fréquence des erreurs de tri (0.05). Nous avons ensuite fait varier les paramètres suivants : la taille de population, le nombre de cycles de sélection et l'effet du QTL sur le phénotype. Cette simulation a été réalisée pour chacune des trois directions de sélection : positive, neutre et négative. Pour simuler le premier cycle de sélection, nous avons tout d'abord calculé le nombre d'individus avec l'effet du QTL favorable à la recombinaison dans la population, la distance génétique entre marqueurs chez ces individus, puis nous avons tiré dans une loi de poisson le nombre de CO sur le chromosome pour chacun de ces individus, et de même pour les individus ayant l'autre allèle au QTL. Ensuite, sous l'hypothèse d'une loi de distribution uniforme, nous avons positionné les CO sur le chromosome pour chaque

individu et détecté si un nombre impair de CO a eu lieu entre les marqueurs (individus recombinants). Dans le cas de la sélection positive, nous n'avons conservé que les individus ayant recombiné entre les marqueurs pour la génération suivante. Dans le cas de la sélection négative, nous n'avons conservé que les individus n'ayant pas recombiné entre les marqueurs pour la génération suivante. Enfin, dans le cas de la sélection neutre, nous avons conservé la moitié des individus indépendamment de la recombinaison. Dans chacun de ces trois cas, pour simuler des erreurs de tri, nous avons remplacé une partie des individus sélectionnés par des individus tirés aléatoirement dans la population. Nous avons alors calculé la fréquence des allèles au QTL pour chacune des trois populations sélectionnées, ce qui a permis de générer trois populations évoluées en conservant une taille de population fixe. Les cycles de sélection suivants ont été calqués sur le premier. Avec une taille de population de 10^6 individus, une erreur de tri de 5% et un effet du QTL de 5%, nous obtenons les résultats donnés en **figure 8**. Dans le cas de la sélection neutre, la fréquence moyenne du QTL sur les 10 cycles est égale à 0.13 (sd=0.02). Dans le cas de la sélection positive, après 10 cycles de sélection, la fréquence du QTL atteint 0.16. En sélection négative, après 10 cycles de sélection, la fréquence du QTL atteint 0.11. Dans le cas d'un QTL d'effet 5% sur le phénotype, avec 10 cycles de sélection et une population de 10^6 individus, la différence de fréquence allélique entre les populations évoluées positive et négative est donc égale à 0.05. Avec des paramètres identiques mais un effet du QTL de 10% (**Figure 9**), après 10 générations, la fréquence du QTL atteint 0.19 en sélection positive et 0.10 en sélection négative, soit une différence de fréquence du QTL de 0.09. Concernant la taille de la population, un effectif de 10^6 individus semble suffisant pour ne pas subir les effets de la dérive. En effet, les résultats obtenus ne varient pas lorsque l'on répète les simulations. Dans notre expérience nous devrons séquencer la population initiale ainsi que trois populations évoluées pour chacun des quatre réplicats, soit 13 populations au total (1 + 3×4). Un séquençage Illumina HiSeq produit en moyenne 180Gb de reads. En multiplexant nos 13 populations lors de la préparation des librairies, nous aurions en moyenne 13.85 Gb de données par population. Le génome de la levure *S. cerevisiae* ayant une taille de 12Mb, les 13.85Gb de données correspondent à une couverture de 1154X pour chacune des 13 populations. En regard à la couverture de 210X utilisée par Cubillos *et al.* (2013), permettant de détecter une différence allélique de 20% correspondant au gène IRA2 (**Figure 10**), une couverture de 1154X pour détecter une différence de fréquence allélique de 9% semble suffisante.

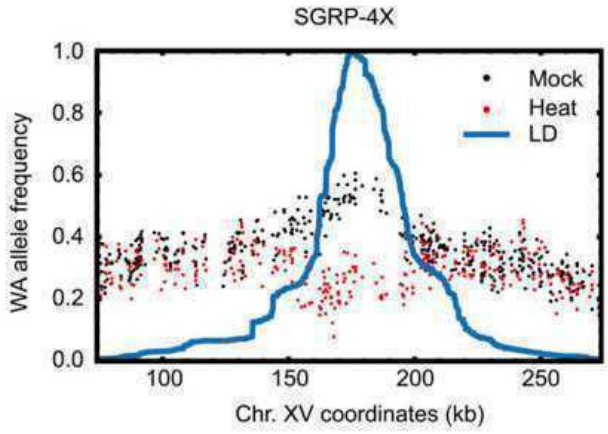


Figure 10: Détection de différences de fréquences alléliques

Expérience de détection de QTL basée sur les différences de fréquences alléliques dans une expérience de sélection sur la température utilisant la population SGRP-4X.

En bleu : déséquilibre de liaison, voir (Illingworth *et al.*, 2013)

Axe des abscisses : position physique le long du chromosome XV

Axe des ordonnées : fréquence de l'allèle WA

Points noirs : cas de la sélection neutre

Points rouges : sélection pour la résistance à la température en génération 10

4.5 Réponse à la sélection et recherche de QTL

4.5.1 Phénotypage des trois populations à toutes les générations

Pour chacun des trois modes de sélection (positive, négative et neutre) et à chaque génération, 10^5 spores *non fluorescentes* seront triées et croisées avec chacun des huit testeurs fluorescents. En suivant la méthode de mesure à haut débit de la recombinaison (Raffoux *et al.*, 2018), nous aurons accès au taux de recombinaison et au niveau d'interférence sur l'ensemble des chromosomes VI, XI et partiellement sur le chromosome I. Ainsi, nous pourrons suivre l'évolution du taux de recombinaison et de l'interférence au cours des cycles de sélection pour les trois modes de sélection et pour chacun des quatre réplicats (**Figure 11**).

4.5.2 Détection et validation des QTL modulant la recombinaison

Les différences de fréquences alléliques entre population initiale et évoluées sous sélection positive et négative devraient indiquer la position de QTL modulant la recombinaison. Après séquençage à grande profondeur (1154X) de la population initiale et des trois populations évoluées (positive, négative et neutre) pour chacun des quatre réplicats, soit 13 populations, nous pourrons détecter les différences de fréquences alléliques et ainsi détecter les QTL de recombinaison (**Figure 12**). Ces QTL seront validés par remplacement d'allèle au QTL, puis mesure de la recombinaison avec notre méthode (Raffoux *et al.*, 2018).

4.6 Résultats attendus et apports

Les données de phénotypage à toutes les générations, des populations correspondant aux trois modes de sélection, nous permettrons d'étudier la réponse de la recombinaison à la sélection à l'échelle du chromosome VI sur lequel la région comprise entre les marqueurs C1 et Y2 est soumise à sélection. Ceci permettra d'observer une possible compensation de la variation de recombinaison dans la région comprise entre les deux marqueurs par une variation de la recombinaison dans d'autres régions du chromosome, mettant en jeu d'éventuels effets *cis* qui contribueraient à limiter la variation du nombre de CO sur le chromosome. Ce phénomène pourra également être étudié sur le chromosome XI, à la condition que la sélection faite sur le chromosome VI entraîne une réponse de la recombinaison sur le chromosome XI *via* des effets *trans*. Notre méthode de mesure à haut débit nous permettant d'avoir accès au niveau d'interférence, il sera également possible d'étudier la réponse de l'interférence à la sélection sur le taux de recombinaison. Ainsi, il nous sera possible de mieux comprendre les liens entre la variation du niveau d'interférence et les variations du taux de recombinaison en relation avec la longueur des chromosomes.

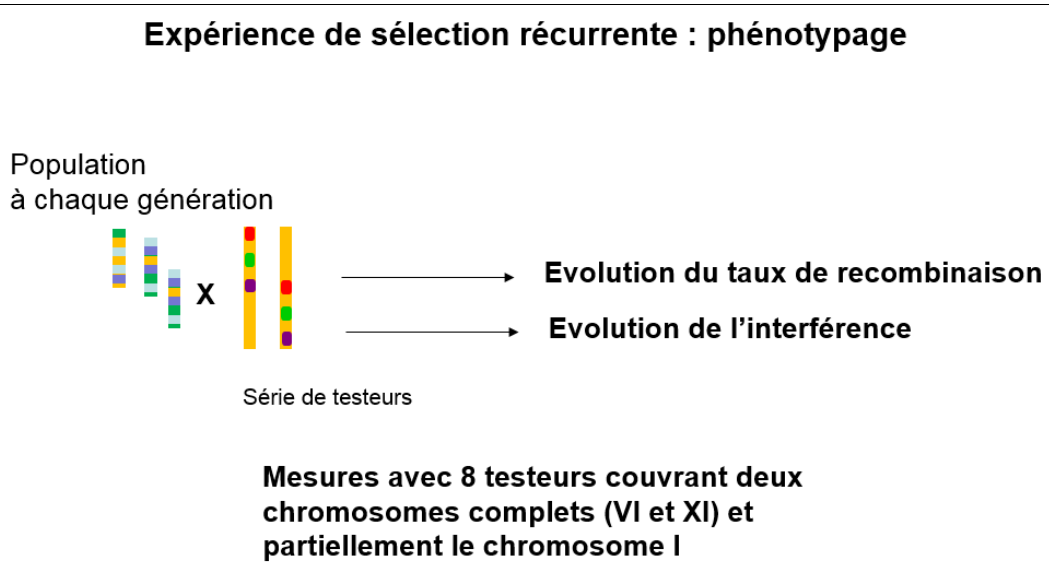


Figure 11: Phénotypage de la recombinaison des générations de sélection.

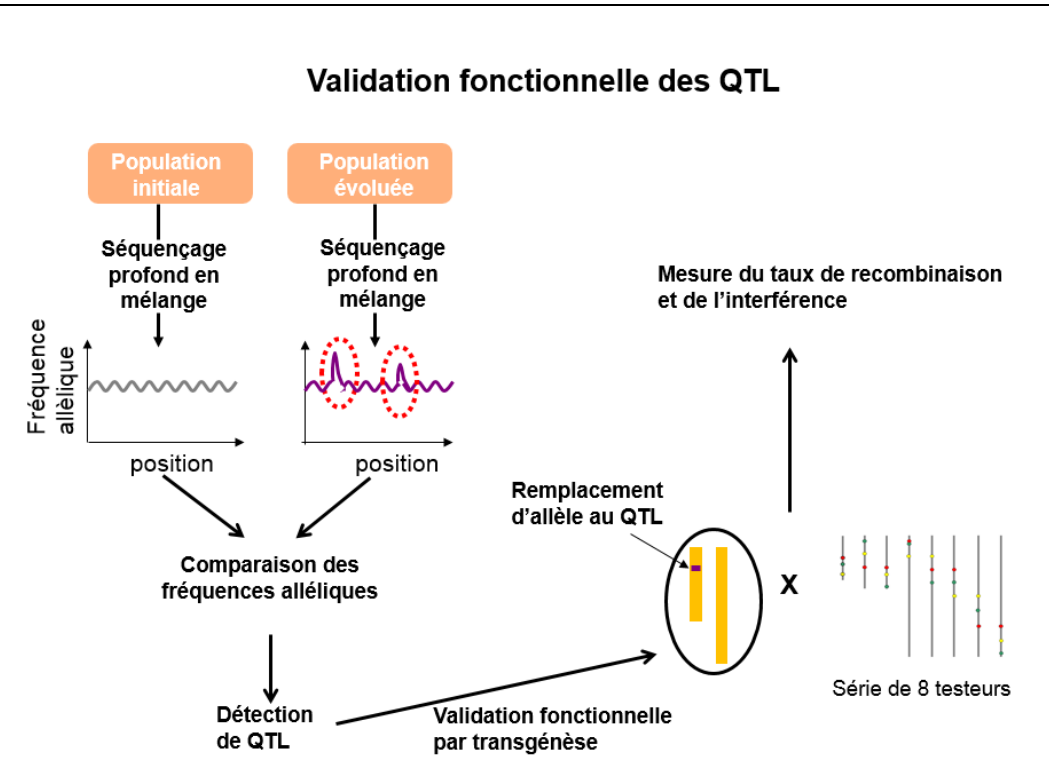


Figure 12: Détection de QTL et validation fonctionnelle

De plus, l'étude de la réponse à la sélection au cours des différentes générations nous permettra d'étudier les trajectoires évolutives de l'ensemble des types de réponse à la sélection décrits précédemment. La population SGPP-4X est composée d'individus mosaïques dont le génome comprend en moyenne un quart de chacun des quatre parents fondateurs. Mais ces individus sont génétiquement tous différents les uns des autres. En effet, le génome mosaïque de chaque individu est le résultat de 11 méioses successives, avec une répartition différente des CO sur le génome de chaque individu. Ainsi, le génome de certains individus pourrait contenir des combinaisons d'allèles favorables ou non à la recombinaison. Malgré un effectif très important de la population SGRP-4X, la fréquence de tels individus peut être faible et soumise au phénomène de dérive. Ainsi, il est possible que les quatre réplicats soumis à sélection ne suivent pas les mêmes trajectoires évolutives. De plus, des événements de mutation peuvent intervenir pendant les cycles de sélection sur la recombinaison et conduire également à des trajectoires évolutives différentes. Les données de réponse à la sélection et de détection de QTL issues de chacun des quatre réplicats nous permettront d'étudier ces questions. Dans le cas où les réplicats montreraient des trajectoires évolutives différentes, nous chercherons quelles sont les traces génomiques de ces différences. Nous essaierons alors de mettre en évidence, par exemple, des combinaisons d'allèles particulières avec des relations d'épistasie, ou bien des événements de mutation uniques ou multiples ayant un impact sur la recombinaison. Enfin, les QTL ayant été détectés comme modulant la recombinaison, ainsi que les allèles associés, viendront enrichir les connaissances sur le contrôle génétique de la formation des CO. Ces résultats devraient faire l'objet de publications, car cette expérience est originale à deux titres: d'une part la sélection se fait directement sur la recombinaison des individus, et d'autre part nous utiliserons un grand nombre d'individus représentant une large diversité génétique.

4.7 Perspectives

En fonction des résultats obtenus sur la réponse de la recombinaison à la sélection, nous pourrons rechercher si d'autres caractères répondent indirectement à la pression de sélection sur le taux de recombinaison. Nous pourrons également compléter l'étude en recherchant d'autres facteurs capables de moduler la recombinaison. Ainsi, nous pourrons comparer les profils épigénétiques des génomes des populations initiales et évoluées sous sélection, ce qui permettra de mieux comprendre les mécanismes de régulation de la recombinaison par modification des histones et/ou de la méthylation de l'ADN. Nous

pourrons également rechercher des différences de profils d'expression grâce à un séquençage des ARN messagers des différentes populations. En effet, le contrôle de l'expression génique peut être impliqué dans la régulation de la recombinaison et cela à différents niveaux, allant de la régulation de la transcription, à la dégradation des ARNm par de petits ARN régulateurs par exemple. Enfin, nous pourrons réaliser une analyse de protéomique quantitative comparative entre les différentes populations issues de la sélection. Il existe en effet des voies de régulation de la recombinaison par modification post traductionnelle des protéines.

Toutes ces perspectives permettront de mieux comprendre comment la recombinaison est régulée, non plus à une échelle génomique, mais à une échelle transcriptomique, épigénétique et protéomique.

4.8 Gestion des risques

Concernant les erreurs liées à l'appareillage utilisé, par simulation, nous avons montré que les erreurs du tri au cytomètre n'impactent que très peu les résultats. Concernant les erreurs liées au matériel biologique, nous avons montré précédemment (Raffoux *et al.*, 2018) que les marqueurs fluorescents peuvent, par recombinaison homologue, être substitués l'un l'autre à une fréquence d'environ 2%, conduisant à la perte d'un des deux marqueurs et à la formation de spores « pseudo recombinantes », sélectionnées quel que soit leur niveau de recombinaison. Dans les cycles de sélection positive, les spores « pseudo recombinantes » sont éliminées toutes les deux générations puisqu' à cette étape, les spores sélectionnées doivent posséder les deux marqueurs ou aucun. Dans les cycles de sélection négative, le critère de sélection des spores recombinantes est le même à chaque génération et les spores ayant perdu un marqueur ne sont jamais sélectionnées. La substitution des marqueurs est donc un phénomène qui n'aura aucun impact sur la sélection au-delà d'une génération.

Plusieurs phénomènes biologiques pourraient également poser problème. La pression de sélection ne s'effectuant que sur une petite région du génome, on peut imaginer que lorsque le taux de recombinaison aura atteint une valeur plateau dans cette région, la sélection ne sera plus efficace. En effet, dans les cycles de sélection positive, lorsque le taux de recombinaison aura dépassé un certain seuil, on peut imaginer un cas extrême où il y aurait recombinaison dans la région entre marqueurs pour presque tous les individus de la population, qui seraient alors tous sélectionnés, rendant la pression de sélection inefficace. En sélection négative, en dessous d'un certain seuil, on peut imaginer qu'il n'y ait plus jamais de recombinaison entre les marqueurs, rendant également la pression de sélection inefficace. Dans ces deux hypothèses, il est possible à tout moment de sélectionner des individus ne

possédant aucun marqueur fluorescent puis de les croiser avec un des autres testeurs fluorescents disponibles. Ainsi, la pression de sélection serait exercée sur une autre région du génome ce qui permettrait de poursuivre les cycles de sélection efficacement, bien que cela complexifierait l'analyse finale des fréquences alléliques en augmentant la part du génome de la souche SK1.

