

Intéractions racines x rhizobactéries et leur variabilité génétique chez le blé

Yvan Moenne-Loccoz, Agathe Mini, Rohan Richard, Jordan Valente, Claire
Prigent-Combaret, Jacques Le Gouis

► **To cite this version:**

Yvan Moenne-Loccoz, Agathe Mini, Rohan Richard, Jordan Valente, Claire Prigent-Combaret, et al..
Intéractions racines x rhizobactéries et leur variabilité génétique chez le blé. Sélectionneur Français,
2019, pp.87-93. hal-02964062

HAL Id: hal-02964062

<https://hal.inrae.fr/hal-02964062>

Submitted on 12 Oct 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.

INTERACTIONS RACINES x RHIZOBACTERIES ET LEUR VARIABILITE GENETIQUE CHEZ LE BLE

Yvan MOENNE-LOCCOZ¹, Agathe MINI², Rohan RICHARD², Jordan VALENTE¹,
Claire PRIGENT-COMBARET¹, Jacques LE GOUIS²

¹UMR Ecologie Microbienne (CNRS- Université Lyon 1-INRA-VetAgro Sup)
43 Bd du 11 Novembre 1918 - 69622 Villeurbanne
yvan.moenne-loccoz@univ-lyon1.fr

²UMR INRA-UCA Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales
5 Chemin de Beaulieu – 63100 Clermont-Ferrand
jacques.le-gouis@inra.fr

RÉSUMÉ

Les bactéries rhizosphériques stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR) ont des effets positifs sur le développement, la croissance, et/ou la santé du végétal. Des populations de PGPR sont naturellement présentes dans les sols cultivés, mais le fonctionnement des coopérations PGPR-plante fluctue selon le génotype de la plante. Considérant cette variabilité, très peu d'études génétiques ont été menées sur les caractères liés aux interactions racine-microbiote. Les analyses les plus complètes sont récentes et ont été conduites sur espèces modèles. C'est pour cela que des approches de génétique d'association ont été initiées dans le projet ANR "BacterBlé" pour identifier les régions génétiques du blé importantes pour ces interactions. Leur potentiel agronomique mérite en effet d'être considéré dans un contexte de réduction des intrants en agriculture.

Mots-clés : bas niveaux d'intrants, core-collection, génétique d'association, PGPR, *Triticum aestivum*

1 - INTRODUCTION

Les bactéries rhizosphériques stimulatrices de la croissance des plantes ou PGPR (pour *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) sont des bactéries colonisant la rhizosphère ou la racine des plantes et capables d'améliorer le développement, la croissance, et/ou la santé du végétal (Vacheron *et al.*, 2013). Ces bactéries interagissent étroitement avec le partenaire végétal, conduisant à des modifications physiologiques de la plante en termes de transcriptome (Drogué *et al.*, 2014), protéome (Kwon *et al.*, 2016), et métabolome (Walker *et al.*, 2011). La coopération entre PGPR et plante est une interaction ancienne, qui a vraisemblablement été influencée par la domestication et ensuite la sélection variétale (Pérez-Jaramillo *et al.*, 2016). Le fonctionnement de la coopération PGPR-plante varie d'ailleurs selon les génotypes de PGPR et de plante-hôte (Behl *et al.*, 2012 ; Drogué *et al.*, 2014). Les profils d'exsudation (Kuzmicheva *et al.*, 2017) ou d'architecture racinaire (Beyer *et al.*, 2019) diffèrent selon la variété de plante, ce qui peut moduler l'écologie rhizosphérique et l'efficacité des PGPR.

Dans ce contexte, le projet "BacterBlé" (ANR-14-CE19-0017) cherche à analyser les interactions bénéfiques entre le blé tendre et les PGPR afin d'augmenter les performances du blé en conditions climatiques fluctuantes et en apport d'intrants limité. C'est un projet collaboratif d'une durée de quatre ans (mars 2015-mars 2019) associant l'UMR Ecologie Microbienne (CNRS/ Université Lyon1/INRA/VetAgro Sup), l'UMR GDEC INRA/UCA, ainsi que l'entreprise Biogemma. Il comporte trois volets :

