



HAL
open science

Identification de déterminants génétiques de l'architecture racinaire et nodulaire des légumineuses et contribuant à une amélioration de la nutrition azotée

Virginie Bourion

► To cite this version:

Virginie Bourion. Identification de déterminants génétiques de l'architecture racinaire et nodulaire des légumineuses et contribuant à une amélioration de la nutrition azotée. 4. Journées des Doctorants SPE, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). FRA., Mar 2015, Dijon, France. hal-02739231


HAL Id: hal-02739231

<https://hal.inrae.fr/hal-02739231>

Submitted on 2 Jun 2020

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.



Identification de déterminants génétiques de l'architecture racinaire et nodulaire des légumineuses et contribuant à une amélioration de la nutrition azotée

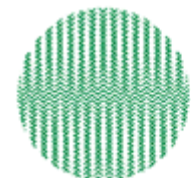
Virginie Bourion

UMR Agroécologie, Pôle GEAPSI

Directeur de thèse : Gérard Duc



Agroécologie
Dijon
Unité de Recherche



INRA

Institut National de la Recherche Agronomique

Contexte socio-économique

➤ Intérêt de la culture de Légumineuses

Pas d'apport d'engrais azoté pour la culture

Bon précédent cultural dans les rotations

Bon partenaire dans les associations

Production de graines ou fourrages riches en protéines pour l'alimentation animale

Production de graines à haute valeur nutritionnelle pour l'alimentation humaine

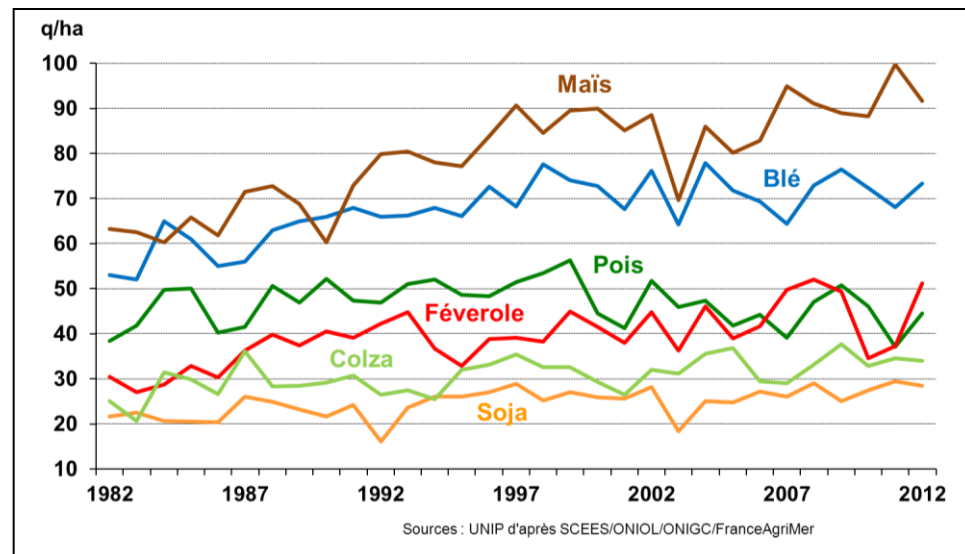
➤ Freins à l'extension de la culture de Légumineuses