Enfin, toujours dans le cas de la sélection négative, on peut imaginer qu'un événement de réarrangement chromosomique se produise dans la région contenant les marqueurs. Ceci rendrait impossible toute recombinaison dans cette région et l'individu concerné serait alors sélectionné uniquement du fait de la présence du réarrangement structural. Dans cette hypothèse, si nous constatons que la réponse à la sélection plafonne à un niveau bas, il est possible soit (1) de faire comme précédemment et utiliser un autre testeur. (2) soit de remplacer un cycle de sélection par un cycle de sélection positive afin de purger la population évoluant en sélection négative de tous les individus n'ayant plus la possibilité de recombiner entre les marqueurs à cause d'un réarrangement structural. Enfin, dans les deux types de sélection, on peut supposer que le taux de recombinaison peut atteindre un niveau plateau, soit à un niveau de base nécessaire pour assurer le CO obligatoire, soit à un niveau maximum pour ne pas casser les combinaisons favorables d'allèles déjà crées et ainsi contre-sélectionner des individus ayant une valeur génétique basse. Encore une fois, la réponse à apporter pourrait être de croiser des spores non fluorescentes avec un des autres testeurs de la collection de huit testeurs que nous avons produite.

4.9 Planning prévisionnel et budget financier

4.9.1 Temps nécessaire pour réaliser une génération de sélection

Les spores issues de la population G_n seront sélectionnées et incubées à 30°C sur milieu complet pendant 2 jours. Les hybrides seront alors répliqués sur milieu de sporulation et incubés à 30°C pendant 10 jours. Après préparation, les spores seront triées au cytomètre et mélangées pour former la population G_{n+1} (1 journée). Les générations de sélection s'enchaîneront ainsi en recommençant à l'étape 1. Le temps nécessaire pour effectuer un cycle de sélection sera donc de 13 jours. En pratique, nous calerons l'expérience sur 14 jours pour simplifier la gestion plannings.

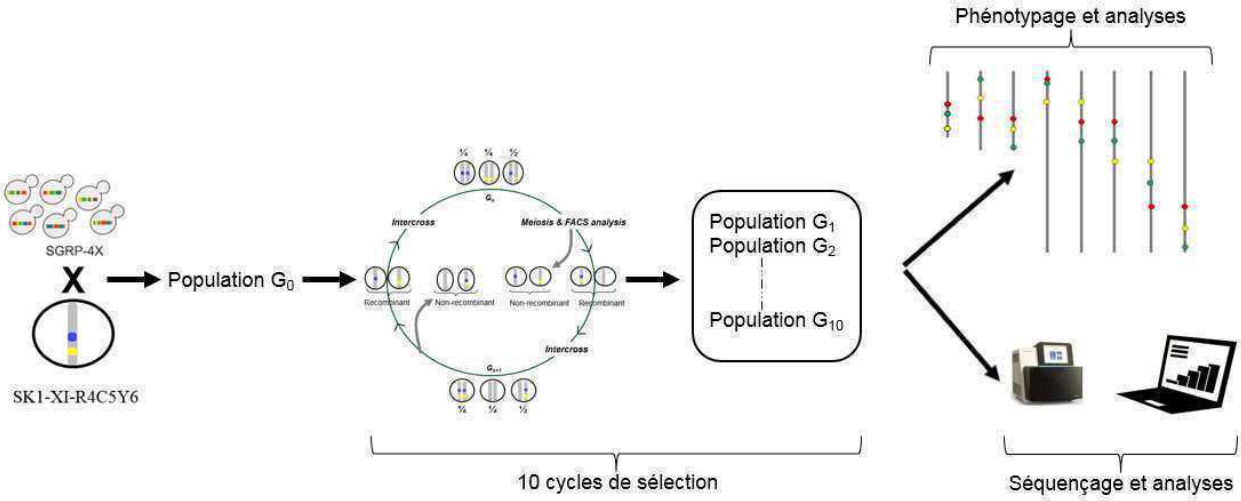


Figure 13: Vue d'ensemble du projet

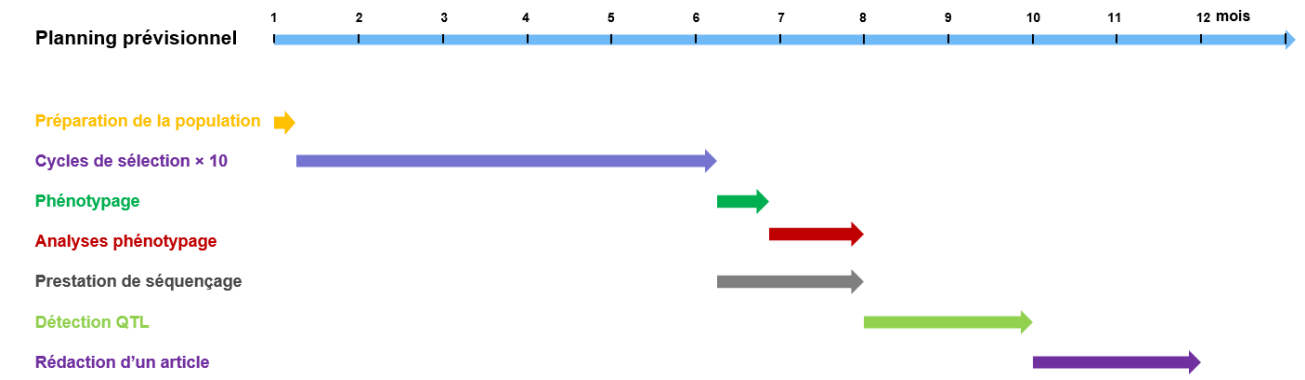


Figure 14: Planning prévisionnel

4.9.2 Temps nécessaire au phénotypage et à la détection des QTL

A chaque tri au cytomètre, nous garderons 10^5 spores non fluorescentes afin d'effectuer le phénotypage de cette génération, c'est à dire de mesurer les taux de recombinaison dans l'ensemble de nos intervalles. Pour cela, ces spores de la génération G_n seront mélangées successivement avec un excès de chacun des huit testeurs, incubées 2 jours sur milieu complet, puis les hybrides seront sélectionnés 2 jours sur milieu minimum (-URA-LYS+Nat) pour ne garder que les diploïdes formés d'une spore de la génération G_n et d'un testeur fluorescent. Les hybrides ainsi obtenus seront incubés 10 jours sur milieu de sporulation à 30°C puis les spores seront préparées et la ségrégation des marqueurs fluorescents sera analysée au cytomètre (1/2 jour). Le temps nécessaire pour phénotyper une génération sera donc de 15 jours. Ce travail peut être accompli en parallèle pour toutes les générations à la fin des 10 générations de sélection. Pour cela, à chaque génération de sélection, et après incubation de 2 jours sur milieu complet, les hybrides spores × testeurs seront conservés à -80°C et les étapes suivantes du phénotypage seront réalisées à la fin des dix cycles de sélection (**Figure 13**).

Concernant le séquençage profond des populations initiales et évoluées, il sera confié à un prestataire en fonction des approches technologiques disponibles à ce moment. Nous réaliserons l'analyse des résultats et la détection des QTL en interne ce qui prendra six mois. Ainsi, le temps nécessaire, de la première génération de sélection aux résultats de phénotypage, détection de QTL, et rédaction d'un article correspond à une année (**Figure 14).**

4.9.3 Budget prévisionnel

La prestation de cytométrie se compose d'une journée par cycle de sélection et de deux journées pour le phénotypage final, soit 12 journées pour un montant total de 4896 euros (**Figure 15**). La prestation de cytométrie sera réalisée sur la plateforme de cytométrie de l'Institut de Biologie Intégrative de la Cellule à Gif sur Yvette 91190. La prestation de séquençage concernera la population initiale ainsi que les quatre réplicats des trois populations sélectionnées soit 13 populations au total pour un montant de 3281 euros (**Figure 14**). Cette prestation pourra être réalisée sur la plateforme de séquençage de l'Institut de Biologie Intégrative de la Cellule à Gif sur Yvette 91190. Les consommables de laboratoire nécessaires pour l'expérience ont un coût de 3186 euros (**Figure 15**). Enfin, les frais d'une mission à un congrès international sont estimés à 1500 euros, et les frais de publication d'un article à 1500 euros, soit un budget prévisionnel global de 14 363 euros.

Besoin en concommables pour l'expèrience de sélection

	Réplicat	Type de sélection	Génération			
	1 de 4	1 de 3	1 de 10	Nombre d'échantillons	Quantité	Tarif
Boites de pétri		2			240	147
Tube 1,5mL		4		120	480	20
Zymolyase		3,75mG			450mG	585
					TOTAL	**752**

Prestation de cytométrie

Tarif horaire	Nombre d'heures	TOTAL
51 euros	12 jours X 8 heures = 96 heures	**4896**

Besoin en consommables pour le phénotypage

	Réplicat	Type de sélection	Génération	Testeur			
	1 de 4	1 de 3	1 de 10	1 de 8	Nombre d'échantillons	Quantité	Tarif
Boites de pétri						960	586
Plaque 96 puits					960	10	93
Zymolyase		3,75mG				3600mG	1755
						TOTAL	**2434**

Prestation de séquençage

Préstation	Tarif
Préparation de la banque 187 euros/librairie	2431
Séquençage HiSeq, 50 bases, 1 piste 120 millions de	850
TOTAL	**3281**

Figure 15: Budget prévisionnel

5 Discussion générale

Dans la période qui a précédé ma thèse, mon équipe a estimé qu'il serait intéressant d'étudier la recombinaison génétique en tant que caractère complexe, et donc de mesurer sa variabilité naturelle, de quantifier sa réponse à une pression de sélection récurrente et de comprendre le déterminisme ou l'architecture génétique associé. Nous avons donc projeté de mettre en place une expérience de sélection récurrente sur le nombre de CO qui permettrait d'une part d'étudier la réponse à la sélection de la recombinaison et d'autre part d'identifier des QTL (Quantitative Trait Loci) pour ce caractère. L'expérience de sélection en elle-même ne rentrant pas dans le temps imparti pour la thèse, j'ai choisi de présenter sous forme d'un projet de recherche la démarche de préparation de cette expérience, qui a occupé une partie de mon travail de thèse. Pour l'expérience de sélection, nous avions besoin d'un modèle biologique et d'une méthode permettant de sélectionner un grand nombre d'individus selon leur niveau de recombinaison. Parmi les différents modèles disponibles, l'équipe a porté son choix sur la levure *S. cerevisiae* car cet organisme permet de travailler facilement sur un grand nombre d'individus, avec des cycles sexués rapides permettant d'enchaîner des cycles de sélection dans un temps raisonnable. Cependant, les méthodes de phénotypage de la recombinaison disponibles à l'époque chez *S. cerevisiae* n'offraient pas la possibilité de mesurer puis de sélectionner un très grand nombre d'individus facilement pour le taux de recombinaison. Mon projet de thèse a alors débuté, avec pour objectifs de mettre au point une méthode de mesure à haut débit de la recombinaison, puis d'utiliser cette méthode afin d'étudier la diversité et le contrôle génétique de la recombinaison, et de préparer l'expérience de sélection. Dans les paragraphes suivants, je vais revenir sur les résultats apportés par mon travail de thèse, tout d'abord en présentant les atouts et faiblesses de la méthode de mesure à haut débit de la recombinaison que j'ai mise au point, puis en commentant les résultats apportés par mon étude de la variabilité naturelle pour cerner l'architecture génétique de ce trait au sens de la génétique quantitative.

L'objectif premier a donc été de mettre au point la méthodologie permettant de mesurer à haut débit la recombinaison chez *S. cerevisiae*. Puis grâce à cette méthode, j'ai mesuré sur une collection de 24 souches de *S. cerevisiae* représentatives de la diversité de l'espèce des taux de recombinaison compris entre 0.20 et 0.51 cM/kbp, ce qui est compatible avec les valeurs mesurées lors d'expériences précédentes (0.4cM/kbp dans une analyse génome complet (voir fig 2 de Cubillos *et al.* 2011), ou encore entre 0.29 et 0.63cM/kbp pour le bras gauche du chromosome VII (Malkova *et al.* 2004)). Nous avons observé une interférence positive pour la majorité des souches de la collection, résultat trouvé

également dans des études précédentes (de los Santos *et al.* 2003; Malkova *et al.* 2004; Stahl *et al.* 2004; Chen *et al.* 2008). Notre méthode de phénotypage repose sur l'utilisation du cytomètre en flux et permet l'acquisition de données de ségrégation de marqueurs sur un très grand nombre de gamètes (1 million environ en une minute). Ainsi, nos mesures du taux de recombinaison et de l'interférence sont très précises. Enfin, nous avons montré dans notre premier article décrivant cette méthode qu'il est tout à fait possible de trier les spores selon leur fluorescence, et ceci à haut débit avec un faible taux d'erreur de tri. Nous possédons donc maintenant le matériel biologique et la méthode qui nous permettront de réaliser prochainement l'expérience de sélection récurrente sur le taux de recombinaison. Mon travail a permis de fournir à la communauté scientifique une ressource et une méthode de mesure précise de la recombinaison ayant de nombreux avantages. En effet, classiquement, les analyses de la ségrégation de marqueurs génétiques dans la descendance d'un croisement (par tests d'auxotrophie ou séquençage de spores de levure ayant germé, ou en observant la couleur et la forme des graines après fécondation de gamètes de plantes), nécessitent que les gamètes soient viables. Ainsi, les gamètes non viables sont écartés, et les analyses ne se font que sur une partie seulement des descendants, ce qui peut fausser les résultats. Notre méthode permet d'étudier la recombinaison indépendamment de la viabilité des produits de méiose, et donc sans ce biais. Un autre avantage de notre méthode vient du fait que la précision fournie par l'approche nous a permis de mettre en évidence un biais dans la ségrégation des marqueurs. Ce biais a un effet négligeable sur la mesure de la recombinaison, mais un effet non négligeable sur la mesure de l'interférence. Chez *A. thaliana*, la même observation a été faite et les auteurs ont amoindri ce biais en écartant de leurs analyses la partie des descendants hypothétiquement responsable de la distorsion observée (Yelina *et al.* 2013). Cette solution n'étant pas satisfaisante au regard de la précision que nous permet l'utilisation du cytomètre, nous avons tout d'abord identifié l'origine de ce biais de ségrégation. Nous avons démontré par séquençage qu'une des origines de la distorsion de ségrégation observée est le remplacement d'un marqueur à un locus par un marqueur d'un autre locus, probablement *via* recombinaison homologue entre séquences encadrant les gènes de fluorescence. Pour prendre en considération ce biais dans nos mesures de la recombinaison, nous avons développé un modèle mathématique incorporant un certain niveau de perte de fluorescence, résultat du remplacement d'un marqueur à un locus par un autre ou toute autre hypothèse. En confrontant la fréquence de perte de fluorescence obtenue expérimentalement (de l'ordre de 1%) avec les fréquences estimées par notre modèle, nous avons observé que les résultats étaient similaires, ce qui donne une certaine confiance dans la pertinence du modèle. Notre méthode estime donc mieux le taux de

recombinaison et l'interférence que les autres approches basées sur des marqueurs fluorescents. Cependant, une faiblesse de notre méthode vient du fait que l'analyse de la ségrégation des marqueurs dans les spores est réalisée sur un mélange de spores issues de différentes tétrades. Ainsi, nous perdons une partie de l'information génétique potentiellement donnée par l'analyse des quatre spores d'une même tétrade (Mancera *et al.* 2008; Thacker *et al.* 2011), mais cet inconvénient est compensé d'un point de vue statistique par le fait d'analyser un très grand nombre de spores. Le matériel biologique (collection des testeurs) que j'ai produit permet d'étudier la recombinaison sur le chromosome I partiellement et les chromosomes VI et XI en totalité, mais il serait possible de compléter cette collection afin de couvrir le génome entier. Ainsi, notre méthode permet d'étudier la recombinaison dans différentes souches de levure (sauvages, hybrides, mutants de méiose), ou bien dans différents environnements (température, composition du milieu), et ainsi à terme de mieux comprendre les facteurs génétiques ou abiotiques qui régulent la recombinaison.

