

Recherche

Les voies pour améliorer l'efficacité de la nutrition azotée

Peut-on encore diminuer les quantités d'azote apportées par fertilisation ? Les espoirs se tournent vers la génomique pour sélectionner des variétés améliorant l'efficacité de la nutrition azotée. Des mécanismes physiologiques à leur codage génétique, la recherche se mobilise.

Pour travailler sur l'amélioration de l'efficacité de la nutrition azotée, la génétique a besoin de définitions claires et le caractère à rechercher doit être le plus facile à observer sur un grand nombre de génotypes.

Définition
couramment admise, l'efficacité de la nutrition azotée correspond au rapport entre un rendement (grain ou plante entière) et une quantité d'azote disponible ou apportée par fertilisation. Selon l'espèce et la nature des travaux entrepris, certains distinguent une efficacité de l'absorption et une efficacité de la remobilisation (des tissus foliaires vers la graine).

En blé, l'amélioration du rendement photosynthétique des dernières feuilles : une piste pour conjuguer rendement et protéines.

plus souvent un meilleur développement et fonctionnement des racines.

Après la floraison, la dynamique de l'azote détermine pour beaucoup le rendement et la teneur en protéines des grains. Les chercheurs s'intéressent au coefficient de transfert d'azote des parties végétatives vers le grain ainsi qu'à l'absorption racinaire post-floraison, des éléments déterminants pour la teneur en protéines.

L'amélioration de ces mécanismes permet de maintenir ce taux à un niveau élevé tout en augmentant le rendement. L'espoir d'obtenir des variétés de qualité à haut potentiel de rendement est donc fondé.

Retarder la sénescence des feuilles

Retarder la sénescence des feuilles

Le poids des grains du blé, composante essentielle du rendement, dépend quant à lui en grande partie de la matière sèche nouvellement formée au cours du remplissage. Celle-ci est liée à l'activité photosynthétique des dernières feuilles, elle-même dépendante de la quantité et de l'activité de la Rubisco. Or, la quantité de cet enzyme clé de la photosynthèse dépend de la teneur en azote de la feuille. Pour l'augmenter, il est donc nécessaire que le recyclage et l'absorption d'azote vers les

Blé : des espoirs d'amélioration fondés

Dans le cas du blé, cette efficacité est explorée sous différents axes complémentaires : l'absorption de l'azote avant et après la floraison. Avant la floraison, indépendamment de leur précocité, certaines variétés sont capables de maintenir un niveau d'absorption plus satisfaisant que d'autres en régime de carence azotée. Les niveaux de biomasse atteints à la floraison en sont moins affectés. Ces variétés possèdent une meilleure vitesse d'assimilation de l'azote - et le

Sur blé comme sur colza, l'absorption d'azote après la floraison concentre beaucoup d'espoirs d'améliorer rendement et qualité des grains.



deux dernières feuilles soient efficaces. Les variétés qui ont de tels comportements maintiennent un feuillage vert plus longtemps : c'est l'effet « *stay green* ». Il est à la fois favorable au rendement (via plus de photosynthèse, donc plus d'amidon dans les grains) et à

la protéine (via le turn over de la RuBisCO, dont les produits azotés de dégradation migrent des feuilles jusqu'au grain).

Sur colza, même si les siliques deviennent autotrophes pour assurer leur alimentation en carbone, le maintien le plus tard possible de feuilles pho-

En colza, une sénescence retardée des feuilles est une piste pour améliorer l'absorption tardive d'azote et assurer rendement et synthèse d'huile.



1

Colza : une dynamique de la nutrition azotée plus complexe

Les spécificités du colza d'hiver rendent les études sur l'efficacité de la nutrition azotée plus difficiles. Le colza possède une très forte capacité à absorber l'azote disponible à l'automne, surtout sous climats doux et humides. Un couvert de colza peut absorber plus de 200 unités d'azote jusqu'en décembre. La chute des feuilles est une autre particularité du colza. Selon que cette chute est liée au froid hivernal ou à la sénescence au printemps, l'azote que contiennent les feuilles peut être récupéré soit par remobilisation vers les graines, soit minéralisé avant d'être en partie réassimilé.

Les phénomènes de remobilisation d'azote qui s'en suivent s'accompagnent d'un stockage important et temporaire d'azote dans les tiges.

En fin de cycle, ces phénomènes de remobilisation et la nutrition azotée entrent en compétition avec la lipogénèse (production d'huile). Des arrêts d'assimilation tardive et des indices de récolte azote faibles peuvent alors être observés.



Depuis l'apparition des engrais de synthèse, les niveaux de fertilisation azotée baissent régulièrement quelque soit l'espèce.

tion azotée ont été réalisés dans le cadre des programmes Génoplante, associant l'INRA, les filières agricoles et quelques grandes entreprises semencières françaises.