- Un premier volet s'intéresse à la quantification des interactions bénéfiques entre PGPR et blé. Le criblage est réalisé sur une collection de 200 accessions de blé tendre sélectionnées par Bordes *et al.* (2013). Les souches PGPR utilisées sont *Azospirillum brasilense* Sp245 et *Pseudomonas kilonensis* F113, qui sont représentatives des PGPR retrouvées couramment dans les sols cultivés. Les accessions interagissant le mieux avec ces PGPR ont été retenues et leurs performances agronomiques évaluées en serre en conditions azotées et/ou hydriques limitantes par rapport à des accessions présentant des interactions moins marquées avec les deux PGPR ;
- Un deuxième volet génétique a pour objectif d'identifier dans un premier temps des régions génomiques puis des gènes candidats impliqués dans l'interaction entre le blé et les deux PGPR précédentes. Les données utilisées pour conduire une approche de génétique d'association sont les données phénotypiques issues du criblage de la collection de 200 lignées. Le génotypage SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) provient du projet PIA BreedWheat (ANR-10-BTBR-003) ;
- Un dernier volet concerne l'évaluation au champ en conditions sub-optimales (apports hydrique et azoté limitants) d'un sous-ensemble d'accessions sélectionnées pour être contrastées dans leurs interactions au laboratoire avec les deux souches PGPR.

Dans cet article, nous insistons sur l'importance des caractéristiques génétiques du blé pour l'efficacité des interactions blé-PGPR, et sur les approches de génétique d'association appliquées à l'analyse de ces coopérations.

2 - LES EFFETS BENEFIQUES DES PGPR

Les PGPR présentent différents mécanismes d'action sur la plante (figure 1). Certaines de ces bactéries ont des effets phytobénéfiques directs, par exemple *via* la réduction de l'azote atmosphérique N_2 en ammoniacque NH_3 . Cette fixation de l'azote s'effectue à l'état libre sur la racine ou dans les tissus racinaires en cas de PGPR endophytes, et une partie de l'azote fixé peut être acquise par la plante (Behl *et al.*, 2012). Ces bactéries fixatrices d'azote sont présentes dans la rhizosphère du blé (Venieraki *et al.*, 2011), et leur inoculation peut permettre d'augmenter le rendement du blé (Behl *et al.*, 2012 ; Neiverth *et al.*, 2014). Leur diversité et leur activité varient selon le cultivar (Manske *et al.*, 2000 ; Venieraki *et al.*, 2011). Des effets positifs des PGPR sur la disponibilité du phosphore dans la rhizosphère sont également connus (Vacheron *et al.*, 2013).

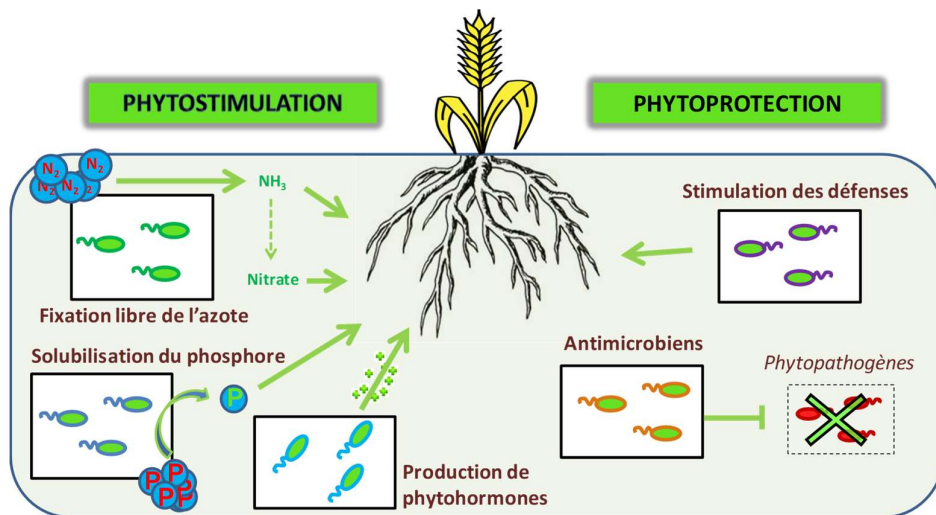


Figure 1. Modes d'action des rhizobactéries bénéfiques, qui conduisent à des effets de phytostimulation ou de phytoprotection du blé (d'après Vacheron *et al.*, 2013; Levy *et al.*, 2018).