Grâce aux apports de cette méthode nouvelle, il nous a été possible dans le cadre de l'étude de la diversité et du contrôle génétique de la recombinaison d'apporter de nouvelles connaissances. Nos résultats montrent un taux de recombinaison (moyenne sur une partie du chromosome I et la totalité des chromosomes VI et XI) variant d'un facteur 2.5 entre les 24 souches étudiées, ce qui suggère que la recombinaison pourrait être contrôlée à un niveau global, certaines souches recombinant en moyenne plus que d'autres. D'autres études vont d'ailleurs dans le même sens et montrent que le niveau de recombinaison moyen sur le génome peut varier entre souches (variation d'un facteur 4 entre différents croisements à partir de quatre souches de *S. cerevisiae* (Cubillos *et al.* 2011), ou encore variation de 30% entre 23 (Bauer *et al.* 2013) ou 25 (McMullen *et al.* 2009) hybrides chez le maïs). Nos résultats, appuyés par ceux de la bibliographie, suggèrent que certains déterminants pourraient contrôler le niveau de recombinaison de l'ensemble du génome, tout comme les protéines HEI10 chez la souris ou FIGL chez *A. thaliana* (Ward JO, *et al*. 2007 **;** Fernandes, *et al.* 2018). Les avantages évolutifs d'un contrôle de la recombinaison à l'échelle du génome ont été étudiés par différents groupes. Certains auteurs suggèrent que le niveau moyen de recombinaison chez les souches originaires d'environnements peu stables pourrait avoir évolué à la hausse, permettant ainsi une adaptation plus rapide aux fluctuations (Bürger 1999; Aggarwal *et al.* 2015; McDonald *et al.* 2016; Kosheleva and Desai 2017). Nous avons testé cette hypothèse sur nos données en recherchant si l'habitat d'origine des souches est corrélé avec le niveau de recombinaison mesuré, mais nos données ne montrent pas de relation de ce type, ce qui est contraire à l'hypothèse d'un niveau de recombinaison élevé dans un environement peu stable formulée dans les

articles précédents (Bürger 1999; Aggarwal *et al.* 2015; McDonald *et al.* 2016; Kosheleva and Desai 2017). Une explication à cela pourrait être que nos mesures de la recombinaison ne couvrent pas l'ensemble du génome mais sont limitées à une partie du chromosome I et aux chromosomes VI et XI, et ne représentent pas suffisamment le niveau de la recombinaison à l'échelle du génome complet. De plus, la collection que nous avons utilisée n'est peut-être que très peu informative pour répondre à cette question puisque les souches que nous avons catégorisées comme venant de milieux peu stables sont depuis plusieurs générations cultivées en laboratoire et donc dans un environnement très stable. Pour mieux répondre à cette question, il faudrait, soit pouvoir étudier le niveau de recombinaison historique de ces souches, par exemple par étude du déséquilibre de liaison dans des populations naturelles, soit conduire une expèrience d'évolution expérimentale permettant d'étudier la réponse du niveau de recombinaison à un changement d'environnement. Après avoir montré que la recombinaison peut être contrôlée à un niveau global, nos résultats ont également apporté des éléments sur le contrôle plus local de la recombinaison. En effet, les profils de recombinaison sont différents entre les souches de la collection, avec un ratio variant de 1.8 à 9.5 entre souches recombinant le plus et le moins en fonction de l'intervalle considéré. Des résultats similaires sont décrits chez le maïs: le nombre moyen de CO varie d'un facteur 2.9 entre 25 hybrides, avec certains intervalles montrant une variation d'un facteur 30 (McMullen *et al.* 2009). Ainsi, nos résultats confirment que le niveau de recombinaison peut varier le long du génome, et que l'amplitude de la variation observée entre les souches de la collection peut être différente selon les régions du génome, certains déterminants étant donc capables de contrôler localement le niveau de recombinaison.

Il est suggéré que le phénomène d'interférence peut être un moyen de contrôler le niveau de recombinaison (Zickler and Kleckner 2016), nous avons donc étudié la variation du niveau d'interférence au sein de notre collection puis selon la position sur le génome. Comme ceci a déjà été observé chez le maïs (Bauer *et al.* 2013), mais à notre connaissance pour la première fois chez la levure *S. cerevisiae*, nos résultats montrent que les profils d'interférence le long du génome varient en fonction des hybrides. L'interférence mesurée est généralement positive ou nulle, varie le long des chromosomes mais aussi entre les chromosomes d'un même hybride. Ces résultats confirment les observations faites précédemment chez *S. cerevisiae* (Zhao *et al.* 1995; Mancera *et al.* 2008) et chez *A. thaliana* (Basu-Roy *et al.* 2013). Le niveau d'interférence peut donc varier à l'échelle du génome, mais aussi entre souches. Pour déterminer si le niveau de recombinaison est lié au niveau d'interférence, nous avons ensuite observé qu'il existe une corrélation positive entre le taux de recombinaison et l'interférence dans nos

données (moyenne pour chaque souche sur l'ensemble des testeurs). Cette observation est contraire à ce qui est décrit chez le maïs (Bauer *et al.* 2013) où cette corrélation est négative. Il y est suggéré que l'interférence permettrait de réduire le nombre de CO à partir d'un nombre élevé de CDB, tout en assurant le CO obligatoire (Chakraborty *et al.* 2017), en faisant l'hypothèse d'une pression de sélection contre un nombre trop élevé de CO (Mercier *et al.* 2015). Ceci signifierait que l'évolution aurait conduit, afin de réduire le nombre de CO, à une augmentation du niveau d'interférence, et donc une corrélation négative entre le taux de recombinaison et l'interférence telle qu'observée chez le maïs (Bauer *et al.* 2013). Or cette hypothèse n'est pas en accord avec nos résultats. Pour tenter d'expliquer ce paradoxe, il faut comprendre plus en détail quels pourraient être les mécanismes de l'interférence contrôlant la recombinaison. L'interférence, en empêchant une CDB d'être réparée en CO à proximité d'un premier CO, pourrait donc faire varier à la baisse le rapport CO/CDB, ce mécanisme permettant ainsi de réduire un nombre de CO trop important. Si la régulation du nombre de CO se fait *via* l'interférence, on s'attendrait donc à observer la présence d'un grand nombre de CDB conduisant à un faible nombre de CO, et donc un ratio CDB/CO élevé. Le rapport CDB/CO est de 25 pour le maïs et de 2.5 chez *S. cerevisiae* (Pawlowski *et al.* 2003; Anderson *et al.* 2003; Buhler *et al.* 2007; Brown *et al.* 2013). La régulation du nombre de CO par l'interférence serait donc très efficace chez le maïs, mais beaucoup moins chez la levure. Ainsi, on observerait une corrélation négative entre le taux de recombinaison et l'interférence chez le maïs, mais pas chez la levure. Cependant, cette hypothèse pourrait expliquer une absence de corrélation entre taux de recombinaison et interférence chez la levure, mais pas la corrélation positive que nous observons. La régulation de la recombinaison doit donc se faire différemment chez le maïs et la levure et ne pas faire intervenir les mêmes mécanismes. Ceci montre que nous avons encore beaucoup de choses à découvrir concernant les mécanismes régulant la recombinaison.

Revenons sur la mesure de l'interférence et intéressons-nous au cas des deux hybrides de la collection pour lesquels nous mesurons une interférence négative. Dans le cas de trois QTL liés génétiquement, supposons deux de ces QTL à effet positif et celui du milieu à effet négatif. Alors, une interférence négative permettrait d'avoir plus facilement deux CO proches l'un de l'autre. L'haplotype formé par la combinaison de ces trois QTL serait alors facilement cassé, le QTL à faible valeur génétique dissocié des deux autres, permettant alors de combiner deux QTL positifs dans un même haplotype. Ainsi, une interférence négative pourrait conférer un avantage adaptatif car améliorant des configurations d'allèles en répulsion. Cette hypothèse est appuyée par une expérience de sélection indirecte du taux de recombinaison basée sur la réponse à différents stress (dessiccation, hypoxie,

hyperoxie) chez la drosophile. Il y est montré que le taux de recombinaison et l'interférence sont modifiés. Le taux de recombinaison est en effet augmenté jusqu'à 50% dans certains intervalles par rapport au contrôle. L'interférence, elle, est relaxée et donne même lieu à une interférence négative apparente (Aggarwal *et al.* 2015). Cependant, dans notre expérience, les souches parentales des hybrides montrant une interférence négative sont très éloignées phylogénétiquement l'une de l'autre. Des défauts de méiose (suggérés par les faibles taux de sporulation et de viabilité des spores de ces hybrides) tels qu'un mauvais appariement des homologues provoquant le regroupement des CO dans les seules régions génomiques les plus homologues, pourraient également conduire à la mesure d'une interférence apparente négative, même si les CO étaient soumis à de l'interférence positive au sein de chacune de ces régions, tout comme ce qui a été observé chez le mutant axr1 d'*A. thaliana* (Jahns *et al.* 2014). Il est donc difficile dans le cas de ces deux hybrides et de notre expérience, de conclure sur l'interprétation à donner à cette mesure d'interférence négative et d'en tirer des conclusions quant aux liens avec la recombinaison. Une étude cytologique marquant les foci des protéines Zip3 et Zip1 lors de la méiose pourrait permettre de visualiser l'appariement des axes pour mieux comprendre l'origine de l'interférence négative mesurée.

Maintenant que nous avons commenté nos résultats sur les mesures de la recombinaison et de leurs variations à différentes échelles, nous allons nous intéresser aux facteurs génétiques qui pourraient contrôler la recombinaison. Certaines études montrent que l'hétérozygotie peut avoir un effet inhibiteur sur la recombinaison chez la levure (Borts and Haber 1987) ou chez *A. thaliana* (Opperman *et al.* 2004). Nous avons donc étudié les liens entre taux de recombinaison et similarité de séquence entre homologues dans nos hybrides. Au niveau global (moyenne de la recombinaison sur tous les intervalles et similarité de séquence entre homologues sur l'ensemble du génome), on observe une corrélation positive entre le taux de recombinaison et la similarité de séquence, ce qui vient confirmer le fait que l'hétérozygotie pourrait avoir un effet inhibiteur de recombinaison. Si tel est le cas, c'est au moment de la recherche d'homologie que le niveau de similarité entre les séquences des deux homologues pourrait avoir le plus d'importance. Nous avons donc étudié la corrélation entre le taux de recombinaison de chaque intervalle et la similarité de séquence calculée uniquement dans les régions riches en CDB de cet intervalle. La corrélation positive trouvée est moins forte que celle obtenue en calculant la similarité sur l'ensemble de la séquence de l'intervalle. Ceci montre que l'hétérozygotie dans les régions des CDB (où se fait la recherche d'homologie) peut certes avoir un effet sur le niveau de recombinaison dans l'intervalle (en modulant par exemple le ratio CO/NCO), mais qu'elle n'explique pas aussi bien la

variation de recombinaison que l'hétérozygotie sur l'ensemble de l'intervalle. D'autres facteurs que la séquence à proximité immédiate des CDB participent donc au contrôle de la recombinaison. Cette hypothèse est confirmée par la corrélation positive (pour cinq cas sur 14, les autre cas ne montrant pas de corrélation) entre similarité de séquence dans les régions (30kbp) de chaque côté de l'intervalle et taux de recombinaison dans l'intervalle. Ces régions flanquantes pourraient avoir une action en *cis* à moyenne distance. Des études dans le même esprit ont été menées chez *A. thaliana* où la présence d'une portion de génome hétérozygote introduite à proximité d'une région homozygote (individus d'une population recombinante issue du croisement d'une lignée portant des marqueurs fluorescents avec 32 accessions) modifie à la hausse le nombre de CO dans la région hétérozygote et à la baisse dans la région homozygote (Ziolkowski *et al.* 2015). Mais, dans notre expérience, la similarité de séquence des régions entourant les intervalles peut être corrélée avec la similarité de séquence dans l'intervalle puisque ce sont des régions proches. Ainsi, la corrélation entre taux de recombinaison dans l'intervalle et similarité de séquence dans les régions entourant cet intervalle pourrait n'être que le reflet de la corrélation entre taux de recombinaison et similarité de séquence dans l'intervalle. De plus, la corrélation entre la similarité de séquence calculée sur le génome entier et la recombinaison moyenne sur tous nos intervalles est plus forte que celle obtenue avec la similarité de séquence calculée pour chacun des 3 chromosomes (I, VI, et XI) sur lesquels le taux de recombinaison est mesuré, cette corrélation étant elle-même plus forte que celle obtenue en calculant la similarité de séquence directement sur chacun des intervalles étudiés. Ces observations nous suggèrent que la recombinaison serait modulée à la fois par des facteurs *trans* et des éléments *cis* régulateurs. Enfin, dans tous les cas, le niveau d'hétérozygotie n'explique pas toute la variation de la recombinaison, ce qui confirme les résultats précédemment obtenus (Salomé *et al.* 2012; Bauer *et al.* 2013; Rodgers-Melnick *et al.* 2015; Ziolkowski and Henderson 2017). Le contrôle de la recombinaison pourrait dépendre d'autres facteurs tels que des réarrangements structuraux empêchant ou limitant la formation des CO (Bauer *et al.* 2013; Rodgers-Melnick *et al.* 2015; Fransz *et al.* 2016), des facteurs épigénétiques (Yelina *et al.* 2012, 2015a; b), ou encore des effets de l'environnement (Phillips *et al.* 2015; Saini *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2017).

Nous avons montré précédemment que le niveau d'hétérozygotie explique pour une partie le niveau de recombinaison. Cependant, l'hétérozygotie étant un facteur défini uniquement pour un hybride donné, son effet n'est pas une addition des effets de deux parents et pourrait montrer une part de superdominance, qui est un effet spécifique d'intéraction entre deux allèles à un locus. Pour comprendre plus en détail comment le niveau de similarité module le niveau de recombinaison, nous avons réalisé

une expérience de type di-allèle à partir de cinq parents représentant la plupart de la diversité génétique de l'espèce mais aussi une grande diversité pour le taux de recombinaison. Les résultats de l'étude de ce di-allèle confirment l'effet de la similarité de séquence sur le taux de recombinaison montré précédemment sur la collection. Cette expérience montre de plus que le taux de recombinaison d'un hybride hétérozygote SK1 × YPS128 est significativement plus faible que le taux de recombinaison de chacun des diploïdes homozygotes parentaux (SK1 × SK1 et YPS128 × YPS128). L'analyse quantitative du di-allèle montre que cette observation reflète un effet de superdominance lié à l'hétérozygotie, se décomposant d'une part en un effet négatif de l'hétérozygotie sur la recombinaison chez les hybrides et d'autre part en un effet négatif de la dépression de consanguinité sur la recombinaison chez les homozygotes. Ainsi, les taux de recombinaison les plus élevés ne correspondent pas aux diploïdes homozygotes, mais à l'hybride hétérozygote SK1 × DBVPG6044. Les souches SK1 et DBVPG6044 doivent probablement être suffisamment proches génétiquement pour avoir un faible effet négatif de l'hétérozygotie sur la recombinaison, mais suffisamment éloignées pour échapper à l'effet négatif de la dépression de consanguinité. La dépression de consanguinité observée pourrait être due à l'effet de mutations délétères (Charlesworth and Willis 2009), ce qui serait particulièrement le cas chez les espèces allogames qui n'auraient pas purgé de telles mutations récessives. Cependant, chez *S. cerevisiae*, le niveau d'allogamie est encore peu décrit (Ruderfer *et al.* 2006; Magwene *et al.* 2011), et la possibilité de changement de type sexuel (Haber 2012) favoriserait plutôt l'autogamie.

Comprendre les forces évolutives permettant le maintien de la reproduction sexuée et de la recombinaison chez les eucaryotes reste de nos jours un sujet d'actualité. Une hypothèse suggère une sélection indirecte de la recombinaison au cours de l'évolution. En effet, la recombinaison génétique, en cassant les liens entre gènes, fournit une diversité nouvelle, qui soumise à sélection peut conduire à l'obtention de génotypes avec une meilleur valeur génétique. Les génotypes ainsi sélectionnés étant également ceux présentant un niveau de recombinaison élevé, le niveau de recombinaison serait indirectement sélectionné. Mais malgré les efforts faits pour mieux comprendre les relations entre sélection et recombinaison, les connaissances sont limitées. Le niveau de recombinaison minimum nécessaire à une création de diversité suffisante pour être soumise à sélection, selon le type d'environnement, est, par exemple, complètement méconnu. Ceci est encore plus vrai concernant l'éventuelle relation entre interférence et sélection. Les avancées faites grâce aux travaux théoriques (Charlesworth 1993; Otto and Barton 2001; Barton and Otto 2005; Charlesworth *et al.* 2009; Barton 2010; Carja *et al.* 2014) ont permis d'émettre certaines hypothèses, mais ces hypothèses théoriques,

conceptuellement satisfaisantes, ne sont confirmées que par très peu d'expériences sur le vivant. Certains résultats expérimentaux viennent toutefois appuyer l'hypothèse que la recombinaison est sélectionnée de manière indirecte au cours de l'évolution. Il est par exemple montré chez la drosophile, en comparant des régions du génome avec des taux de recombinaison très contrastés, que le taux de recombinaison d'un gène est positivement corrélé avec une plus grande efficacité de sélection positive (Campos *et al.* 2014). Une fois encore, beaucoup de travail est à faire pour mieux comprendre les chemins évolutifs ayant conduit aux mécanismes de reproduction sexuée que l'on connaît aujourd'hui.