Faible niveau de rendement

Instabilité du rendement

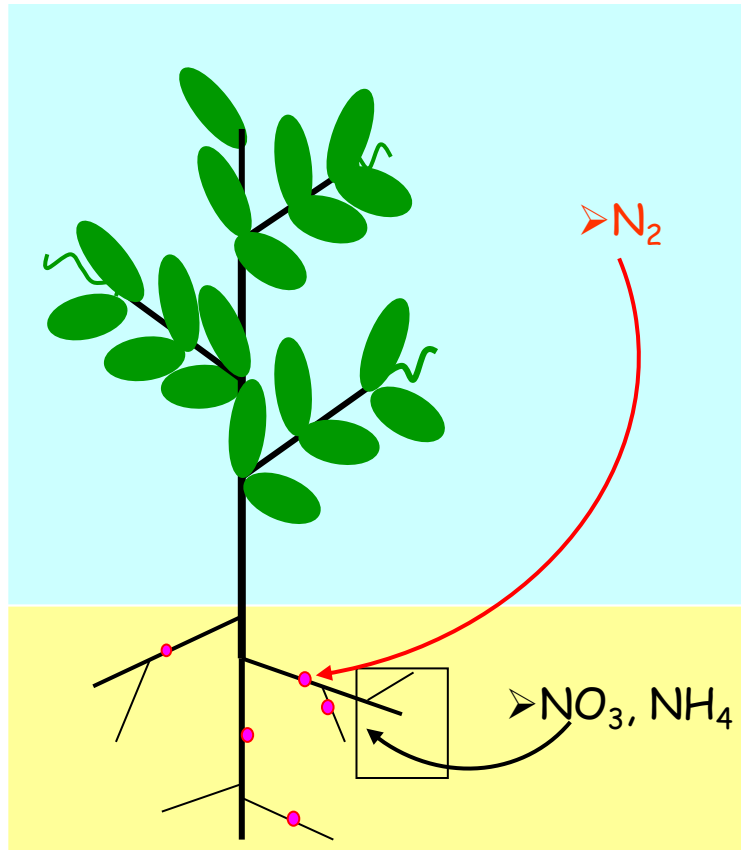
Manque de rentabilité

par rapport aux autres cultures



Contexte scientifique : nutrition azotée complexe et pas toujours optimale

- Nutrition azotée des légumineuses dépendante de :



1) Fixation symbiotique avec Rhizobium

Acquisition d'N majoritaire jusqu'à floraison (>70%)

Nodosités : Population de souches de Rhizobium

2) Absorption d'N minéral par les racines

Indispensable pendant remplissage des grains

- Nutrition azotée : très sensible aux conditions environnementales
Favoriser la fixation symbiotique et augmenter le développement racinaire

Hypothèse et Questions de recherche posées

➤ Hypothèse :


- la variabilité génétique de l'architecture racinaire et nodulaire a un impact fonctionnel sur la nutrition azotée des légumineuses

➤ Questions :

- Existe-t-il de la variabilité génétique pour l'architecture racinaire et nodulaire chez les légumineuses ?
- Quels sont les déterminants génétiques de cette variabilité ?
- Y-a-t-il un choix du génotype de la plante pour le partenaire symbiotique ?
- Ces variabilités ont-elles un impact sur la nutrition azotée ?



Stratégie de Recherche

- 
- 2 types d'approche génétique
 - Approche quantitative : Recherche de corrélation génétique et des régions génomiques impliquées dans les variations des caractères : QTLs, Approche GWAS
 - Approche transcriptomique : Mise en évidence de différentiels d'expression de gènes pouvant être corrélés à des variations de phénotype racinaire et/ou d'acquisition d'azote ←

 - Etude d'une grande variabilité de ressources génétiques
 - Population de lignées recombinantes
 - Collection de ressources génétiques
 - Mutant de développement racinaire ← présentation d'aujourd'hui

 - Approche pluridisciplinaire du phénotype
 - Description des structures (mise en place du système racinaire nodulé)
 - Description du fonctionnement (modèle écophysio + métabolomique)
 - Confrontation ou pas à diverses souches de Rhizobium

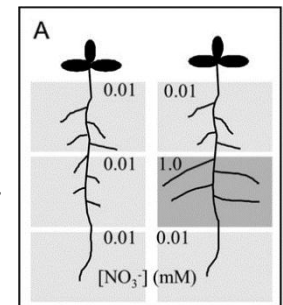
Etude transcriptomique d'un mutant de développement racinaire chez *Medicago truncatula*



- Hypothèse : TR185, du fait de son phénotype racinaire hyper-ramifié, a un haut potentiel d'acquisition d'N minéral
- Objectif : Mise en évidence de différentiels d'expression de gènes/sauvage pouvant être corrélés à son phénotype racinaire et/ou à son acquisition d'azote
- Cadre d'analyse : réponse allongement/initiation des racines à la disponibilité en N chez *Arabidopsis*

- Réponse locale :

stimulation de l'allongement des racines si forte teneur locale en nitrate
NRT1.1, ANR1



(Zhang et Forde 1998)

- Réponse systémique : réponse au statut azoté de la plante

répression de l'émergence des racines latérales si très forte teneur en nitrate ou si forte teneur en produits de l'assimilation de N (Remans et al 2006b; Gifford et al. 2008)

NRT2.1

Expérimentation en chambre climatisée

- 2 géotypes de *Medicago* : sauvage (J5)
hyper-ramifié TR185 (mutant rayons γ)
- Culture hydroponique ; 2 doses d'N (KNO_3): 1mM/10mM
- 5 prélèvements successifs après germination
- 3 répétitions biologiques
- Pas d'inoculation avec *Rhizobium*