Plusieurs PGPR améliorent l'acquisition de l'eau et des nutriments minéraux par la plante, suite aux effets de stimulation bactérienne du développement du système racinaire (Creus *et al.*, 2004 ; Behl *et al.*, 2012). Chez le blé, ces effets se matérialisent *in vitro* par une augmentation du nombre et/ou de la longueur de racines, avec une élongation des poils racinaires suite à l'inoculation (Combes-Meynet *et al.*, 2011). Ces effets positifs de l'inoculation de PGPR sur l'architecture et la biomasse racinaire ont aussi été observés pour du blé cultivé en sol (Veresoglou et Menexes, 2010). Ils reposent sur la production bactérienne de phytohormones, comme des auxines (Behl *et al.*, 2012 ; Vacheron *et al.*, 2013). D'autres signaux moléculaires stimulant la ramification du système racinaire sont documentés, comme le 2,4-diacétylphloroglucinol produit par les *Pseudomonas* fluorescents et l'oxyde nitrique produit par de nombreux *Azospirillum brasilense*, qui tous deux agissent *via* la voie de transduction de l'auxine (Vacheron *et al.*, 2013, 2017). Les PGPR peuvent aussi conduire à une modification du métabolisme racinaire de l'éthylène, par désamination bactérienne de son précurseur chez la plante (l'acide 1-aminocyclopropane carboxylique ; ACC). Cela conduit à une réduction de la concentration en éthylène dans les racines et à la répression de la croissance racinaire (Vacheron *et al.*, 2013).

Les PGPR peuvent aussi améliorer la santé du végétal. Ces effets passent par une inhibition des pathogènes des racines (effets phyto-bénéfiques indirects), et/ou l'induction d'une résistance systémique chez la plante (Couillerot *et al.*, 2011 ; Maketon *et al.*, 2012). Par exemple, l'inoculation du blé avec la PGPR *Pseudomonas fluorescens* Q8r1-96 entraîne une accumulation cultivar-dépendante des transcrits racinaires impliqués dans les réactions de défense (Maketon *et al.*, 2012).

3 – ANALYSES GENETIQUES DES INTERACTIONS RACINES x RHIZOBACTERIES

De nombreuses études indiquent que la diversité de la communauté microbienne (microbiote) rhizosphérique dépend du génotype du blé (Siciliano *et al.*, 1998 ; Manske *et al.*, 2000 ; Venieraki *et al.*, 2011). Cette diversité peut être due à plusieurs caractères associés aux interactions racine-microorganisme. Ainsi, la rhizodéposition (relargage de composés organiques, à travers des cellules détachées de la racine, des lysats, des mucilages, des diffusats et des exsudats) peut différer entre les cultivars de blé (Wu *et al.*, 2001), ce qui entraîne des différences dans divers aspects de l'écologie microbienne de la rhizosphère. De plus, il a été montré que l'efficacité des cellules d'*Azospirillum* à adhérer à la racine de blé dépend également du génotype de l'hôte (De Leon *et al.*, 2015). Le test est réalisé en comptant les cellules adhérentes après immersion des racines dans une solution contenant *Azospirillum brasilense* puis rinçage à l'eau distillée. Ainsi, les parents de la population ITMI (Opata × Synthetic) diffèrent fortement pour cette capacité. Enfin, l'activité des bactéries fixant l'azote varie également selon les variétés de blé (Manske *et al.*, 2000 ; Venieraki *et al.*, 2011 ; Neiverth *et al.*, 2014).

Du fait de cette variabilité génétique, très peu d'études génétiques ont été menées sur les caractères liés aux interactions racine-microbiote. Les analyses les plus complètes sont récentes et ont été conduites sur espèces modèles. Ainsi, Wintermans *et al.* (2016) ont analysé chez *Arabidopsis thaliana* la réponse de la croissance racinaire à l'inoculation avec une souche de *Pseudomonas simiae*. Pour cela, ils ont mené une étude de génétique d'association sur une collection de 302 accessions. L'expérience a été réalisée en boîte de Pétri en mesurant après huit jours de croissance la longueur de la racine primaire, le nombre de racines latérales ainsi que le poids de la tige des plantules inoculées ou non. Au total, leur analyse a révélé l'existence de 10 locus génétiques très significativement impliqués dans l'interaction entre les plantes et cette bactérie pour ces trois caractères confondus. D'une façon assez similaire, Masuda *et al.* (2018) ont étudié la réponse de croissance racinaire à l'inoculation avec *Azospirillum* sp. B510 chez le riz. Pour cela, ils ont utilisé une population de lignées recombinantes issue du croisement entre les variétés Nipponbare et Kasalath. En tube gélosé, la longueur de la racine primaire de Nipponbare est significativement réduite par l'inoculation de B510,

alors que celle de Kasalath n'est pas affectée. Trois loci génétiques sur les chromosomes 6 (× 2) et 7 expliquent environ 50% de la variation phénotypique. Ces résultats démontrent qu'il existe pour ces espèces une variation génétique naturelle pour la capacité à tirer profit des interactions stimulatrices des rhizobactéries.