Une plateforme de phénotypage pour le facteur azote

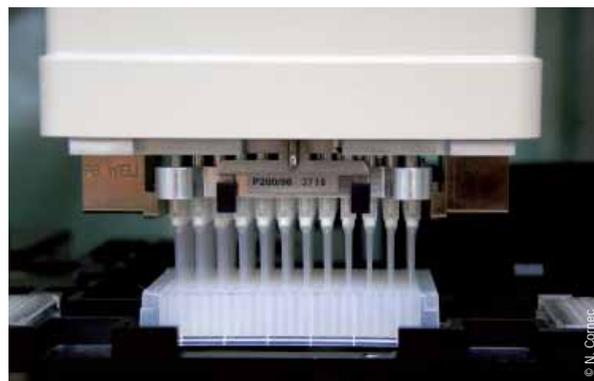
Les résultats les plus avancés concernent le maïs, avec notamment le séquençage complet de son génome. Le rôle majeur de deux glutamines synthétases cytosoliques a également été mis en évidence dans la constitution du poids de 1 000 grains et le nombre de grains. Des travaux de même

nature ont été entrepris sur le blé, avec entre autre le croisement Arche x Récital. Suite à des travaux

Rechercher des QTL pour identifier les zones du génome impliquées dans le métabolisme azoté.

de recherche de QTL (quantitative trait loci), les principaux gènes des voies d'assimilation de l'azote (NiR, NR, GS, GDH, GOGAT) ont été cartographiés. Par contre, l'étude des variabilités alléliques ne fait que débiter.

Les techniques de QPCR permettent de déceler la présence de certains allèles (ou variants) de gènes dans une variété donnée.



Colza et blé : plusieurs génomes associés dans une seule plante

La nature des génomes du blé et du colza rend plus difficiles les travaux de cartographies génétiques que sur le maïs. Le blé est un hexaploïde qui renferme trois génomes ancestraux : chaque chromosome est présent en 6 versions. Le colza regroupe quant à lui les génomes de ses 2 parents : le chou (2 x 9 chromosomes) et la navette (2 x 10 chromosomes). Ces espèces, riches de 2 ou 3 génomes, possèdent ainsi au moins 4 à 6 copies pour un même gène dont les activités ont tendance à se compenser. En colza, sur l'ensemble des deux génomes, on dénombre une quinzaine de gènes de glutamine synthétase. Ces éléments rendent beaucoup plus difficiles les travaux entrepris et l'analyse des liens entre comportements phénotypiques et marqueurs génotypiques. Par ailleurs, contrairement au Maïs, on ne dispose pas encore du séquençage complet des génomes du blé et du colza. Les programmes sont en cours et devraient déboucher rapidement.

2

tosynthétiquement actives doit permettre un supplément de ressources en carbone nécessaire à la fois à la lipogénèse et à l'assimilation de l'azote.

L'efficacité d'absorption de l'azote de la plante dépend également de la façon dont elle construit son rendement : les variétés de blé à forte fertilité des épis et/ou avec un potentiel de poids de 1 000 grains élevés requièrent des besoins en azote plus faibles. La sélection de variétés ayant ce type de caractéristiques est donc également une voie pertinente.

Des avancées grâce au programme Génoplante

Les voies d'assimilation de l'azote, les différentes étapes, et leurs régulations sont aujourd'hui assez bien connues. Les recherches actuelles s'intéressent principalement aux deux extrémités de la chaîne. Elles concernent d'un côté les transporteurs membranaires du nitrate ou de l'ammonium, la régulation de leur fonctionnement et les interactions avec la croissance et le développement du système racinaire. De l'autre, elles portent sur les étapes de sénescence et de remobilisation de l'azote.

Les acquis des physiologistes constituent en tout cas une bonne base pour aller plus loin avec la génétique. En France, la plupart des travaux sur l'amélioration de la nutri-

Pour travailler ce sujet, une plateforme de phénotypage dédiée au facteur azote, subventionnée par l'ANR (Agence Nationale pour la Recherche) et pilotée par ARVALIS – Institut du végétal, s'est récemment mise en place en Champagne crayeuse. Différents types de capteurs d'estimation à distance du statut azoté des plantes y seront testés cette année dans le but d'avoir des diagnostics spécifiques sur de grands effectifs, à des stades clés. Ces étapes sont primordiales pour caractériser de manière pertinente les lignées et les variétés (*encadré 3*). Un autre programme a permis d'identifier les QTL impliqués spécifiquement dans la fertilité des épis. Il ouvre la voie à l'obtention de variétés sobres et à haut potentiel de rendement. Sur colza, les premières recherches de QTL réalisées sur