Bacs 10 mM NO_3^- = HN



d7



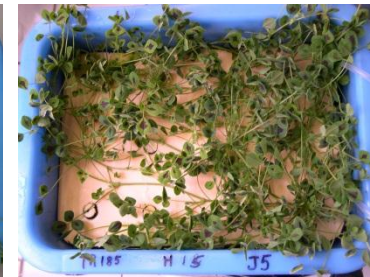
d10



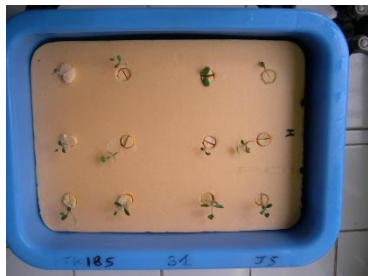
d14



d21



d28



Bacs 1 mM NO_3^- = LN

Variables structure/fonctionnement mesurées aux 5 dates

➤ Parties aériennes :

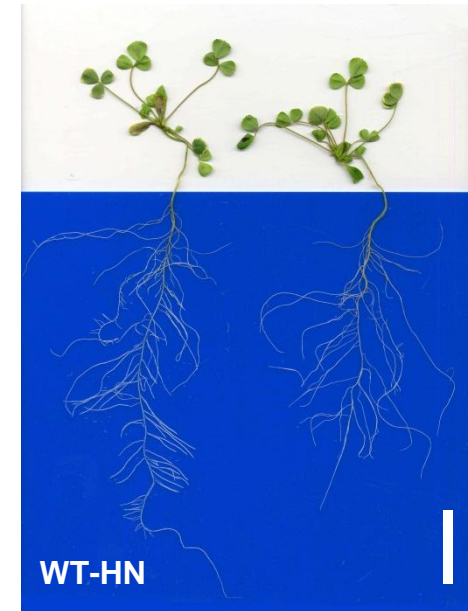
- Hauteur partie aérienne
- Surface de feuilles
- Poids sec

➤ Racines :

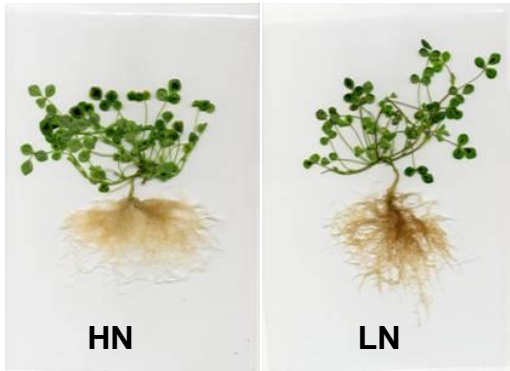
- Nombre de racines latérales
- Longueur du pivot
- Longueur totale de racines (analyse d'image WinRhizo)
- Longueur moyenne d'une racine latérale
- Poids sec

➤ Acquisition d'N :

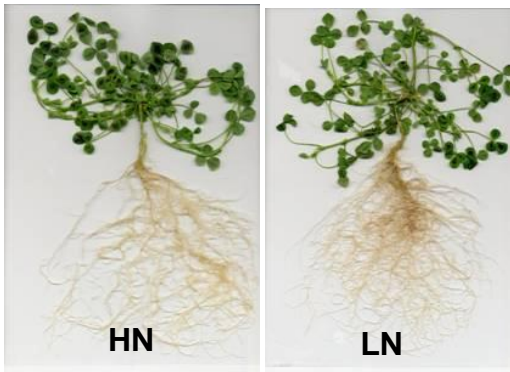
- Teneur en N des parties aériennes et des racines
- Teneur en acides aminés des parties aériennes et des racines
- Vitesse de prélèvement d'N