6 Conclusion générale

Ce travail met à la disposition de la communauté une méthode permettant de mesurer à haut débit la recombinaison et l'interférence sur la levure *S. cerevisiae*. Nous allons prochainement l'utiliser pour réaliser le projet de recherche présenté dans ce mémoire : une expérience de sélection récurrente pour la recombinaison qui devrait permettre d'étudier la réponse à la sélection et de détecter des QTL contrôlant la formation des crossing-overs. Nous avons observé sur un grand nombre de souches que *S. cerevisiae* a un niveau de recombinaison plus élevé que la plupart des autres espèces, avec des profils de crossing-overs le long des chromosomes qui peuvent être différents entre souches. Nos résultats suggèrent également que la recombinaison est contrôlée à la fois par des éléments *cis* et des facteurs *trans*. Par ailleurs, ce travail apporte un regard nouveau sur la relation entre hétérozygotie et recombinaison puisque nous avons observé que cette relation n'est pas monotone chez *S. cerevisiae* : l'hétérozygotie affecte négativement le niveau de recombinaison chez des hybrides entre souches génétiquement distantes, mais un effet de dépression de consanguinité réduit également la recombinaison des homozygotes stricts. Nous avons enfin trouvé de l'interférence sur la plupart des souches, et observé une corrélation positive entre niveau de recombinaison et interférence qui pose de nombreuses questions sur les processus impliqués dans le contrôle de la recombinaison *via* l'interférence. En particulier le ou les mécanismes à l'origine de l'interférence, du CO obligatoire, et de l'homéostasie, restent encore spéculatifs, même si la modélisation donne déjà de bonnes pistes pour appréhender ces phénomènes. Enfin, la question particulièrement intrigante de l'existence d'une pression de sélection contre un nombre trop élevé de CO reste encore complètement ouverte.

7 Bibliographie

Abrahan Hernández-Hernández, Rosario Ortiz Hernádez, and Gerardo H. Vázquez-Nin, 2012 Epigenetics of the Synaptonemal Complex, in *Meiosis - Molecular Mechanisms and Cytogenetic Diversity*,.

Aggarwal D. D., E. Rashkovetsky, P. Michalak, I. Cohen, Y. Ronin, *et al.*, 2015 Experimental evolution of recombination and crossover interference in Drosophila caused by directional selection for stress-related traits. BMC Biology 13: 101. https://doi.org/10.1186/s12915-015-0206-5

Aklilu B. B., R. S. Soderquist, and K. M. Culligan, 2014 Genetic analysis of the Replication Protein A large subunit family in Arabidopsis reveals unique and overlapping roles in DNA repair, meiosis and DNA replication. Nucleic Acids Res. 42: 3104–3118. https://doi.org/10.1093/nar/gkt1292

Albertin W., and P. Marullo, 2012 Polyploidy in fungi: evolution after whole-genome duplication. Proc. Biol. Sci. 279: 2497–2509. https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0434

Anderson L. K., G. G. Doyle, B. Brigham, J. Carter, K. D. Hooker, *et al.*, 2003 High-resolution crossover maps for each bivalent of Zea mays using recombination nodules. Genetics 165: 849–865.

Anderson L. K., L. D. Lohmiller, X. Tang, D. B. Hammond, L. Javernick, *et al.*, 2014 Combined fluorescent and electron microscopic imaging unveils the specific properties of two classes of meiotic crossovers. Proc Natl Acad Sci U S A 111: 13415–13420. https://doi.org/10.1073/pnas.1406846111

Arora, K., and Corbett, K.D. (2018). Structure of Zip2:Spo16, a conserved XPF:ERCC1-like complex critical for meiotic crossover formation. BioRxiv 258194.

Auton, A., Rui Li, Y., Kidd, J., Oliveira, K., Nadel, J., Holloway, J.K., Hayward, J.J., Cohen, P.E., Greally, J.M., Wang, J., et al. (2013). Genetic Recombination Is Targeted towards Gene Promoter Regions in Dogs. PLoS Genet. *9*.

Barton N. H., and S. P. Otto, 2005 Evolution of recombination due to random drift. Genetics 169: 2353–2370. https://doi.org/10.1534/genetics.104.032821

Barton N. H., 2010 Genetic linkage and natural selection. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 365: 2559–2569. https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0106

Bass H. W., 2003 Telomere dynamics unique to meiotic prophase: formation and significance of the bouquet. Cell. Mol. Life Sci. 60: 2319–2324. https://doi.org/10.1007/s00018-003-3312-4

Basu-Roy S., F. Gauthier, L. Giraut, C. Mézard, M. Falque, *et al.*, 2013 Hot regions of noninterfering crossovers coexist with a nonuniformly interfering pathway in Arabidopsis thaliana. Genetics 195: 769–779. https://doi.org/10.1534/genetics.113.155549

Baudat F., and B. de Massy, 2007 Regulating double-stranded DNA break repair towards crossover or non-crossover during mammalian meiosis. Chromosome Research 15: 565–577. https://doi.org/10.1007/s10577-007-1140-3

Baudat F., J. Buard, C. Grey, A. Fledel-Alon, C. Ober, *et al.*, 2009 PRDM9 Is a Major Determinant of Meiotic Recombination Hotspots in Humans and Mice. Science 327: 836–840. https://doi.org/10.1126/science.1183439

Bauer E., M. Falque, H. Walter, C. Bauland, C. Camisan, *et al.*, 2013 Intraspecific variation of recombination rate in maize. Genome Biol 14: R103. https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-9-r103

Berchowitz L. E., K. E. Francis, A. L. Bey, and G. P. Copenhaver, 2007 The Role of AtMUS81 in Interference-Insensitive Crossovers in *A. thaliana*. PLoS Genet 3. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030132

Berchowitz L. E., and G. P. Copenhaver, 2008 Fluorescent Arabidopsis tetrads: a visual assay for quickly developing large crossover and crossover interference data sets. Nature Protocols 3: 41–50. https://doi.org/10.1038/nprot.2007.491

Berchowitz L. E., and G. P. Copenhaver, 2010 Genetic Interference: Don't Stand So Close to Me. Curr Genomics 11: 91–102. https://doi.org/10.2174/138920210790886835

Berg I. L., R. Neumann, S. Sarbajna, L. Odenthal-Hesse, N. J. Butler, *et al.*, 2011 Variants of the protein PRDM9 differentially regulate a set of human meiotic recombination hotspots highly active in African populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 108: 12378–83. https://doi.org/10.1073/PNAS.1109531108

Berset-Brändli L., J. Jaquiéry, T. Broquet, Y. Ulrich, and N. Perrin, 2008 Extreme heterochiasmy and nascent sex chromosomes in European tree frogs. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences 275: 1577–1585. https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0298

Bevan M. W., C. Uauy, B. B. H. Wulff, J. Zhou, K. Krasileva, *et al.*, 2017 Genomic innovation for crop improvement. Nature 543: 346–354. https://doi.org/10.1038/nature22011

Beye M., I. Gattermeier, M. Hasselmann, T. Gempe, M. Schioett, et al., 2006 Exceptionally high levels of recombination across the honey bee genome. Genome Res. 16: 1339–1344. https://doi.org/10.1101/gr.5680406

Bingham E. T., C. R. Burnham, and C. E. Gates, 1968 Double and single backcross linkage estimates in autotetraploid maize. Genetics 59: 399–410.

Birdsell J. A., and C. Wills, 2003 The Evolutionary Origin and Maintenance of Sexual Recombination: A Review of Contemporary Models, pp. 27–138 in *Evolutionary Biology*, Evolutionary Biology. Springer, Boston, MA.

Bishop, D.K., Park, D., Xu, L., and Kleckner, N. (1992). DMC1: a meiosis-specific yeast homolog of E. coli recA required for recombination, synaptonemal complex formation, and cell cycle progression. Cell *69*, 439–456.

Bishop, D.K. (1994). RecA homologs Dmc1 and Rad51 interact to form multiple nuclear complexes prior to meiotic chromosome synapsis. Cell *79*, 1081–1092.

Bishop D. K., and D. Zickler, 2004 Early Decision: Meiotic Crossover Interference prior to Stable Strand Exchange and Synapsis. Cell 117: 9–15. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00297-1

de Boer, E., Dietrich, A.J.J., Höög, C., Stam, P., and Heyting, C. (2007). Meiotic interference among MLH1 foci requires neither an intact axial element structure nor full synapsis. J. Cell Sci. *120*, 731–736.

Borde V., N. Robine, W. Lin, S. Bonfils, V. Géli, et al., 2009 Histone H3 lysine 4 trimethylation marks meiotic recombination initiation sites. EMBO J 28: 99–111. https://doi.org/10.1038/emboj.2008.257

Borde V., and B. de Massy, 2013 Programmed induction of DNA double strand breaks during meiosis: setting up communication between DNA and the chromosome structure. Curr. Opin. Genet. Dev. 23: 147–155. https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.12.002

Börner G. V., N. Kleckner, and N. Hunter, 2004 Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation, and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis. Cell 117: 29–45.

Borts R. H., and J. E. Haber, 1987 Meiotic recombination in yeast: alteration by multiple heterozygosities. Science 237: 1459–1465.

Botstein D., and G. R. Fink, 2011 Yeast: an experimental organism for 21st Century biology. Genetics 189: 695–704. https://doi.org/10.1534/genetics.111.130765

Brick, K., Smagulova, F., Khil, P., Camerini-Otero, R.D., and Petukhova, G.V. (2012). Genetic recombination is directed away from functional genomic elements in mice. Nature *485*, 642–645.

Brisson N., P. Gate, D. Gouache, G. Charmet, F.-X. Oury, *et al.*, 2010 Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. Field Crops Research 119: 201–212. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.07.012

Brockway H., N. Balukoff, M. Dean, B. Alleva, and S. Smolikove, 2014 The CSN/COP9 Signalosome Regulates Synaptonemal Complex Assembly during Meiotic Prophase I of Caenorhabditis elegans. PLoS Genet 10. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004757

Brown M. S., E. Lim, C. Chen, K. T. Nishant, and E. Alani, 2013 Genetic Analysis of mlh3 Mutations Reveals Interactions Between Crossover Promoting Factors During Meiosis in Baker's Yeast. G3 (Bethesda) 3: 9–22. https://doi.org/10.1534/g3.112.004622

Brown M. S., and D. K. Bishop, 2014 DNA strand exchange and RecA homologs in meiosis. Cold Spring Harb Perspect Biol 7: a016659. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016659

Buard J., and B. de Massy, 2007 Playing hide and seek with mammalian meiotic crossover hotspots. Trends Genet. 23: 301–309. https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.03.014

Buard J., E. Rivals, D. Dunoyer de Segonzac, C. Garres, P. Caminade, *et al.*, 2014 Diversity of Prdm9 zinc finger array in wild mice unravels new facets of the evolutionary turnover of this coding minisatellite. PLoS ONE 9: e85021. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085021

Buhler C., V. Borde, and M. Lichten, 2007 Mapping Meiotic Single-Strand DNA Reveals a New Landscape of DNA Double-Strand Breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS Biology 5: e324. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050324

Bürger R., 1999 Evolution of genetic variability and the advantage of sex and recombination in changing environments. Genetics 153: 1055–1069.

Carballo, J.A., Johnson, A.L., Sedgwick, S.G., and Cha, R.S. (2008). Phosphorylation of the axial element protein Hop1 by Mec1/Tel1 ensures meiotic interhomolog recombination. Cell *132*, 758–770.

Callender T. L., and N. M. Hollingsworth, 2010 Mek1 suppression of meiotic double-strand break repair is specific to sister chromatids, chromosome autonomous and independent of Rec8 cohesin complexes. Genetics 185: 771–782. https://doi.org/10.1534/genetics.110.117523

Campos J. L., D. L. Halligan, P. R. Haddrill, and B. Charlesworth, 2014 The relation between recombination rate and patterns of molecular evolution and variation in Drosophila melanogaster. Mol. Biol. Evol. 31: 1010–1028. https://doi.org/10.1093/molbev/msu056

Cao L., E. Alani, and N. Kleckner, 1990 A pathway for generation and processing of double-strand breaks during meiotic recombination in *S. cerevisiae*. Cell 61: 1089–1101.

Carja O., U. Liberman, and M. W. Feldman, 2014 Evolution in changing environments: modifiers of mutation, recombination, and migration. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 111: 17935–17940. https://doi.org/10.1073/pnas.1417664111

Carpenter A. T. C., 1975 Electron microscopy of meiosis in Drosophila melanogaster females: II: The recombination nodule—a recombination-associated structure at pachytene? Proc Natl Acad Sci U S A 72: 3186–3189.

Cattani M. V., S. B. Kingan, and D. C. Presgraves, 2012 Cis- and trans-acting genetic factors contribute to heterogeneity in the rate of crossing over between the Drosophila simulans clade species. J. Evol. Biol. 25: 2014–2022. https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02578.x

Cavalieri D., P. E. McGovern, D. L. Hartl, R. Mortimer, and M. Polsinelli, 2003 Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine. J. Mol. Evol. 57 Suppl 1: S226-232. https://doi.org/10.1007/s00239-003-0031-2

Chakraborty U., C. M. George, A. M. Lyndaker, and E. Alani, 2015 A Delicate Balance Between Repair and Replication Factors Regulates Recombination Between Divergent DNA Sequences in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics genetics.115.184093. https://doi.org/10.1534/genetics.115.184093

Chakraborty P., A. V. Pankajam, G. Lin, A. Dutta, G. N. Krishnaprasad, *et al.*, 2017 Modulating Crossover Frequency and Interference for Obligate Crossovers in *Saccharomyces cerevisiae* Meiosis. G3 (Bethesda) 7: 1511–1524. https://doi.org/10.1534/g3.117.040071

Chambers S. R., N. Hunter, E. J. Louis, and R. H. Borts, 1996 The mismatch repair system reduces meiotic homeologous recombination and stimulates recombination-dependent chromosome loss. Mol Cell Biol 16: 6110–6120.

Chaney L., A. R. Sharp, C. R. Evans, and J. A. Udall, 2016 Genome Mapping in Plant Comparative Genomics. Trends Plant Sci. 21: 770–780. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.05.004

Charlesworth B., and D. Charlesworth, 1985a Genetic variation in recombination in Drosophila. I. Responses to selection and preliminary genetic analysis. Heredity 54: 71–83.

Charlesworth B., and D. Charlesworth, 1985b Genetic variation in recombination in Drosophila. II. Genetic analysis of a high recombination stock. Heredity 54: 85–98.

Charlesworth B., 1993 Directional selection and the evolution of sex and recombination. Genet. Res. 61: 205–224.

Charlesworth B., A. J. Betancourt, V. B. Kaiser, and I. Gordo, 2009 Genetic recombination and molecular evolution. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 74: 177–186. https://doi.org/10.1101/sqb.2009.74.015

Charlesworth D., and J. H. Willis, 2009 The genetics of inbreeding depression. Nat. Rev. Genet. 10: 783–796. https://doi.org/10.1038/nrg2664

Chen S. Y., T. Tsubouchi, B. Rockmill, J. S. Sandler, D. R. Richards, *et al.*, 2008 Global Analysis of the Meiotic Crossover Landscape. Dev Cell 15: 401–415. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.07.006

Cheng C.-H., Y.-H. Lo, S.-S. Liang, S.-C. Ti, F.-M. Lin, et al., 2006 SUMO modifications control assembly of synaptonemal complex and polycomplex in meiosis of *Saccharomyces cerevisiae*. Genes Dev 20: 2067–2081. https://doi.org/10.1101/gad.1430406

Chetelat R. T., V. Meglic, and P. Cisneros, 2000 A genetic map of tomato based on BC(1) Lycopersicon esculentum x Solanum lycopersicoides reveals overall synteny but suppressed recombination between these homeologous genomes. Genetics 154: 857–867.

Chinnici J. P., 1971 Modification of Recombination Frequency in Drosophila. I. Selection for Increased and Decreased Crossing over. Genetics 69: 71–83.

Choi K., X. Zhao, K. A. Kelly, O. Venn, J. D. Higgins, *et al.*, 2013 Arabidopsis meiotic crossover hotspots overlap with H2A.Z nucleosomes at gene promoters. Nat Genet 45. https://doi.org/10.1038/ng.2766

Choi K., 2017 Advances towards Controlling Meiotic Recombination for Plant Breeding. Mol Cells 40: 814–822. https://doi.org/10.14348/molcells.2017.0171

Cole, F., Kauppi, L., Lange, J., Roig, I., Wang, R., Keeney, S., and Jasin, M. (2012). Homeostatic control of recombination is implemented progressively in mouse meiosis. Nat. Cell Biol. *14*, 424–430.