Les analyses publiées à ce jour sont beaucoup moins complètes sur le blé tendre. Il faut toutefois signaler une étude assez ancienne (Neal *et al.*, 1973) comparant des lignées différant pour une région du chromosome 5B portant un locus de résistance à la pourriture racinaire (*common root rot*). Les auteurs ont montré que les populations rhizosphériques étaient différentes entre un génotype sensible et un génotype résistant. Ils ont ensuite identifié le chromosome impliqué en réalisant la substitution du chromosome 5B de la lignée résistante par le chromosome 5B de la lignée sensible. Des études plus récentes ont été menées avec des populations cartographiées. Une analyse QTL d'une population à quatre parents a ainsi permis d'identifier six loci majeurs situés sur les chromosomes 2B, 4D, 5A, 5B, 6A et 7A représentant ensemble 42 % de la variation de la taille du manchon terreux rhizosphérique (*rhizosheath*), composé du sol qui reste fermement lié aux racines de plantules cultivées en pot (Delhaize *et al.*, 2015). Enfin, six QTL ont été détectés sur quatre chromosomes (dont un majeur sur le 1A) pour la capacité à adhérer des cellules d'*Azospirillum brasilense* en utilisant les lignées recombinantes de la population ITMI mentionnée plus haut (De Leon *et al.*, 2015).

4 – LES PREMIERES ANALYSES GENETIQUES DU PROJET BACTERBLE

C'est dans ce contexte que les premières analyses génétiques du projet BacterBlé ont été conduites. Ce projet a utilisé deux souches PGPR, *Azospirillum brasilense* Sp245 et *Pseudomonas kilonensis* F113. *P. kilonensis* F113 inhibe différents phytopathogènes fongiques, produit du 2,4-diacétylphloroglucinol, et présente une activité ACC désaminase. Cette PGPR a des effets bénéfiques sur la croissance du blé (Couillerot *et al.*, 2011). *A. brasilense* Sp245 fixe l'azote atmosphérique, produit de l'acide indole-3-acétique, et stimule la croissance du blé (Creus *et al.*, 2004). La génétique d'association a été conduite sur les caractères issus de l'inoculation racinaire réalisée avec l'une ou l'autre des deux souches PGPR (Figure 2). Les caractères concernés correspondaient à la capacité de ces bactéries à interagir avec le blé (travail de thèse de Jordan Valente, dirigé par Claire Prigent-Combaret et Yvan Moëgne-Loccoz).

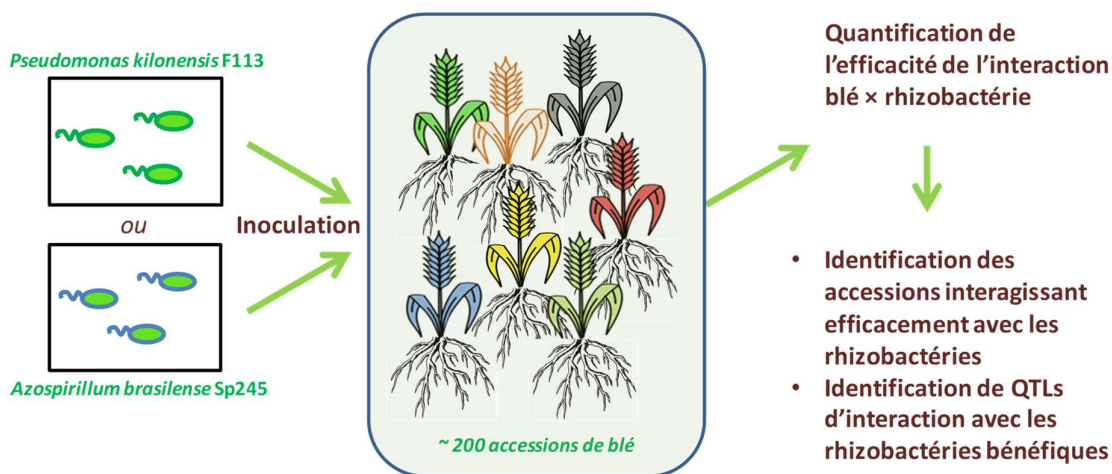


Figure 2. Principe de criblage des accès de blé sur la base des interactions avec des rhizobactéries bénéfiques.