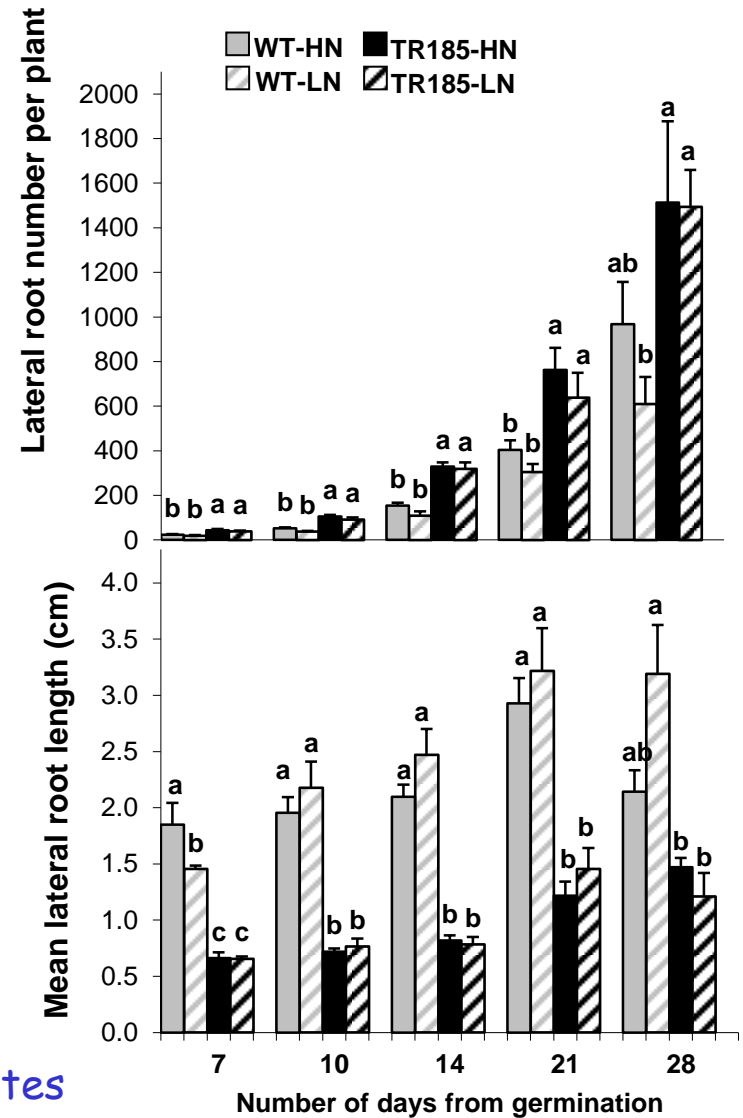
TR185 est hyper-ramifié quelque soit l'apport en N