Cole F., F. Baudat, C. Grey, S. Keeney, B. de Massy, *et al.*, 2014 Mouse tetrad analysis provides insights into recombination mechanisms and hotspot evolutionary dynamics. Nat. Genet. 46: 1072–1080. https://doi.org/10.1038/ng.3068

Comeron J. M., R. Ratnappan, and S. Bailin, 2012 The Many Landscapes of Recombination in Drosophila melanogaster. PLOS Genetics 8: e1002905. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002905

Connolly B., C. I. White, and J. E. Haber, 1988 Physical monitoring of mating type switching in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol Cell Biol 8: 2342–2349.

Consortium (IWGSC) T. I. W. G. S., 2014 A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (Triticum aestivum) genome. Science 345: 1251788. https://doi.org/10.1126/science.1251788

Coop, G., Wen, X., Ober, C., Pritchard, J.K., and Przeworski, M. (2008). High-resolution mapping of crossovers reveals extensive variation in fine-scale recombination patterns among humans. Science *319*, 1395–1398.

Crismani W., C. Girard, and R. Mercier, 2013 Tinkering with meiosis. J. Exp. Bot. 64: 55–65. https://doi.org/10.1093/jxb/ers314

Cubillos F. A., E. Billi, E. Zörgö, L. Parts, P. Fargier, *et al.*, 2011a Assessing the complex architecture of polygenic traits in diverged yeast populations. Mol. Ecol. 20: 1401–1413. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05005.x

Cubillos F. A., E. Billi, E. ZöRgö, L. Parts, P. Fargier, *et al.*, 2011b Assessing the complex architecture of polygenic traits in diverged yeast populations: YEAST COMPLEX TRAITS. Molecular Ecology 20: 1401–1413. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05005.x

Cubillos F. A., L. Parts, F. Salinas, A. Bergstrom, E. Scovacricchi, *et al.*, 2013a High-Resolution Mapping of Complex Traits with a Four-Parent Advanced Intercross Yeast Population. Genetics 195: 1141–1155. https://doi.org/10.1534/genetics.113.155515

Cubillos F. A., L. Parts, F. Salinas, A. Bergström, E. Scovacricchi, *et al.*, 2013b High-Resolution Mapping of Complex Traits with a Four-Parent Advanced Intercross Yeast Population. Genetics 195: 1141–1155. https://doi.org/10.1534/genetics.113.155515

Cubillos F. A., C. Brice, J. Molinet, S. Tisné, V. Abarca, *et al.*, 2017 Identification of Nitrogen Consumption Genetic Variants in Yeast Through QTL Mapping and Bulk Segregant RNA-Seq Analyses. G3 (Bethesda) 7: 1693–1705. https://doi.org/10.1534/g3.117.042127

Datta A., M. Hendrix, M. Lipsitch, and S. Jinks-Robertson, 1997 Dual roles for DNA sequence identity and the mismatch repair system in the regulation of mitotic crossing-over in yeast. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94: 9757–9762.

Ding X., R. Xu, J. Yu, T. Xu, Y. Zhuang, *et al.*, 2007 SUN1 Is Required for Telomere Attachment to Nuclear Envelope and Gametogenesis in Mice. Developmental Cell 12: 863–872. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.03.018

Dooner H. K., 2002 Extensive interallelic polymorphisms drive meiotic recombination into a crossover pathway. Plant Cell 14: 1173–1183.

Dowrick G. J., 1957 The influence of temperature on meiosis. Heredity 11: 37–49. https://doi.org/10.1038/hdy.1957.4

Dumont B. L., K. W. Broman, and B. A. Payseur, 2009 Variation in Genomic Recombination Rates Among Heterogeneous Stock Mice. Genetics 182: 1345–1349. https://doi.org/10.1534/genetics.109.105114

Duroc Y., A. Lemhemdi, C. Larchevêque, A. Hurel, M. Cuacos, *et al.*, 2014 The kinesin AtPSS1 promotes synapsis and is required for proper crossover distribution in meiosis. PLoS Genet. 10: e1004674. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004674

edited by Richard E. Michod and Bruce R. Levin, 1988 *The Evolution of sex : an examination of current ideas*. Sinauer Associates, [1988] ©1988, Sunderland, Mass.

Edlinger B., and P. Schlögelhofer, 2011 Have a break: determinants of meiotic DNA double strand break (DSB) formation and processing in plants. J. Exp. Bot. 62: 1545–1563. https://doi.org/10.1093/jxb/erq421

Egel R., and D. Penny, 2007 On the Origin of Meiosis in Eukaryotic Evolution: Coevolution of Meiosis and Mitosis from Feeble Beginnings, pp. 249–288 in *Recombination and Meiosis*, Genome Dynamics and Stability. Springer, Berlin, Heidelberg.

Falque M., L. K. Anderson, S. M. Stack, F. Gauthier, and O. C. Martin, 2009 Two Types of Meiotic Crossovers Coexist in Maize. Plant Cell 21: 3915–3925. https://doi.org/10.1105/tpc.109.071514

Fay J. C., and J. A. Benavides, 2005 Evidence for domesticated and wild populations of *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS Genet. 1: 66–71. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0010005

Fay J. C., 2013 The molecular basis of phenotypic variation in yeast. Curr. Opin. Genet. Dev. 23: 672–677. https://doi.org/10.1016/j.gde.2013.10.005

Fernandez-Capetillo, O., Liebe, B., Scherthan, H., and Nussenzweig, A. (2003). H2AX regulates meiotic telomere clustering. J. Cell Biol. *163*, 15–20.

Fernandes J. B., M. Duhamel, M. Seguéla-Arnaud, N. Froger, C. Girard, *et al.*, 2018a FIGL1 and its novel partner FLIP form a conserved complex that regulates homologous recombination. PLoS Genet. 14: e1007317. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007317

Fernandes J. B., M. Séguéla-Arnaud, C. Larchevêque, A. H. Lloyd, and R. Mercier, 2018b Unleashing meiotic crossovers in hybrid plants. PNAS 115: 2431–2436. https://doi.org/10.1073/pnas.1713078114

Fledel-Alon A., E. M. Leffler, Y. Guan, M. Stephens, G. Coop, *et al.*, 2011 Variation in Human Recombination Rates and Its Genetic Determinants, (L. Quintana-Murci, Ed.). PLoS ONE 6: e20321. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020321

Forterre P., S. Gribaldo, D. Gadelle, and M.-C. Serre, 2007 Origin and evolution of DNA topoisomerases. Biochimie 89: 427–446. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.12.009

Francis K. E., S. Y. Lam, B. D. Harrison, A. L. Bey, L. E. Berchowitz, *et al.*, 2007 Pollen tetrad-based visual assay for meiotic recombination in Arabidopsis. Proc Natl Acad Sci U S A 104: 3913–3918. https://doi.org/10.1073/pnas.0608936104

Fransz P., G. Linc, C. Lee, S. A. Aflitos, J. R. Lasky, *et al.*, 2016 Molecular, genetic and evolutionary analysis of a paracentric inversion in Arabidopsis thaliana. Plant J 88: 159–178. https://doi.org/10.1111/tpj.13262

Fung, J.C., Rockmill, B., Odell, M., and Roeder, G.S. (2004). Imposition of crossover interference through the nonrandom distribution of synapsis initiation complexes. Cell *116*, 795–802.

Garcia V., S. E. L. Phelps, S. Gray, and M. J. Neale, 2011 Bidirectional resection of DNA double-strand breaks by Mre11 and Exo1. Nature 479: 241–244. https://doi.org/10.1038/nature10515

Garrett K. A., S. P. Dendy, E. E. Frank, M. N. Rouse, and S. E. Travers, 2006 Climate change effects on plant disease: genomes to ecosystems. Annu Rev Phytopathol 44: 489–509. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143420

Gendrel, C.-G., Boulet, A., and Dutreix, M. (2000). (CA/GT)n microsatellites affect homologous recombination during yeast meiosis. Genes Dev. *14*, 1261–1268.

Giaever G., A. M. Chu, L. Ni, C. Connelly, L. Riles, *et al.*, 2002 Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome. Nature 418: 387–391. https://doi.org/10.1038/nature00935

Girard C., W. Crismani, N. Froger, J. Mazel, A. Lemhemdi, *et al.*, 2014 FANCM-associated proteins MHF1 and MHF2, but not the other Fanconi anemia factors, limit meiotic crossovers. Nucleic Acids Res. 42: 9087–9095. https://doi.org/10.1093/nar/gku614

Giraut L., M. Falque, J. Drouaud, L. Pereira, O. C. Martin, *et al.*, 2011 Genome-Wide Crossover Distribution in *Arabidopsis thaliana* Meiosis Reveals Sex-Specific Patterns along Chromosomes. PLOS Genet 7: e1002354. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002354

Goedecke, W., Eijpe, M., Offenberg, H.H., van Aalderen, M., and Heyting, C. (1999). Mre11 and Ku70 interact in somatic cells, but are differentially expressed in early meiosis. Nat. Genet. *23*, 194–198.

Goffeau A., B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, *et al.*, 1996 Life with 6000 Genes. Science 274: 546–567. https://doi.org/10.1126/science.274.5287.546

Goldfarb T., and M. Lichten, 2010 Frequent and efficient use of the sister chromatid for DNA double-strand break repair during budding yeast meiosis. PLoS Biol. 8: e1000520. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000520

Golubovskaya I. N., O. Hamant, L. Timofejeva, C.-J. R. Wang, D. Braun, *et al.*, 2006 Alleles of afd1 dissect REC8 functions during meiotic prophase I. J. Cell. Sci. 119: 3306–3315. https://doi.org/10.1242/jcs.03054

Gómez R., A. Valdeolmillos, M. T. Parra, A. Viera, C. Carreiro, *et al.*, 2007 Mammalian SGO2 appears at the inner centromere domain and redistributes depending on tension across centromeres during meiosis II and mitosis. EMBO Rep 8: 173–180. https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400877

Gómez R., A. Viera, I. Berenguer, E. Llano, A. M. Pendás, *et al.*, 2014 Cohesin removal precedes topoisomerase IIα-dependent decatenation at centromeres in male mammalian meiosis II. Chromosoma 123: 129–146. https://doi.org/10.1007/s00412-013-0434-9

Gowen M. S., and J. W. Gowen, 1922 Complete Linkage in Drosophila melanogaster. The American Naturalist 56: 286–288.

Grelon M., D. Vezon, G. Gendrot, and G. Pelletier, 2001 AtSPO11-1 is necessary for efficient meiotic recombination in plants. EMBO J. 20: 589–600. https://doi.org/10.1093/emboj/20.3.589

Grey C., F. Baudat, and B. de Massy, 2009 Genome-Wide Control of the Distribution of Meiotic Recombination, (M. Lichten, Ed.). PLoS Biology 7: e1000035. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000035

Grey, C., Baudat, F., and de Massy, B. (2018). PRDM9, a driver of the genetic map. PLoS Genet. *14*, e1007479.

Griffiths S., R. Sharp, T. N. Foote, I. Bertin, M. Wanous, et al., 2006 Molecular characterization of Ph1 as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. Nature 439: 749–752. https://doi.org/10.1038/nature04434

Gruhn J. R., C. Rubio, K. W. Broman, P. A. Hunt, and T. Hassold, 2013 Cytological Studies of Human Meiosis: Sex-Specific Differences in Recombination Originate at, or Prior to, Establishment of Double-Strand Breaks, (D. S. Dawson, Ed.). PLoS ONE 8: e85075. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085075

Guillon, H., Baudat, F., Grey, C., Liskay, R.M., and de Massy, B. (2005). Crossover and noncrossover pathways in mouse meiosis. Mol. Cell *20*, 563–573.

Haber J. E., 2012 Mating-Type Genes and MAT Switching in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics 191: 33–64. https://doi.org/10.1534/genetics.111.134577

Haldane J., 1919 The combination of linkage values, and the calculation of distance between the loci of linked factors. J Genet 8: 299–309.

Hanada K., T. Kuromori, F. Myouga, T. Toyoda, W.-H. Li, *et al.*, 2009 Evolutionary Persistence of Functional Compensation by Duplicate Genes in Arabidopsis. Genome Biol Evol 1: 409–414. https://doi.org/10.1093/gbe/evp043

Harper L., I. Golubovskaya, and W. Z. Cande, 2004 A bouquet of chromosomes. J. Cell. Sci. 117: 4025–4032. https://doi.org/10.1242/jcs.01363

Hartung F., R. Wurz-Wildersinn, J. Fuchs, I. Schubert, S. Suer, *et al.*, 2007 The Catalytically Active Tyrosine Residues of Both SPO11-1 and SPO11-2 Are Required for Meiotic Double-Strand Break Induction in Arabidopsis. Plant Cell 19: 3090–3099. https://doi.org/10.1105/tpc.107.054817

Hassold T., S. Sherman, and P. Hunt, 2000 Counting cross-overs: characterizing meiotic recombination in mammals. Hum Mol Genet 9: 2409–2419. https://doi.org/10.1093/hmg/9.16.2409

Hawkins E., T. E. Fricker, A. J. Challinor, C. A. T. Ferro, C. K. Ho, *et al.*, 2013 Increasing influence of heat stress on French maize yields from the 1960s to the 2030s. Glob Chang Biol 19: 937–947. https://doi.org/10.1111/gcb.12069

Hayashi K., K. Yoshida, and Y. Matsui, 2005 A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase. Nature 438: 374–378. https://doi.org/10.1038/nature04112

Hibbett D. S., M. Binder, J. F. Bischoff, M. Blackwell, P. F. Cannon, *et al.*, 2007 A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. Mycol. Res. 111: 509–547. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004

Higgins J. D., E. F. Buckling, F. C. H. Franklin, and G. H. Jones, 2008 Expression and functional analysis of AtMUS81 in Arabidopsis meiosis reveals a role in the second pathway of crossing-over. Plant J. 54: 152–162. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03403.x

Higgins J. D., R. M. Perry, A. Barakate, L. Ramsay, R. Waugh, *et al.*, 2012 Spatiotemporal Asymmetry of the Meiotic Program Underlies the Predominantly Distal Distribution of Meiotic Crossovers in Barley. The Plant Cell 24: 4096–4109. https://doi.org/10.1105/tpc.112.102483

Hinch A. G., A. Tandon, N. Patterson, Y. Song, N. Rohland, *et al.*, 2011 The landscape of recombination in African Americans. Nature 476: 170–175. https://doi.org/10.1038/nature10336

Holliday R., 1964 A mechanism for gene conversion in fungi. Genetics Research 5: 282–304. https://doi.org/10.1017/S0016672300001233

Holliday R., 1988 Toward a biological understanding of the ageing process. Perspect. Biol. Med. 32: 109–123.

Hörandl E., 2009 A combinational theory for maintenance of sex. Heredity (Edinb) 103: 445–457. https://doi.org/10.1038/hdy.2009.85

Housworth E. A., and F. W. Stahl, 2003 Crossover Interference in Humans. Am J Hum Genet 73: 188–197.

Humphryes N., and A. Hochwagen, 2014 A Non-Sister Act: Recombination Template Choice During Meiosis. Exp Cell Res 329: 53–60. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.08.024

Hunter N., S. R. Chambers, E. J. Louis, and R. H. Borts, 1996 The mismatch repair system contributes to meiotic sterility in an interspecific yeast hybrid. EMBO J 15: 1726–1733.

Hunter N., 2015 Meiotic Recombination: The Essence of Heredity. Cold Spring Harb Perspect Biol 7. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016618

Hunter C. M., W. Huang, T. F. C. Mackay, and N. D. Singh, 2016 The Genetic Architecture of Natural Variation in Recombination Rate in Drosophila melanogaster, (J. Sekelsky, Ed.). PLOS Genetics 12: e1005951. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005951

Hyppa R. W., and G. R. Smith, 2010 Crossover Invariance Determined by Partner Choice for Meiotic DNA Break Repair. Cell 142: 243–255. https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.05.041

Illingworth C. J. R., L. Parts, A. Bergström, G. Liti, and V. Mustonen, 2013 Inferring Genome-Wide Recombination Landscapes from Advanced Intercross Lines: Application to Yeast Crosses, (M. Lichten, Ed.). PLoS ONE 8: e62266. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062266

Jackson, J.A., and Fink, G.R. (1985). Meiotic Recombination between Duplicated Genetic Elements in SACCHAROMYCES CEREVISIAE. Genetics *109*, 303–332.