Les premières analyses montrent un peu plus de 300 SNP significativement associés à au moins un des caractères en considérant un seuil de $-\log(p\text{-value})$ supérieur à 5. De façon intéressante, le nombre et la localisation des régions associées sont très différents entre les bactéries. En effet, on observe très peu de régions associées au criblage réalisé avec *Pseudomonas* et un nombre assez important de régions avec *Azospirillum*. Ces deux rhizobactéries ont des modes d'interaction différents avec les racines. Cela pourrait expliquer un déterminisme génétique contrasté, avec des régions à effet fort (et donc détectables avec la puissance associée à la taille du panel d'association) pour *Azospirillum*, et des régions à effet plus faible pour *Pseudomonas*.

De la même façon, il est possible d'identifier des régions communes et spécifiques aux différents caractères d'interaction pris en compte chez ces bactéries. Ainsi, les mécanismes génétiques en jeu pourraient être différents pour les différentes facettes de l'interaction entre rhizobactéries et plante.

Enfin, il faut noter que, quel que soit le caractère considéré, les allèles favorables, c'est-à-dire liés à une interaction rhizobactéries-plante plus performante, sont toujours les allèles minoritaires. Combiné au fait qu'aucune des lignées testées ne possède les allèles favorables à toutes les régions identifiées, cela offre la possibilité de sélection pour une meilleure interaction entre les racines et les rhizobactéries. Pour cela, les marqueurs moléculaires associés aux régions déterminées pourront être d'une aide importante.

6 - CONCLUSION

Les bactéries PGPR naturellement présentes dans les sols cultivés présentent un potentiel de phytostimulation qui peut être utile pour améliorer la culture du blé, notamment dans un contexte de réduction des intrants. La performance des interactions PGPR-blé variant selon le génotype végétal, les approches de génétique d'association permettent d'identifier des allèles liés à une interaction rhizobactéries-blé plus performante. Les marqueurs moléculaires associés à ces allèles seront utiles pour explorer les possibilités de sélection de variétés de blé valorisant les interactions bénéfiques avec les PGPR.

*Journée Scientifique ASF du 7 février 2019
" Le système racinaire et la rhizosphère en amélioration des plantes "*

BIBLIOGRAPHIE

Behl, R. K., Ruppel, S., Kothe, E., Narula, N. – 2012 - Wheat x *Azotobacter* x VA Mycorrhiza interactions towards plant nutrition and growth—a review. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 81, 95-109.

Beyer, S., Daba, S., Tyagi, P., Bockelman, H., Brown-Guedira, G., Mohammadi, M. – 2019 - Loci and candidate genes controlling root traits in wheat seedlings—a wheat root GWAS. *Functional & Integrative Genomics* 19, 91-107.

Bordes, J., Ravel, C., Duperrier, B., Gardet, O., Heumez, E., Jaubertie, J.-P., Pissavy, A.-L., Charmet, G., Le Gouis, J., Balfourier, F. – 2013 - Genomic regions associated with the nitrogen limitation response revealed in a global wheat core collection. *Theoretical and Applied Genetics* 126, 805-822.

Couillerot, O., Combes-Meynet, E., Pothier, J. F., Bellvert, F., Challita, E., Poirier, M. A., Rohr, R., Comte, G., Moëgne-Loccoz, Y., Prigent-Combaret, C. – 2011 - The role of the antimicrobial compound 2,4-diacetylphloroglucinol in the impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens* F113 on *Azospirillum brasilense* phytostimulators. *Microbiology* 157, 1694-1705.

Combes-Meynet, E., Pothier, J. F., Moëgne-Loccoz, Y., Prigent-Combaret, C. – 2011 - The *Pseudomonas* secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol is a signal inducing rhizoplane expression of *Azospirillum* genes involved in plant-growth promotion. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24, 271-284.

Creus, C. M., Sueldo, R. J., Barassi, C. A. – 2004 - Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany* 82, 273-281.

De Leon, J. L. D., Castellanos, T., Ling, J., Rojas-Hernandez, A., Roder, M. – 2015 - Quantitative trait loci underlying the adhesion of *Azospirillum brasilense* cells to wheat roots. *Euphytica* 204, 81-90.

Delhaize, E., Rathjen, T. M., Cavanagh, C. R. – 2015 - The genetics of rhizosphere size in a multiparent mapping population of wheat. *Journal of Experimental Botany* 66, 4527-4536.