Mutant = TR185

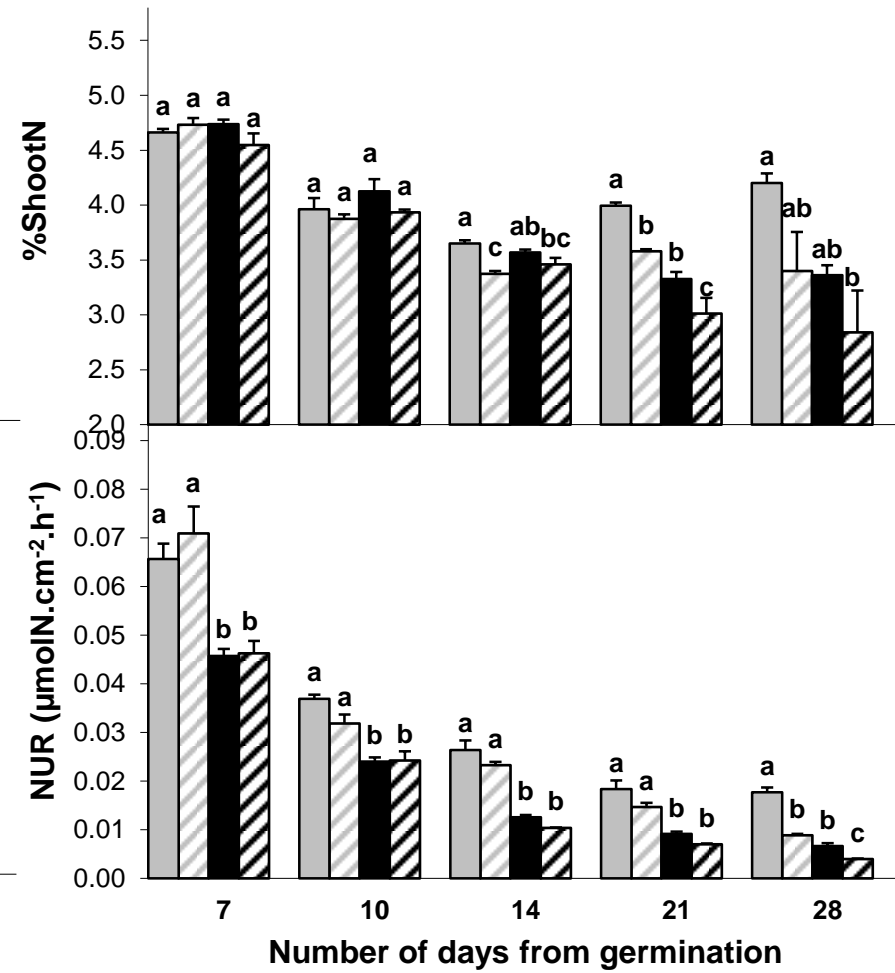
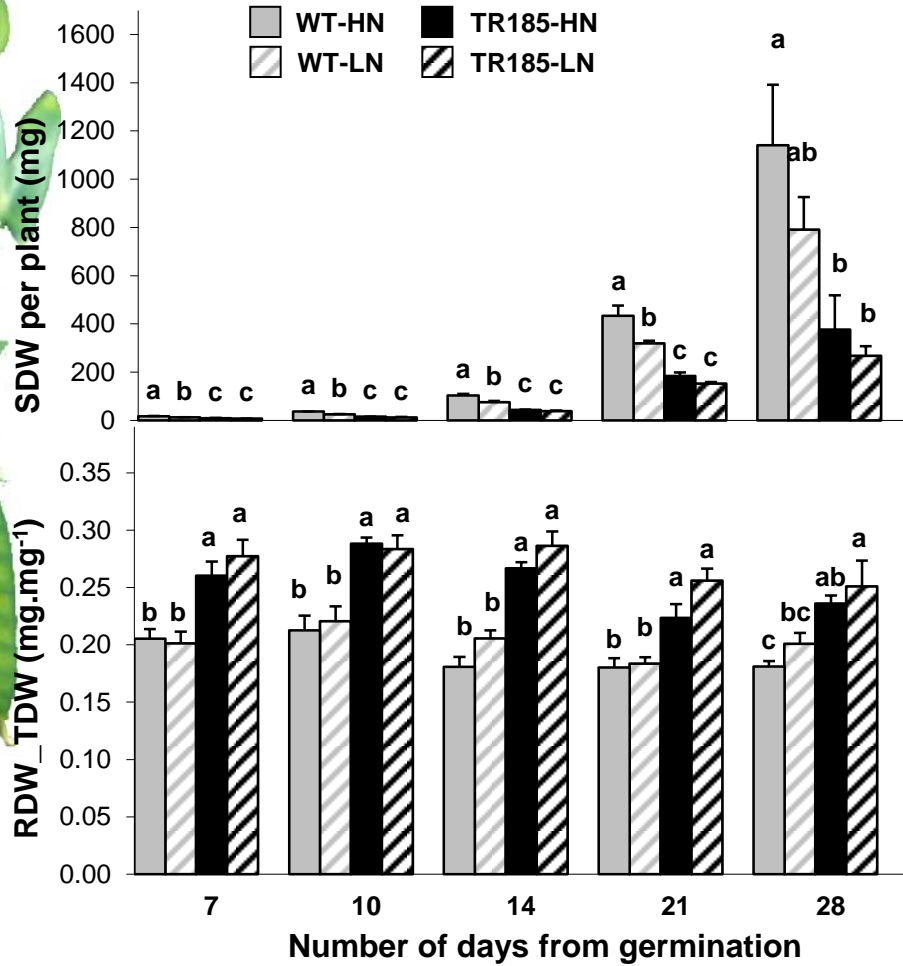


Sauvage = WT



➤ Des racines latérales très nombreuses et très courtes

TR185 a des caractéristiques de plantes en nutrition N suboptimale, quelque soit l'apport en N



➤ Faible biomasse aérienne, allocation préférentielle vers les racines

➤ Faible teneur en N faible vitesse d'acquisition d'N



Comment expliquer la faible acquisition d'N de TR185 en dépit de son fort nombre de racines ?