Jahns M. T., D. Vezon, A. Chambon, L. Pereira, M. Falque, *et al.*, 2014 Crossover Localisation Is Regulated by the Neddylation Posttranslational Regulatory Pathway. PLOS Biology 12: e1001930. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001930

Jain M., A. K. Tyagi, and J. P. Khurana, 2006 Overexpression of putative topoisomerase 6 genes from rice confers stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants. FEBS J. 273: 5245–5260. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05518.x

Jankowski, C., Nasar, F., and Nag, D.K. (2000). Meiotic Instability of CAG Repeat Tracts Occurs by Double-Strand Break Repair in Yeast. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *97*, 2134–2139.

Jeffreys, A.J., and May, C.A. (2004). Intense and highly localized gene conversion activity in human meiotic crossover hot spots. Nat. Genet. *36*, 151–156.

Jeffreys A. J., and R. Neumann, 2002 Reciprocal crossover asymmetry and meiotic drive in a human recombination hot spot. Nat. Genet. 31: 267–271. https://doi.org/10.1038/ng910

Jinks-Robertson S., M. Michelitch, and S. Ramcharan, 1993 Substrate length requirements for efficient mitotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol Cell Biol 13: 3937–3950.

Jonak K., I. Zagoriy, T. Oz, P. Graf, J. Rojas, *et al.*, 2017 APC/C-Cdc20 mediates deprotection of centromeric cohesin at meiosis II in yeast. Cell Cycle 16: 1145–1152. https://doi.org/10.1080/15384101.2017.1320628

Jones G. H., and F. C. H. Franklin, 2006 Meiotic crossing-over: obligation and interference. Cell 126: 246–248. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.010

Jordan K. W., S. Wang, F. He, S. Chao, Y. Lun, *et al.*, 2018 The genetic architecture of genome-wide recombination rate variation in allopolyploid wheat revealed by nested association mapping. Plant J. https://doi.org/10.1111/tpj.14009

Kadyk, L.C., and Hartwell, L.H. (1992). Sister Chromatids Are Preferred over Homologs as Substrates for Recombinational Repair in Saccharomyces Cerevisiae. Genetics *132*, 387–402.

Keeney S., C. N. Giroux, and N. Kleckner, 1997 Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. Cell 88: 375–384.

Keeney S., and M. J. Neale, 2006 Initiation of meiotic recombination by formation of DNA double-strand breaks: mechanism and regulation. Biochemical Society Transactions 34: 523–525. https://doi.org/10.1042/BST0340523

Kianian P. M. A., M. Wang, K. Simons, F. Ghavami, Y. He, *et al.*, 2018 High-resolution crossover mapping reveals similarities and differences of male and female recombination in maize. Nature Communications 9: 2370. https://doi.org/10.1038/s41467-018-04562-5

Kidwell M. G., 1972 Genetic change of recombination value in Drosophila melanogaster. I. Artificial selection for high and low recombination and some properties of recombination-modifying genes. Genetics 70: 419–432.

Kim, S., Plagnol, V., Hu, T.T., Toomajian, C., Clark, R.M., Ossowski, S., Ecker, J.R., Weigel, D., and Nordborg, M. (2007). Recombination and linkage disequilibrium in Arabidopsis thaliana. Nat. Genet. *39*, 1151–1155.

Kleckner N., D. Zickler, G. H. Jones, J. Dekker, R. Padmore, *et al.*, 2004 A mechanical basis for chromosome function. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 12592–12597. https://doi.org/10.1073/pnas.0402724101

Klein H. L., and L. S. Symington, 2012 Sgs1—The Maestro of Recombination. Cell 149: 257–259. https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.020

Kong A., G. Thorleifsson, H. Stefansson, G. Masson, A. Helgason, *et al.*, 2008 Sequence variants in the RNF212 gene associate with genome-wide recombination rate. Science 319: 1398–1401. https://doi.org/10.1126/science.1152422

Kong, A., Thorleifsson, G., Gudbjartsson, D.F., Masson, G., Sigurdsson, A., Jonasdottir, A., Walters, G.B., Jonasdottir, A., Gylfason, A., Kristinsson, K.T., et al. (2010). Fine-scale recombination rate differences between sexes, populations and individuals. Nature *467*, 1099–1103.

Kong, A., Thorleifsson, G., Frigge, M.L., Masson, G., Gudbjartsson, D.F., Villemoes, R., Magnusdottir, E., Olafsdottir, S.B., Thorsteinsdottir, U., and Stefansson, K. (2013). Common and low-frequency variants associated with genome-wide recombination rate. Nat. Genet. *46*, 11–16.

Kosheleva K., and M. M. Desai, 2017 Recombination alters the dynamics of adaptation on standing variation in laboratory yeast populations. Mol Biol Evol. https://doi.org/10.1093/molbev/msx278

Koszul R., and N. Kleckner, 2009 Dynamic chromosome movements during meiosis: a way to eliminate unwanted connections? Trends Cell Biol 19: 716–724. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2009.09.007

Künzel, G., Korzun, L., and Meister, A. (2000). Cytologically integrated physical restriction fragment length polymorphism maps for the barley genome based on translocation breakpoints. Genetics *154*, 397–412.

Law C. N., 1963 An effect of potassium on chiasma frequency and recombination. Genetica 33: 313–329. https://doi.org/10.1007/BF01725768

Lee, C.-Y., Horn, H.F., Stewart, C.L., Burke, B., Bolcun-Filas, E., Schimenti, J.C., Dresser, M.E., and Pezza, R.J. (2015). Mechanism and Regulation of Rapid Telomere Prophase Movements in Mouse Meiotic Chromosomes. Cell Rep. *11*, 551–563.

Le Guen T., S. Ragu, J. Guirouilh-Barbat, and B. S. Lopez, 2014 Role of the double-strand break repair pathway in the maintenance of genomic stability. Mol Cell Oncol 2. https://doi.org/10.4161/23723548.2014.968020

Leflon M., L. Grandont, F. Eber, V. Huteau, O. Coriton, *et al.*, 2010 Crossovers get a boost in Brassica allotriploid and allotetraploid hybrids. Plant Cell 22: 2253–2264. https://doi.org/10.1105/tpc.110.075986

Levine R. P., and E. E. Levine, 1954 The Genotypic Control of Crossing Over in Drosophila Pseudoobscura. Genetics 39: 677–691.

Levine R. P., and E. E. Levine, 1955 Variable Crossing Over Arising in Different Strains of Drosophila Pseudoobscura. Genetics 40: 399–405.

Lichten M., and B. de Massy, 2011 The Impressionistic Landscape of Meiotic Recombination. Cell 147: 267–270. https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.038

Lichten M., and A. S. Goldman, 1995 Meiotic recombination hotspots. Annual review of genetics 29: 423–444.

Lin F.-M., Y.-J. Lai, H.-J. Shen, Y.-H. Cheng, and T.-F. Wang, 2010 Yeast axial-element protein, Red1, binds SUMO chains to promote meiotic interhomologue recombination and chromosome synapsis. The EMBO Journal 29: 586–596. https://doi.org/10.1038/emboj.2009.362

Liti G., D. B. H. Barton, and E. J. Louis, 2006 Sequence Diversity, Reproductive Isolation and Species Concepts in Saccharomyces. Genetics 174: 839–850. https://doi.org/10.1534/genetics.106.062166

Liti G., D. M. Carter, A. M. Moses, J. Warringer, L. Parts, *et al.*, 2009 Population genomics of domestic and wild yeasts. Nature 458: 337–341. https://doi.org/10.1038/nature07743

Liu S., C.-T. Yeh, T. Ji, K. Ying, H. Wu, *et al.*, 2009 Mu Transposon Insertion Sites and Meiotic Recombination Events Co-Localize with Epigenetic Marks for Open Chromatin across the Maize Genome. PLOS Genetics 5: e1000733. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000733

Liu G., J. Liu, X. Cui, and L. Cai, 2012 Sequence-dependent prediction of recombination hotspots in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Theor. Biol. 293: 49–54. https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2011.10.004

Louis E. J., and R. H. Borts, 2003 Meiotic Recombination: Too Much of a Good Thing? Current Biology 13: R953–R955. https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.11.040

Lu P., X. Han, J. Qi, J. Yang, A. J. Wijeratne, *et al.*, 2012 Analysis of Arabidopsis genome-wide variations before and after meiosis and meiotic recombination by resequencing Landsberg erecta and all four products of a single meiosis. Genome Res. 22: 508–518. https://doi.org/10.1101/gr.127522.111

Lynn A., R. Soucek, and G. V. Börner, 2007 ZMM proteins during meiosis: crossover artists at work. Chromosome Res. 15: 591–605. https://doi.org/10.1007/s10577-007-1150-1

Ma H., 2006 A Molecular Portrait of Arabidopsis Meiosis. Arabidopsis Book 4. https://doi.org/10.1199/tab.0095

Macaisne N., J. Vignard, and R. Mercier, 2011 SHOC1 and PTD form an XPF-ERCC1-like complex that is required for formation of class I crossovers. J. Cell. Sci. 124: 2687–2691. https://doi.org/10.1242/jcs.088229

Magwene P. M., Ö. Kayıkçı, J. A. Granek, J. M. Reininga, Z. Scholl, *et al.*, 2011 Outcrossing, mitotic recombination, and life-history trade-offs shape genome evolution in *Saccharomyces cerevisiae*. Proc Natl Acad Sci U S A 108: 1987–1992. https://doi.org/10.1073/pnas.1012544108

Maheshwari S., and D. A. Barbash, 2011 The genetics of hybrid incompatibilities. Annu. Rev. Genet. 45: 331–355. https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132514

Malik S.-B., M. A. Ramesh, A. M. Hulstrand, and J. M. Logsdon, 2007 Protist homologs of the meiotic Spo11 gene and topoisomerase VI reveal an evolutionary history of gene duplication and lineage-specific loss. Mol. Biol. Evol. 24: 2827–2841. https://doi.org/10.1093/molbev/msm217

Malkova A., J. Swanson, M. German, J. H. McCusker, E. A. Housworth, *et al.*, 2004 Gene Conversion and Crossing Over Along the 405-kb Left Arm of *Saccharomyces cerevisiae* Chromosome VII. Genetics 168: 49–63. https://doi.org/10.1534/genetics.104.027961

Mancera E., R. Bourgon, A. Brozzi, W. Huber, and L. M. Steinmetz, 2008a High-resolution mapping of meiotic crossovers and non-crossovers in yeast. Nature 454: 479–485. https://doi.org/10.1038/nature07135

Mancera E., R. Bourgon, A. Brozzi, W. Huber, and L. M. Steinmetz, 2008b High-resolution mapping of meiotic crossovers and noncrossovers in yeast. Nature 454: 479–485. https://doi.org/10.1038/nature07135

Margulis L., and D. Sagan, 1990 *Origins of Sex: Three Billion Years of Genetic Recombination*. Yale University Press.

Margulis L., and D. Sagan, 1997 *Microcosmos: Four Billion Years of Microbial Evolution*. University of California Press.

Marimuthu M. P. A., S. Jolivet, M. Ravi, L. Pereira, J. N. Davda, *et al.*, 2011 Synthetic Clonal Reproduction Through Seeds. Science 331: 876–876. https://doi.org/10.1126/science.1199682

Marsolier-Kergoat M.-C., M. M. Khan, J. Schott, X. Zhu, and B. Llorente, 2018 Mechanistic View and Genetic Control of DNA Recombination during Meiosis. Mol. Cell 70: 9-20.e6. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.02.032

Martini, E., Diaz, R.L., Hunter, N., and Keeney, S. (2006). Crossover homeostasis in yeast meiosis. Cell *126*, 285–295.

Massy B. de, 2013a Initiation of Meiotic Recombination: How and Where? Conservation and Specificities Among Eukaryotes. Annual Review of Genetics 47: 563–599. https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155423

Massy B. de, 2013b Initiation of meiotic recombination: how and where? Conservation and specificities among eukaryotes. Annu. Rev. Genet. 47: 563–599. https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155423

Mayer K. F. X., M. Martis, P. E. Hedley, H. Simková, H. Liu, *et al.*, 2011 Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. Plant Cell 23: 1249–1263. https://doi.org/10.1105/tpc.110.082537

McDonald M. J., D. P. Rice, and M. M. Desai, 2016 Sex speeds adaptation by altering the dynamics of molecular evolution. Nature 531: 233–236. https://doi.org/10.1038/nature17143

McKim, K.S., Peters, K., and Rose, A.M. (1993). Two types of sites required for meiotic chromosome pairing in Caenorhabditis elegans. Genetics *134*, 749–768.

McMullen M. D., S. Kresovich, H. S. Villeda, P. Bradbury, H. Li, *et al.*, 2009 Genetic Properties of the Maize Nested Association Mapping Population. Science 325: 737–740. https://doi.org/10.1126/science.1174320

McPeek M. S., and T. P. Speed, 1995 Modeling Interference in Genetic Recombination. Genetics 139: 1031–1044.

Mehrotra, S., and McKim, K.S. (2006). Temporal Analysis of Meiotic DNA Double-Strand Break Formation and Repair in Drosophila Females. PLoS Genet. *2*.

Melamed-Bessudo C., E. Yehuda, A. R. Stuitje, and A. A. Levy, 2005 A new seed-based assay for meiotic recombination in Arabidopsis thaliana. The Plant Journal 43: 458–466. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02466.x

Melamed-Bessudo C., and A. A. Levy, 2012 Deficiency in DNA methylation increases meiotic crossover rates in euchromatic but not in heterochromatic regions in Arabidopsis. PNAS 109: E981–E988. https://doi.org/10.1073/pnas.1120742109

Meneely P. M., A. F. Farago, and T. M. Kauffman, 2002 Crossover distribution and high interference for both the X chromosome and an autosome during oogenesis and spermatogenesis in Caenorhabditis elegans. Genetics 162: 1169–1177.

Mercier R., C. Mézard, E. Jenczewski, N. Macaisne, and M. Grelon, 2015 The Molecular Biology of Meiosis in Plants. Annual Review of Plant Biology 66: 297–327. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035923

Meuwissen R. L., H. H. Offenberg, A. J. Dietrich, A. Riesewijk, M. van Iersel, *et al.*, 1992 A coiled-coil related protein specific for synapsed regions of meiotic prophase chromosomes. EMBO J. 11: 5091–5100.

Mézard C., M. Tagliaro Jahns, and M. Grelon, 2015a Where to cross? New insights into the location of meiotic crossovers. Trends in Genetics 31: 393–401. https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.03.008

Mézard C., M. T. Jahns, and M. Grelon, 2015b Where to cross? New insights into the location of meiotic crossovers. Trends in Genetics 31: 393–401. https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.03.008

Mirouze M., M. Lieberman-Lazarovich, R. Aversano, E. Bucher, J. Nicolet, *et al.*, 2012 Loss of DNA methylation affects the recombination landscape in Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of Sciences 109: 5880–5885. https://doi.org/10.1073/pnas.1120841109

Morgan T. H., 1914 No Crossing over in the Male of Drosophila of Genes in the Second and Third Pairs of Chromosomes. Biological Bulletin 26: 195–204. https://doi.org/10.2307/1536193

Morgan T. H., 1915 The Mechanism of Mendelian heredity. New York : H. Holt and company.

Munz P., 1994 An Analysis of Interference in the Fission Yeast Schizosaccharomyces Pombe. Genetics 137: 701–707.

Muyt A. D., R. Mercier, C. Mézard, and M. Grelon, 2009 Meiotic recombination and crossovers in plants. Genome Dyn 5: 14–25. https://doi.org/10.1159/000166616

Myers S., L. Bottolo, C. Freeman, G. McVean, and P. Donnelly, 2005 A fine-scale map of recombination rates and hotspots across the human genome. Science 310: 321–324. https://doi.org/10.1126/science.1117196

Myers S., C. C. A. Spencer, A. Auton, L. Bottolo, C. Freeman, *et al.*, 2006 The distribution and causes of meiotic recombination in the human genome. Biochem. Soc. Trans. 34: 526–530. https://doi.org/10.1042/BST0340526

Myers, S., Freeman, C., Auton, A., Donnelly, P., and McVean, G. (2008). A common sequence motif associated with recombination hot spots and genome instability in humans. Nat. Genet. *40*, 1124–1129.

Myers S., R. Bowden, A. Tumian, R. E. Bontrop, C. Freeman, *et al.*, 2009 Drive Against Hotspot Motifs in Primates Implicates the PRDM9 Gene in Meiotic Recombination. Science 327: 876–879. https://doi.org/10.1126/science.1182363

Nasar, F., Jankowski, C., and Nag, D.K. (2000). Long Palindromic Sequences Induce Double-Strand Breaks during Meiosis in Yeast. Mol. Cell. Biol. *20*, 3449–3458.