Drogue, B., Sanguin, H., Chamam, A., Mozar, M., Llauro, C., Panaud, O., Prigent-Combaret C., Picault N., Wisniewski-Dyé, F. – 2014 - Plant root transcriptome profiling reveals a strain-dependent response during *Azospirillum*-rice cooperation. *Frontiers in Plant Science* 5, 607.

Kuzmicheva, Y. V., Shaposhnikov, A. I., Petrova, S. N., Makarova, N. M., Tychinskaya, I. L., Puhalsky, J. V., Parahin, N. V., Tikhonovich, I. A., Belimov, A. A. – 2017 - Variety specific relationships between effects of rhizobacteria on root exudation, growth and nutrient uptake of soybean. *Plant and Soil* 419, 83-96.

Kwon, Y. S., Lee, D. Y., Rakwal, R., Baek, S. B., Lee, J. H., Kwak, Y. S., Seo, J. S., Chung, W. S., Bae, D. W., Kim, S. G. – 2016 - Proteomic analyses of the interaction between the plant-growth promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* E681 and *Arabidopsis thaliana*. *Proteomics* 16, 122-135.

Maketon, C., Fortuna, A. M., Okubara, P. A. – 2012 - Cultivar-dependent transcript accumulation in wheat roots colonized by *Pseudomonas fluorescens* Q8r1-96 wild type and mutant strains. *Biological Control* 60, 216-224.

Manske, G. G. B., Behl, R. K., Luttger, A. B., Vlek, P. L. G. – 2000 - Enhancement of mycorrhizal infection, nutrient efficiency and plant growth by *Azotobacter* in wheat: Evidence of varietal effects. In Narula, N. (ed), *Azotobacter* in Sustainable Agriculture. CBS Publishers, New Delhi, India. pp. 136-47.

Masuda, S., Sasaki, K., Kazama, Y., Kisara, C., Takeda, S., Hanzawa, E., Minamisawa, K., Sato, T. – 2018 - Mapping of quantitative trait loci related to primary rice root growth as a response to inoculation with *Azospirillum* sp. strain B510. *Communicative & Integrative Biology* 11, e1502586.

Neal, J. L., Jr., Larson, R. I., Atkinson, T. G. – 1973 - Changes in rhizosphere populations of selected physiological groups of bacteria related to substitution of specific pairs of chromosomes in spring wheat. *Plant and Soil* 39, 209-212.

Neiverth, A., Delai, S., Garcia, D. M., Saatkamp, K., de Souza, E. M., de Oliveira Pedrosa, F., Guimarães, V. F., dos Santos, M. F., Vendruscolo, E. C. G., da Costa, A. C. T. – 2014 - Performance of different wheat genotypes inoculated with the plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. *European Journal of Soil Biology* 64, 1-5.

Pérez-Jaramillo, J. E., Mendes, R., Raaijmakers, J. M. – 2016 - Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology* 90, 635-644.

Siciliano, S. D., Theoret, C. M., de Freitas, J. R., Hucl, P. J., Germida, J. J. – 1998 - Differences in the microbial communities associated with the roots of different cultivars of canola and wheat. *Canadian Journal of Microbiology* 44, 844-851.

Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., Prigent-Combaret, C. – 2013 - Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science* 4, 356.

Vacheron, J., Desbrosses, G., Renoud, S., Padilla, R., Walker, V., Muller, D., Prigent-Combaret, C. – 2017 - Differential contribution of plant-beneficial functions from *Pseudomonas kilonensis* F113 to root system architecture alterations in *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 31, 212-223.

- Venieraki, A., Dimou, M., Pergalis, P., Kefalogianni, I., Chatzipavlidis, I., Katinakis, P. – 2011 - The genetic diversity of culturable nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of wheat. *Microbial Ecology* 61, 277-285.
- Veresoglou, S. D., Menexes, G. – 2010 - Impact of inoculation with *Azospirillum* spp. on growth properties and seed yield of wheat: a meta-analysis of studies in the ISI Web of Science from 1981 to 2008. *Plant and Soil* 337, 469-480.
- Walker, V., Bertrand, C., Bellvert, F., Moënne-Loccoz, Y., Bally, R., Comte, G. – 2011 - Host plant secondary metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. *New Phytologist* 189, 494-506.
- Wintermans, P., Bakker, P., and Pieterse, C. – 2016 - Natural genetic variation in Arabidopsis for responsiveness to plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Molecular Biology* 90, 623-634.
- Wu, H., Haig, T., Pratley, J., Lemerle, D., An, M. – 2001 - Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): cultivar difference in the exudation of phenolic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 3742-3745.