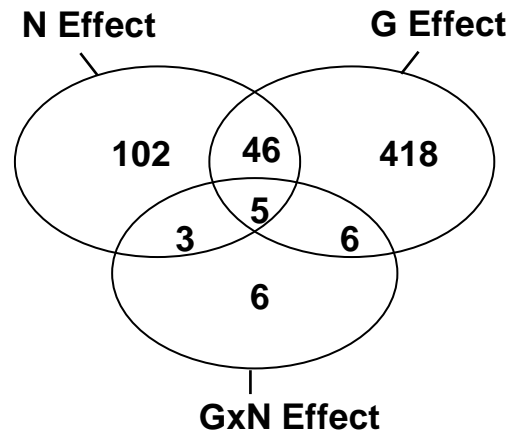
Etude transcriptomique

- Extractions d'ARN réalisées à partir des échantillons de racines à d10 :
 - Déjà des différences très marquées de développement racinaire entre M et WT et suffisamment de matériel végétal
- Puces Affymetrix réalisées à Evry (URGV) : 61164 probesets
 - 32167 issus d'EST/mRNA de *Medicago truncatula*
 - 18733 issus de séquences génomiques partielles de *Medicago truncatula*
 - 1896 issus d'EST/mRNA de *Medicago sativa*
 - 8305 issus de séquences génomiques de *Sinorhizobium meliloti*
- Analyse statistique des données d'hybridation :
 - Elimination des sondes qui n'hybrident jamais -> reste 26754 probesets
 - Modélisation de la variance : 2 facteurs; G = Génotype : M vs WT
N = Dose de NO_3^- : LN vs HN
 - Contrôle des faux-positifs avec calcul des P-value ajustées avec test de Bonferroni;



585 gènes différentiellement exprimés

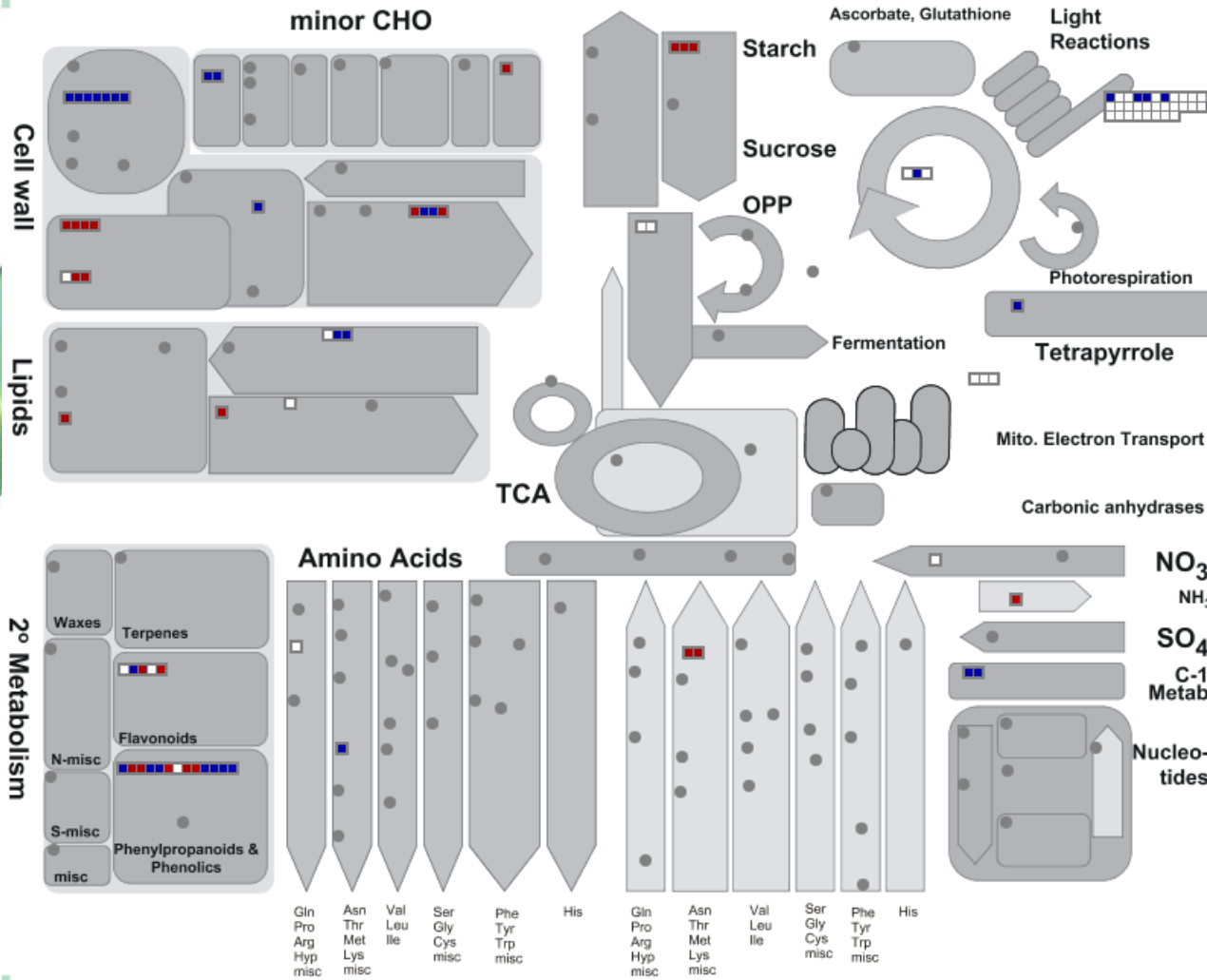
- La plupart des gènes (484) différentiellement exprimés le sont en réponse à un effet *Génotype*