Neale M. J., J. Pan, and S. Keeney, 2005 Endonucleolytic processing of covalent protein-linked DNA double-strand breaks. Nature 436: 1053–1057. https://doi.org/10.1038/nature03872

Niklas K. J., E. D. Cobb, and U. Kutschera, 2014 Did meiosis evolve before sex and the evolution of eukaryotic life cycles? Bioessays 36: 1091–1101. https://doi.org/10.1002/bies.201400045

Niu B., L. Wang, L. Zhang, D. Ren, R. Ren, et al., 2015 Arabidopsis Cell Division Cycle 20.1 Is Required for Normal Meiotic Spindle Assembly and Chromosome Segregation[OPEN]. Plant Cell 27: 3367–3382. https://doi.org/10.1105/tpc.15.00834

Opperman R., E. Emmanuel, and A. A. Levy, 2004 The Effect of Sequence Divergence on Recombination Between Direct Repeats in Arabidopsis. Genetics 168: 2207–2215. https://doi.org/10.1534/genetics.104.032896

Otto S. P., and N. H. Barton, 2001 Selection for recombination in small populations. Evolution 55: 1921–1931.

Page, S.L., and Hawley, R.S. (2001). c(3)G encodes a Drosophila synaptonemal complex protein. Genes Dev. *15*, 3130–3143.

Page S. L., and R. S. Hawley, 2004 The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 20: 525–558. https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.19.111301.155141

Pan J., M. Sasaki, R. Kniewel, H. Murakami, H. G. Blitzblau, *et al.*, 2011 A hierarchical combination of factors shapes the genome-wide topography of yeast meiotic recombination initiation. Cell 144: 719–731. https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.009

Parts L., F. A. Cubillos, J. Warringer, K. Jain, F. Salinas, *et al.*, 2011a Revealing the genetic structure of a trait by sequencing a population under selection. Genome Res 21: 1131–1138. https://doi.org/10.1101/gr.116731.110

Parts L., F. A. Cubillos, J. Warringer, K. Jain, F. Salinas, *et al.*, 2011b Revealing the genetic structure of a trait by sequencing a population under selection. Genome Research 21: 1131–1138. https://doi.org/10.1101/gr.116731.110

Parvanov E. D., P. M. Petkov, and K. Paigen, 2009 Prdm9 Controls Activation of Mammalian Recombination Hotspots. Science 327: 835–835. https://doi.org/10.1126/science.1181495

Parvinen M., and K.-O. Söderström, 1976 Chromosome rotation and formation of synapsis. Nature 260: 534–535. https://doi.org/10.1038/260534a0

Pawlowski W. P., I. N. Golubovskaya, and W. Z. Cande, 2003 Altered Nuclear Distribution of Recombination Protein RAD51 in Maize Mutants Suggests the Involvement of RAD51 in Meiotic Homology Recognition. Plant Cell 15: 1807–1816. https://doi.org/10.1105/tpc.012898

Pecinka A., W. Fang, M. Rehmsmeier, A. A. Levy, and O. Mittelsten Scheid, 2011 Polyploidization increases meiotic recombination frequency in Arabidopsis. BMC Biology 9: 24. https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-24

Pelé A., M. Falque, G. Trotoux, F. Eber, S. Nègre, *et al.*, 2017a Amplifying recombination genome-wide and reshaping crossover landscapes in Brassicas. PLOS Genetics 13: e1006794. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006794

Pelé A., M. Falque, G. Trotoux, F. Eber, S. Nègre, *et al.*, 2017b Amplifying recombination genome-wide and reshaping crossover landscapes in Brassicas. PLoS Genet 13. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006794

Peltonen-Sainio P., T. Salo, L. Jauhiainen, H. Lehtonen, and E. Sieviläinen, 2015 Static yields and quality issues: Is the agri-environment program the primary driver? Ambio 44: 544–556. https://doi.org/10.1007/s13280-015-0637-9

Pesin J. A., and T. L. Orr-Weaver, 2008 Regulation of APC/C activators in mitosis and meiosis. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 24: 475–499. https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.041408.115949

Peter J., M. De Chiara, A. Friedrich, J.-X. Yue, D. Pflieger, *et al.*, 2018 Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates. Nature 556: 339–344. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0030-5

Peters J.-M., 2006 The anaphase promoting complex/cyclosome: a machine designed to destroy. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 7: 644–656. https://doi.org/10.1038/nrm1988

Petes T. D., and J. D. Merker, 2002 Context dependence of meiotic recombination hotspots in yeast: the relationship between recombination activity of a reporter construct and base composition. Genetics 162: 2049–2052.

Phillips D., G. Jenkins, M. Macaulay, C. Nibau, J. Wnetrzak, *et al.*, 2015a The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. New Phytol. 208: 421–429. https://doi.org/10.1111/nph.13548

Phillips D., G. Jenkins, M. Macaulay, C. Nibau, J. Wnetrzak, *et al.*, 2015b The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. New Phytol. 208: 421–429. https://doi.org/10.1111/nph.13548

Plough H. H., 2005 The effect of temperature on crossingover in Drosophila. Journal of Experimental Zoology 24: 147–209. https://doi.org/10.1002/jez.1400240202

Pratto F., K. Brick, P. Khil, F. Smagulova, G. V. Petukhova, *et al.*, 2014 Recombination initiation maps of individual human genomes. Science 346: 1256442. https://doi.org/10.1126/science.1256442

Qiao H., H. B. D. Prasada Rao, Y. Yang, J. H. Fong, J. M. Cloutier, *et al.*, 2014 Antagonistic roles of ubiquitin ligase HEI10 and SUMO ligase RNF212 regulate meiotic recombination. Nat. Genet. 46: 194–199. https://doi.org/10.1038/ng.2858

Raffoux X., M. Bourge, F. Dumas, O. C. Martin, and M. Falque, 2018 High throughput measurement of recombination rates and genetic interference in *S. cerevisiae*. Yeast. https://doi.org/10.1002/yea.3315

Ramesh M. A., S.-B. Malik, and J. M. Logsdon, 2005 A phylogenomic inventory of meiotic genes; evidence for sex in Giardia and an early eukaryotic origin of meiosis. Curr. Biol. 15: 185–191. https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.01.003

Ray D. K., N. Ramankutty, N. D. Mueller, P. C. West, and J. A. Foley, 2012 Recent patterns of crop yield growth and stagnation. Nat Commun 3: 1293. https://doi.org/10.1038/ncomms2296

Reynolds A., H. Qiao, Y. Yang, J. K. Chen, N. Jackson, *et al.*, 2013 RNF212 is a dosage-sensitive regulator of crossing-over during mammalian meiosis. Nature Genetics 45: 269–278. https://doi.org/10.1038/ng.2541

Rick C. M., 1969 Controlled Introgression of Chromosomes of SOLANUM PENNELLII into LYCOPERSICON ESCULENTUM: Segregation and Recombination. Genetics 62: 753–768.

Ritz K. R., M. A. F. Noor, and N. D. Singh, 2017 Variation in Recombination Rate: Adaptive or Not? Trends in Genetics 33: 364–374. https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.03.003

Rockmill B., J. C. Fung, S. S. Branda, and G. S. Roeder, 2003 The Sgs1 helicase regulates chromosome synapsis and meiotic crossing over. Curr. Biol. 13: 1954–1962.

Rodell C. F., M. R. Schipper, and D. K. Keenan, 2004 Modes of Selection and Recombination Response in Drosophila melanogaster. J Hered 95: 70–75. https://doi.org/10.1093/jhered/esh016

Rodgers-Melnick E., P. J. Bradbury, R. J. Elshire, J. C. Glaubitz, C. B. Acharya, *et al.*, 2015 Recombination in diverse maize is stable, predictable, and associated with genetic load. Proceedings of the National Academy of Sciences 201413864. https://doi.org/10.1073/pnas.1413864112

Rubnitz J., and S. Subramani, 1984 The minimum amount of homology required for homologous recombination in mammalian cells. Mol. Cell. Biol. 4: 2253–2258.

Ruderfer D. M., S. C. Pratt, H. S. Seidel, and L. Kruglyak, 2006 Population genomic analysis of outcrossing and recombination in yeast. Nat. Genet. 38: 1077–1081. https://doi.org/10.1038/ng1859

Saini R., A. K. Singh, S. Dhanapal, T. H. Saeed, G. J. Hyde, *et al.*, 2017 Brief temperature stress during reproductive stages alters meiotic recombination and somatic mutation rates in the progeny of Arabidopsis. BMC Plant Biol 17. https://doi.org/10.1186/s12870-017-1051-1

Salinas F., F. A. Cubillos, D. Soto, V. Garcia, A. Bergström, *et al.*, 2012 The Genetic Basis of Natural Variation in Oenological Traits in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS One 7. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049640

Salomé P. A., K. Bomblies, J. Fitz, R. a. E. Laitinen, N. Warthmann, *et al.*, 2012 The recombination landscape in *Arabidopsis thaliana* F2 populations. Heredity (Edinb) 108: 447–455. https://doi.org/10.1038/hdy.2011.95

Sandhu D., and K. S. Gill, 2002 Gene-containing regions of wheat and the other grass genomes. Plant Physiol. 128: 803–811. https://doi.org/10.1104/pp.010745

Sandor C., W. Li, W. Coppieters, T. Druet, C. Charlier, *et al.*, 2012 Genetic Variants in REC8, RNF212, and PRDM9 Influence Male Recombination in Cattle. PLoS Genet 8. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002854

de los Santos, T., Loidl, J., Larkin, B., and Hollingsworth, N.M. (2001). A role for MMS4 in the processing of recombination intermediates during meiosis in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics *159*, 1511–1525.

Santos T. de los, N. Hunter, C. Lee, B. Larkin, J. Loidl, *et al.*, 2003 The Mus81/Mms4 endonuclease acts independently of double-Holliday junction resolution to promote a distinct subset of crossovers during meiosis in budding yeast. Genetics 164: 81–94.

Sasaki, M., Tischfield, S.E., van Overbeek, M., and Keeney, S. (2013). Meiotic Recombination Initiation in and around Retrotransposable Elements in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS Genet. *9*, e1003732.

Scherthan H., 2001 A bouquet makes ends meet. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2: 621–627. https://doi.org/10.1038/35085086

Schwacha A., and N. Kleckner, 1995 Identification of double holliday junctions as intermediates in meiotic recombination. Cell 83: 783–791. https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90191-4

Schwartz E. K., and W.-D. Heyer, 2011 Processing of joint molecule intermediates by structure-selective endonucleases during homologous recombination in eukaryotes. Chromosoma 120: 109–127. https://doi.org/10.1007/s00412-010-0304-7

Schwartz, E.K., Wright, W.D., Ehmsen, K.T., Evans, J.E., Stahlberg, H., and Heyer, W.-D. (2012). Mus81-Mms4 functions as a single heterodimer to cleave nicked intermediates in recombinational DNA repair. Mol. Cell. Biol. *32*, 3065–3080.

Séguéla-Arnaud M., W. Crismani, C. Larchevêque, J. Mazel, N. Froger, *et al.*, 2015 Multiple mechanisms limit meiotic crossovers: TOP3α and two BLM homologs antagonize crossovers in parallel to FANCM. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 112: 4713–4718. https://doi.org/10.1073/pnas.1423107112

Séguéla-Arnaud M., S. Choinard, C. Larchevêque, C. Girard, N. Froger, *et al.*, 2017 RMI1 and TOP3α limit meiotic CO formation through their C-terminal domains. Nucleic Acids Res 45: 1860–1871. https://doi.org/10.1093/nar/gkw1210

Serra H., C. Lambing, C. H. Griffin, S. D. Topp, D. C. Nageswaran, *et al.*, 2018 Massive crossover elevation *via* combination of HEI10 and recq4a recq4b during Arabidopsis meiosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 115: 2437–2442. https://doi.org/10.1073/pnas.1713071115

Serrentino M.-E., E. Chaplais, V. Sommermeyer, and V. Borde, 2013 Differential Association of the Conserved SUMO Ligase Zip3 with Meiotic Double-Strand Break Sites Reveals Regional Variations in the Outcome of Meiotic Recombination. PLoS Genet 9. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003416

Sheridan S. D., X. Yu, R. Roth, J. E. Heuser, M. G. Sehorn, *et al.*, 2008 A comparative analysis of Dmc1 and Rad51 nucleoprotein filaments. Nucleic Acids Res 36: 4057–4066. https://doi.org/10.1093/nar/gkn352

Shibuya, H., Morimoto, A., and Watanabe, Y. (2014a). The dissection of meiotic chromosome movement in mice using an in vivo electroporation technique. PLoS Genet. *10*, e1004821.

Shibuya, H., Ishiguro, K., and Watanabe, Y. (2014b). The TRF1-binding protein TERB1 promotes chromosome movement and telomere rigidity in meiosis. Nat. Cell Biol. *16*, 145–156.

Shinohara M., K. Sakai, A. Shinohara, and D. K. Bishop, 2003 Crossover interference in *Saccharomyces cerevisiae* requires a TID1/RDH54- and DMC1-dependent pathway. Genetics 163: 1273–1286.

Si W., Y. Yuan, J. Huang, X. Zhang, Y. Zhang, *et al.*, 2015 Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F2 plants. New Phytol. 206: 1491–1502. https://doi.org/10.1111/nph.13319

Si W., Y. Yuan, J. Huang, X. Zhang, Y. Zhang, *et al.*, Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F2 plants. New Phytologist 206: 1491–1502. https://doi.org/10.1111/nph.13319

Sicard D., and J.-L. Legras, 2011 Bread, beer and wine: yeast domestication in the Saccharomyces sensu stricto complex. C. R. Biol. 334: 229–236. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.12.016

Smagulova F., I. V. Gregoretti, K. Brick, P. Khil, R. D. Camerini-Otero, *et al.*, 2011 Genome-wide analysis reveals novel molecular features of mouse recombination hotspots. Nature 472: 375–378. https://doi.org/10.1038/nature09869

Smith G. R., M. N. Boddy, P. Shanahan, and P. Russell, 2003 Fission yeast Mus81.Eme1 Holliday junction resolvase is required for meiotic crossing over but not for gene conversion. Genetics 165: 2289–2293.

Sommermeyer V., C. Béneut, E. Chaplais, M. E. Serrentino, and V. Borde, 2012 Spp1, a Member of the Set1 Complex, Promotes Meiotic DSB Formation in Promoters by Tethering Histone H3K4 Methylation Sites to Chromosome Axes. Molecular Cell. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.11.008

Stacey N. J., T. Kuromori, Y. Azumi, G. Roberts, C. Breuer, *et al.*, 2006 Arabidopsis SPO11-2 functions with SPO11-1 in meiotic recombination. Plant J. 48: 206–216. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02867.x

Stahl F. W., H. M. Foss, L. S. Young, R. H. Borts, M. F. F. Abdullah, *et al.*, 2004 Does Crossover Interference Count in *Saccharomyces cerevisiae*? Genetics 168: 35–48. https://doi.org/10.1534/genetics.104.027789

Storlazzi A., S. Tessé, S. Gargano, F. James, N. Kleckner, *et al.*, 2003 Meiotic double-strand breaks at the interface of chromosome movement, chromosome remodeling, and reductional division. Genes Dev. 17: 2675–2687. https://doi.org/10.1101/gad.275203

Suay L., D. Zhang, F. Eber, H. Jouy, M. Lodé, *et al.*, Crossover rate between homologous chromosomes and interference are regulated by the addition of specific unpaired chromosomes in Brassica. New Phytologist 201: 645–656. https://doi.org/10.1111/nph.12534

Sun S., and J. Heitman, 2011 Is sex necessary? BMC Biol. 9: 56. https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-56

Sun L., J. Wang, M. Sang, L. Jiang, B. Zhao, *et al.*, 2017 Landscaping Crossover Interference Across a Genome. Trends in Plant Science 22: 894–907. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.06.008

Székvölgyi L., and A. Nicolas, 2010 From meiosis to postmeiotic events: homologous recombination is obligatory but flexible. FEBS J. 277: 571–589. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07502.x

Szostak, J.W., Orr-Weaver, T.L., Rothstein, R.J., and Stahl, F.W. (1983). The double-strand-break repair model for recombination. Cell *33*, 25–35.

Tanaka Y., 1953 Genetics of the Silkworm, Bombyx mori**Contributions from the National Institute of Genetics, Japan, No. 33., pp. 239–317 in *Advances in Genetics*, edited by Demerec M. Academic Press.

Terasawa, M., Ogawa, H., Tsukamoto, Y., Shinohara, M., Shirahige, K., Kleckner, N., and Ogawa, T. (2007). Meiotic recombination-related DNA synthesis and its implications for cross-over and non-cross-over recombinant formation. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *104*, 5965–5970.

Tessé S., H.-M. Bourbon, R. Debuchy, K. Budin, E. Dubois, et al., 2017 Asy2/Mer2: an evolutionarily conserved mediator of meiotic recombination, pairing, and global chromosome compaction. Genes Dev 31: 1880–1893. https://doi.org/10.1101/gad.304543.117

Thacker D., I. Lam, M. Knop, and S. Keeney, 2011 Exploiting Spore-Autonomous Fluorescent Protein Expression to Quantify Meiotic Chromosome Behaviors in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics 189: 423–439. https://doi.org/10.1534/genetics.111.131326

Turner, J.M.A., Mahadevaiah, S.K., Fernandez-Capetillo, O., Nussenzweig, A., Xu, X., Deng, C.-X., and Burgoyne, P.S. (2005). Silencing of unsynapsed meiotic chromosomes in the mouse. Nat. Genet. *37*, 41–47.