Pour améliorer un caractère, la recherche passe par plusieurs étapes

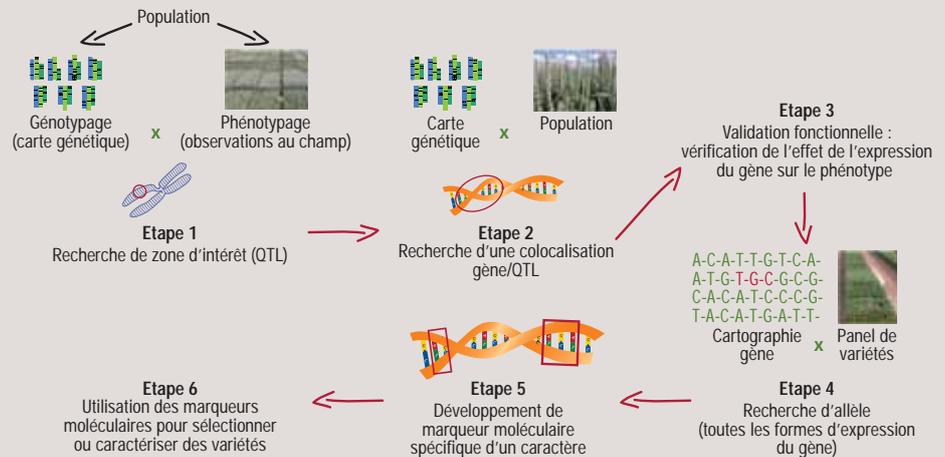


Figure 1 : Les différentes étapes de la génomique

Pour déceler les gènes responsables d'un caractère, les chercheurs comparent des observations visuelles sur différentes populations issues d'un croisement (phénotypes) à des séquences d'ADN ou « cartes génétiques » (génotypes). Plusieurs étapes permettent d'affiner la recherche.

une descendance HD d'un croisement sont en cours de consolidation à l'INRA et au CETIOM. Les travaux sur les gènes candidats se sont concentrés pour l'instant sur les glutamines synthétases et certaines protéases. Les plateformes de phénotypage à débit amélioré en cours de montage, en particulier sur le campus de Saclay entre l'INRA et les instituts techniques, devraient permettre d'intensifier ce travail.

À l'étranger : des projets OGM

À l'étranger, des variétés valorisant mieux l'azote sont sélectionnées par voie de transgénèse (OGM). Certaines équipes travaillent avec des gènes de Glutamine synthétase, sur le riz ou le blé. Une start up américaine utilise un gène d'Alanine amino transférase, qui intervient dans la gestion du pool de glutamate pour la synthèse d'acides aminés. Elle l'a intégré dans des variétés de riz et de colza de printemps. Les résultats publics



sur colza laissent apparaître des effets très significatifs, avec néanmoins deux réserves. Les résultats les plus spectaculaires sont obtenus pour des situations à faible disponibilité en azote. Par ailleurs, il s'agit de colza de printemps qui n'est pas confronté aux mêmes difficultés et spécificités que le colza d'hiver. ■

L'azote est au cœur des problématiques énergétiques, environnementales et économiques des grandes cultures.

Xavier Pinochet
pinochet@cetiom.fr

CETIOM

Philippe Gate

p.gate@arvalisinstitutduvegetal.fr
ARVALIS-Institut du végétal

**La difficulté :
relier les
observations
visuelles
(phénotypes)
avec les
codes
génétiques
(génotypes).**

La génomique : une démarche commune à toutes les espèces

Quelles que soient les espèces, les « améliorateurs » des plantes passent par les mêmes étapes. D'abord décrire la variabilité disponible du caractère étudié parmi une collection de ressources génétiques. Cette caractérisation permet de choisir des parents suffisamment différents pour étudier, dans la descendance issue du croisement, le déterminisme génétique du caractère. Pour cela, la descendance est généralement soumise à différents régimes de fertilisation azotée puis analysée sous deux angles : les observations au champ (phénotypage) et l'analyse de l'ADN (génotypage).

Ces deux types de données sont ensuite comparés pour positionner sur une carte génétique les zones impliquées (quantitative trait loci, QTL) dans l'assimilation de l'azote. Si ces zones correspondent à des gènes déjà connus pour ce caractère (colocalisation), l'hypothèse d'implication du gène se consolide. Encore faut-il le démontrer grâce à une « validation fonctionnelle ».

Cette étape consiste à observer le comportement de la plante suite à une surexpression ou au contraire à une extinction du gène en question (selon différentes méthodes).

Dans le cas où la validation est acquise, l'étape suivante va

consister à étudier la diversité du gène considéré (ou variabilité allélique) au sein d'une collection de référence. Ces études vérifient l'expression du caractère en présence d'un ou plusieurs variants alléliques.

Ensuite seulement, il sera possible de définir des marqueurs moléculaires directement liés au caractère. Ces marqueurs pourront alors être utilisés en sélection.

15 ans de durs labeurs

Ces travaux sont très lourds et s'étalent sur une quinzaine d'années.

Réaliser des croisements, produire des descendances, multiplier des semences, expérimenter au champ de très grands nombres de génotypes pendant plusieurs années et en plusieurs lieux, sous différents régimes de fertilisation azotée... Il restera ensuite le travail proprement dit de sélection de variétés à l'aide des outils générés et des ressources génétiques identifiées.

Les premiers fruits de 15 années d'efforts arrivent avec les outils de sélection assistés par marqueurs. Les progrès réalisés sur les techniques de biologie moléculaire devraient accélérer l'efficacité du processus.