valide les différences marquées entre les 2 génotypes

- 50% des 156 gènes différentiellement exprimés en réponse à l'effet N : communs à des gènes connus comme impliqués dans la réponse locale ou systémique à la carence en NO_3^-
confirme que l'on a bien induit une carence en N dans notre expérimentation

Voies métaboliques affectées chez TR185

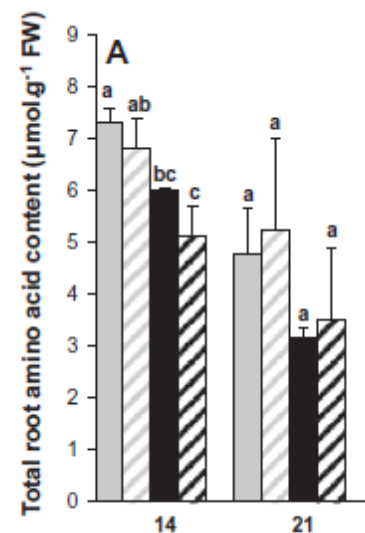
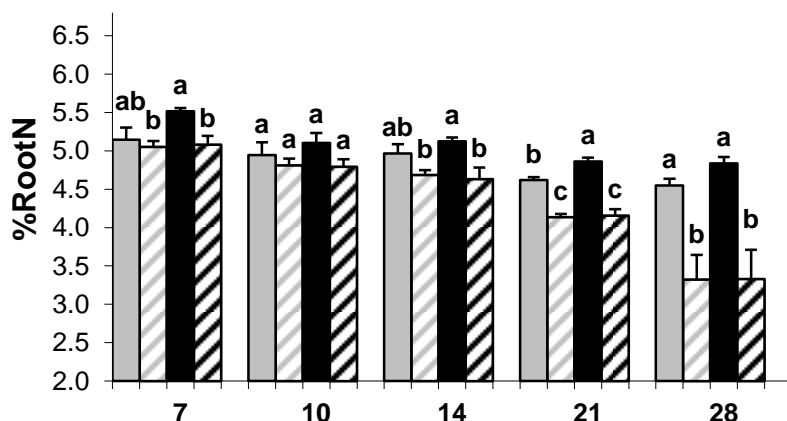


- Parois cellulaires : sous-expr gènes synthèse sur-expr gènes dégradation
- Acquisition de N : sur-expr de transporteurs
- Synthèse des phenylpropanoïdes : sous-expr gènes synthèse lignine
- Métabolisme et transport des hormones sous-expr gènes transport auxine Sur-expr gène dégradation CK

Vue simplifiée d'un sous-échantillon de 98 gènes sur les 586

Première hypothèse : TR185 serait affecté dans sa perception de la disponibilité locale en nitrate