úBeda, F., and Wilkins, J.F. (2011). The Red Queen theory of recombination hotspots: Red Queen and recombination hotspots. J. Evol. Biol. *24*, 541–553.

Wanat J. J., K. P. Kim, R. Koszul, S. Zanders, B. Weiner, *et al.*, 2008 Csm4, in Collaboration with Ndj1, Mediates Telomere-Led Chromosome Dynamics and Recombination during Yeast Meiosis. PLOS Genetics 4: e1000188. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000188

Wang Y., and G. P. Copenhaver, 2018 Meiotic Recombination: Mixing It Up in Plants. Annu Rev Plant Biol 69: 577–609. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040431

Ward J. O., L. G. Reinholdt, W. W. Motley, L. M. Niswander, D. C. Deacon, et al., 2007 Mutation in mouse hei10, an e3 ubiquitin ligase, disrupts meiotic crossing over. PLoS Genet. 3: e139. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030139

Warringer J., E. Zörgö, F. A. Cubillos, A. Zia, A. Gjuvsland, *et al.*, 2011 Trait Variation in Yeast Is Defined by Population History. PLoS Genet 7. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002111

Watson I. D., and H. G. Callan, 1963 The Form of Bivalent Chromosomes in Newt Oocytes at First Metaphase of Meiosis. Journal of Cell Science s3-104: 281–295.

Wijnker E., K. van Dun, C. B. de Snoo, C. L. C. Lelivelt, J. J. B. Keurentjes, *et al.*, 2012 Reverse breeding in *Arabidopsis thaliana* generates homozygous parental lines from a heterozygous plant. Nature Genetics 44: 467–470. https://doi.org/10.1038/ng.2203

Wijnker E., G. Velikkakam James, J. Ding, F. Becker, J. R. Klasen, *et al.*, 2013 The genomic landscape of meiotic crossovers and gene conversions in Arabidopsis thaliana. Elife 2: e01426. https://doi.org/10.7554/eLife.01426

Wilkins A. S., and R. Holliday, 2009 The Evolution of Meiosis From Mitosis. Genetics 181: 3–12. https://doi.org/10.1534/genetics.108.099762

Woglar A., and V. Jantsch, 2014 Chromosome movement in meiosis I prophase of Caenorhabditis elegans. Chromosoma 123: 15–24. https://doi.org/10.1007/s00412-013-0436-7

Wu T.-C., and M. Lichten, 1995 Factors that affect the location and frequency of meiosis-induced double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics 140: 55–66.

Yamada, S., Kim, S., Tischfield, S.E., Jasin, M., Lange, J., and Keeney, S. (2017). Genomic and chromatin features shaping meiotic double-strand break formation and repair in mice. Cell Cycle Georget. Tex *16*, 1870–1884.

Yamashita, A., Sakuno, T., Watanabe, Y., and Yamamoto, M. (2017). Analysis of *Schizosaccharomyces pombe* Meiosis. Cold Spring Harb. Protoc. *2017*, pdb.top079855.

Yelina N. E., K. Choi, L. Chelysheva, M. Macaulay, B. de Snoo, *et al.*, 2012 Epigenetic Remodeling of Meiotic Crossover Frequency in *Arabidopsis thaliana* DNA Methyltransferase Mutants, (G. S. Barsh, Ed.). PLoS Genetics 8: e1002844. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002844

Yelina N. E., P. A. Ziolkowski, N. Miller, X. Zhao, K. A. Kelly, *et al.*, 2013 High-throughput analysis of meiotic crossover frequency and interference *via* flow cytometry of fluorescent pollen in Arabidopsis thaliana. Nat. Protocols 8: 2119–2134. https://doi.org/10.1038/nprot.2013.131

Yelina N., P. Diaz, C. Lambing, and I. R. Henderson, 2015a Epigenetic control of meiotic recombination in plants. Science China Life Sciences 58: 223–231. https://doi.org/10.1007/s11427-015-4811-x

Yelina N. E., C. Lambing, T. J. Hardcastle, X. Zhao, B. Santos, *et al.*, 2015b DNA methylation epigenetically silences crossover hot spots and controls chromosomal domains of meiotic recombination in Arabidopsis. Genes Dev. 29: 2183–2202. https://doi.org/10.1101/gad.270876.115

Youds J. L., and S. J. Boulton, 2011 The choice in meiosis – defining the factors that influence crossover or non-crossover formation. J Cell Sci 124: 501–513. https://doi.org/10.1242/jcs.074427

Zakharyevich K., S. Tang, Y. Ma, and N. Hunter, 2012 Delineation of joint molecule resolution pathways in meiosis identifies a crossover-specific resolvase. Cell 149: 334–347. https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.023

Zamudio, N., Barau, J., Teissandier, A., Walter, M., Borsos, M., Servant, N., and Bourc'his, D. (2015). DNA methylation restrains transposons from adopting a chromatin signature permissive for meiotic recombination. Genes Dev. *29*, 1256–1270.

Zhang L., Z. Liang, J. Hutchinson, and N. Kleckner, 2014a Crossover Patterning by the Beam-Film Model: Analysis and Implications, (R. S. Hawley, Ed.). PLoS Genetics 10: e1004042. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004042

Zhang L., E. Espagne, A. de Muyt, D. Zickler, and N. E. Kleckner, 2014b Interference-mediated synaptonemal complex formation with embedded crossover designation. Proc Natl Acad Sci U S A 111: E5059–E5068. https://doi.org/10.1073/pnas.1416411111

Zhang K., X.-C. Wu, D.-Q. Zheng, and T. D. Petes, 2017 Effects of Temperature on the Meiotic Recombination Landscape of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. mBio 8: e02099-17. https://doi.org/10.1128/mBio.02099-17

Zhao H., T. P. Speed, and M. S. McPeek, 1995 Statistical analysis of crossover interference using the chi-square model. Genetics 139: 1045–1056.

Zhao C., S. Piao, X. Wang, Y. Huang, P. Ciais, *et al.*, 2016 Plausible rice yield losses under future climate warming. Nat Plants 3: 16202. https://doi.org/10.1038/nplants.2016.202

Zickler D., and N. Kleckner, 1998 The leptotene-zygotene transition of meiosis. Annu. Rev. Genet. 32: 619–697. https://doi.org/10.1146/annurev.genet.32.1.619

Zickler, D., and Kleckner, N. (1999). Meiotic Chromosomes: Integrating Structure and Function. Annu. Rev. Genet. *33*, 603–754.

Zickler D., and N. Kleckner, 2016 A Few of Our Favorite Things: Pairing, the Bouquet, Crossover Interference and Evolution of Meiosis. Semin Cell Dev Biol 54: 135–148. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.02.024

Ziolkowski P. A., L. E. Berchowitz, C. Lambing, N. E. Yelina, X. Zhao, *et al.*, 2015 Juxtaposition of heterozygous and homozygous regions causes reciprocal crossover remodelling *via* interference during Arabidopsis meiosis. eLife Sciences 4: e03708. https://doi.org/10.7554/eLife.03708

Ziolkowski P. A., and I. R. Henderson, 2017 Interconnections between meiotic recombination and sequence polymorphism in plant genomes. New Phytol. 213: 1022–1029. https://doi.org/10.1111/nph.14265

Ziolkowski P. A., C. J. Underwood, C. Lambing, M. Martinez-Garcia, E. J. Lawrence, *et al.*, 2017 Natural variation and dosage of the HEI10 meiotic E3 ligase control Arabidopsis crossover recombination. Genes Dev 31: 306–317. https://doi.org/10.1101/gad.295501.116

Résumé grand public

Les chromosomes sont les supports physiques de l'information génétique. Thomas Morgan (1866-1945) a observé que certains caractères peuvent être déterminés par des facteurs (ou gènes) situés sur un même chromosome, mais qui peuvent pourtant se dissocier chez une partie des descendants. Ce réassortiment a lieu lors de la méiose, c'est à dire la fabrication des gamètes (ex. spermatozoïdes et ovules). Pour que chaque gamète contienne un jeu complet de chromosomes, des liens physiques doivent être créés lors de la méiose entre les deux exemplaires de chaque chromosome (homologues), l'un venant de la mère et l'autre du père. Ces liens conduisent à un échange réciproque de matériel génétique que l'on appelle recombinaison. C'est ainsi que deux gènes l'un venant de la mère et l'autre venant du père, peuvent se retrouver sur un même chromosome dans un gamète, et donc dans un descendant qui présentera ainsi une nouvelle combinaison de caractères qui n'existait pas chez les parents.

Un des défis de la génétique moderne est d'identifier les régions du génome responsables de la variation de caractères importants pour l'agriculture ou la médecine. Pour cela, quelle que soit la méthode utilisée, les chercheurs exploitent les évènements de recombinaison se produisant de part et d'autre de la région ciblée. La précision de l'approche dépend donc essentiellement du nombre et de la position des points de recombinaison, afin d'identifier la plus petite région possible associée à un caractère. Les évènements de recombinaison n'étant pas répartis régulièrement le long du génome, il est parfois difficile, voire impossible, de localiser les régions contrôlant un caractère, lorsque celles-ci sont situées dans une zone du génome peu ou pas recombinante. De même, il est quasiment impossible de rassembler dans un même descendant des gènes de parents différents situés dans une même région très peu recombinante, sauf à recourir à des OGM.

Ainsi, comprendre les facteurs génétiques contrôlant le nombre et la position des évènements de recombinaison est un enjeu crucial pour la médecine, l'agriculture, ou la recherche fondamentale.

Durant ma thèse, j'ai développé une approche originale de mesure à haut débit de la recombinaison chez la levure de bière. Cela m'a permis d'étudier la diversité de la recombinaison au sein d'une collection de 24 souches représentatives de la diversité de l'espèce, ainsi que dans les descendants de différents croisements entre souches. Les résultats montrent que la levure recombine plus que la majorité des autres espèces. Le niveau de recombinaison varie le long des chromosomes et ces profils de recombinaison peuvent être différents entre les souches, avec des variations jusqu'à un facteur 9 entre souches pour certaines régions. Les hybrides entre parents éloignés présentent un niveau de recombinaison plus faible du fait de la divergence de séquence entre les chromosomes homologues, mais lorsque les chromosomes parentaux sont identiques aussi, le niveau de recombinaison est réduit (effet de la consanguinité). Il existe par ailleurs des gènes qui modulent la recombinaison de façon globale sur l'ensemble des régions chromosomiques. Ce travail va être prolongé par une expérience visant à sélectionner sur plusieurs générations des levures qui recombinent davantage, ce qui permettra de découvrir des gènes contrôlant la recombinaison.

General public summary

Chromosomes are the physical carriers of genetic information. Thomas Morgan (1866-1945) observed that certain traits can be determined by factors (or genes) located on the same chromosome, which can nevertheless be dissociated in a part of the progeny. This reassortment takes place during meiosis, *ie* the production of gametes (eg spermatozoa, ovocytes). In order that each gamete contains a complete set of chromosomes, physical links must be created during meiosis between the two copies of each chromosome (homologs), one inherited from the mother and the other from the father. These links lead to a reciprocal exchange of genetic material called “recombination”. Consequently, one gene coming from the mother and another one coming from the father can be found on the same chromosome in a gamete, and thus in an offspring, which will thus present a new combination of traits that did not exist in the parents.

One challenge of modern genetics is to identify regions of the genome responsible for the variation of agronomic or health-related traits. In this way, whatever the method used, the researchers exploit the recombination events occurring on both sides of the targeted region. The precision of the approach therefore essentially depends on the number and the position of recombination breakpoints, in order to identify the smallest possible region associated with a trait. As recombination events are not evenly distributed along the genome, it is sometimes difficult, if not impossible, to locate the region controlling a trait when this region is located in a zone of the genome with little or no recombination. Similarly, it’s almost impossible, except by using GMOs, to assemble together in the same offspring genes of different parents, that are located in the same chromosomal region with very little recombination.

So, understanding the genetic factors controlling the number and the position of recombination events is a crucial issue for medicine, agriculture, or basic research.

During my thesis, I developed a high-throughput method to measure recombination in baker's yeast. This allowed me to study the diversity of recombination within a collection of 24 strains representative of the diversity of the species, as well as in the progeny of different crosses between strains. The results show that yeast recombines more than most other species. The level of recombination varies along chromosomes and these recombination patterns can be different between strains, with variations up to 9-fold in certain regions. Hybrids between distant relatives exhibit lower levels of recombination due to sequence divergence between homologous chromosomes, but also when parental chromosomes are identical, the level of recombination is reduced (inbreeding effect). Elsewhere, there are factors that modulate recombination globally across all chromosomal regions. This work also includes a research project for an experiment aiming at selecting over several generations yeast cells that recombine more, in order to discover genes controlling recombination.

université PARIS-SACLAY | ÉCOLE DOCTORALE Structure et dynamique des systèmes vivants (SDSV)

Titre : Diversité et déterminisme génétique de la recombinaison méiotique chez *Saccharomyces cerevisiae*
Mots clés : méiose, levure, crossing-over, hétérozygotie, interférence, diversité

Résumé : L'agriculture moderne doit assurer notre sécurité alimentaire dans le contexte d'un changement climatique qui entraîne une baisse des rendements. Une meilleure compréhension des facteurs contrôlant la recombinaison méiotique ouvrirait la voie à la modification du nombre et de la répartition des crossing-overs, ce qui permettrait une localisation plus précise des facteurs génétiques contrôlant les caractères d'intérêt agronomique et faciliterait le pyramidage d'allèles favorables au sein d'un même génotype élite. Pendant ma thèse, j'ai développé une méthode de mesure à haut débit de la recombinaison chez la levure Saccharomyces cerevisiae pour étudier la diversité de la recombinaison et de l'interférence au sein d'une collection de 24 souches représentatives de la diversité de l'espèce ainsi qu'au sein d'un dispositif di-allèle à cinq parents. Les résultats montrent un nombre moyen de crossing-overs par méiose compris entre 24 et 61, ce qui est plus élevé que chez la majorité des autres espèces. Plus particulièrement, les profils de recombinaison diffèrent entre souches, atteignant un écart d'un facteur 9 dans certaines régions. Les souches originaires d'habitats peu stables n'ont cependant pas un niveau de recombinaison plus élevé que les souches originaires d'environnements stables. En outre, la plupart des souches montrent de l'interférence dont la force est corrélée positivement avec le niveau de recombinaison. L'étude de la relation entre niveau de recombinaison et similarité de séquence entre homologues, à différentes échelles locales ou globales, indique que la recombinaison est contrôlée à la fois par des éléments cis et des facteurs trans. Par ailleurs, l'hétérozygotie chez les hybrides a un effet négatif sur le niveau de recombinaison, mais les homozygotes ont aussi un niveau de recombinaison réduit par un effet de dépression de consanguinité. Ce travail permettra maintenant d'étudier la réponse de la recombinaison à la sélection et de détecter les QTL de nombre de crossing-overs, afin d'identifier des gènes qui contrôlent la recombinaison.

Title : Diversity and genetic determinism of meiotic recombination rate in *Saccharomyces cerevisiae*
Keywords : meiosis, yeast, crossovers, heterozygosity, interference, diversity

Abstract : Modern agriculture must ensure food security in a context of climate change that will lower yields. A better understanding of the factors controlling meiotic recombination could pave the way to modifying the number and distribution of crossing-over, which would allow a more precise localization of genetic factors controlling agronomic traits, and facilitate gene pyramiding in selection programs. During my thesis, I developed a method for high-throughput measurement of recombination rates in the yeast Saccharomyces cerevisiae. This allowed me to study the diversity of recombination and interference in a collection of 24 strains representing most of the diversity of the species, as well as within a five-parent di-allele design. The results show an average number of crossovers per meiosis ranging between 24 and 61, higher than in the majority of other species. Furthermore, recombination patterns differ between strains, and ratios of local recombination rates show 9-fold differences in some regions. Strains from unstable habitats, however, do not have a higher level of recombination than those from stable environments. In addition, most strains show interference whose strength is positively correlated with the level of recombination. The study of the relationship between recombination rate and sequence similarity between homologs at different scales (from local to global) indicates that recombination is controlled by both cis elements and trans factors. Lastly, heterozygosity in hybrids has a negative effect on crossing-over, but homozygotes also have a reduced level of recombination due to inbreeding depression. This work will now be used to study the response of recombination to selection and to detect QTL of crossover number in order to identify genes controlling recombination.

Université Paris-Saclay
Espace Technologique / Immeuble Discovery
Route de l'Orme aux Merisiers RD 128 / 91190 Saint-Aubin, France