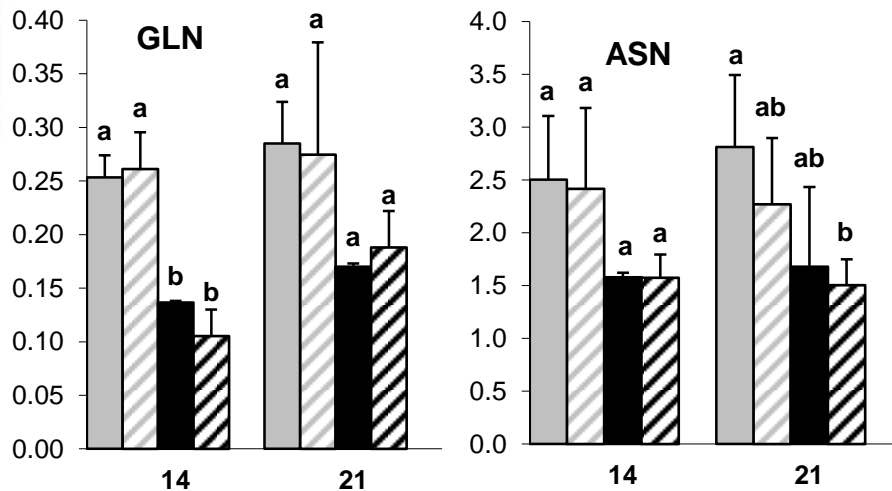
- Chez *Arabidopsis*, le nitrate *per se* est un signal conduisant : à une sur-expression de N-transporteurs et une stimulation d'allongement des racines
- Observation :
 - Sur-expression des N-transporteurs chez TR185 : TR185 percevrait « toujours » une forte disponibilité locale en nitrate
 - Mais pas d'augmentation du %RootN ou de la teneur en acides aminés des racines
 - Architecture racinaire de TR185 non représentative des mutants *nrt1.1* ou ANR1-repressed lines



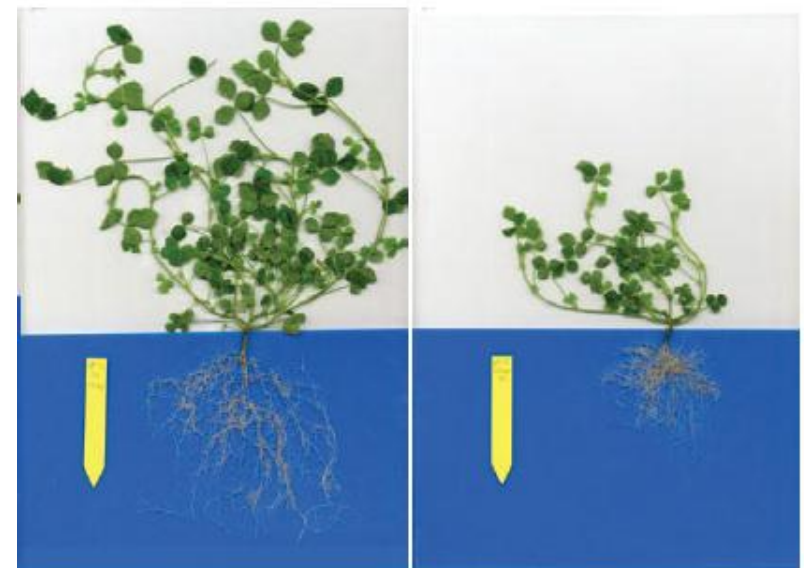
- Hypothèse rejetée

Deuxième hypothèse : L'hyper-ramification de TR185 serait induite par un signal systémique de carence en N

- Chez *Arabidopsis*, une répression systémique de l'émergence des racines se produit si haute teneur en N; le nitrate ou GLN ou ASN peuvent être les signaux.
- Observation :
 - TR185 est hyper-ramifié
 - TR185 est carencé en N; La teneur en GLN/ASN des parties aériennes de TR185 est réduite
 - Le déterminisme de l'hyper-ramification de TR185 est aérien : régulation systémique



- Hypothèse retenue



WT scion/TR185 rootstock

TR185 scion/WT rootstock

Conclusion/perspectives

- Un nouvelle confirmation du lien entre nutrition N et architecture racinaire
- TR185 n'est pas un mutant d'architecture racinaire, mais un mutant de perception du statut azoté ou de stockage de l'N dans les parties aériennes

Unexpectedly low nitrogen acquisition and absence of root architecture adaptation to nitrate supply in a *Medicago truncatula* highly-branched root mutant. JXB. 2014

Virginie Bourion, Chantal Martin, Henri de Larambergue, Françoise Jacquin, Grégoire Aubert, Marie-Laure Martin-Magniette, Sandrine Balzergue, Geoffroy Lescure, Sylvie Citerne, Marc Lepetit, Nathalie Munier-Jolain, Christophe Salon, Gérard Duc

Merci à tous les co-auteurs !

- En cours/à venir : collaboration Florian Frugier, ISV
 - Détermination du gène muté
 - Etude de l'orthologue chez le pois et validation fonctionnelle