N° d'ordre: 573





Universite des sciences et technologies de Lille Ecole Doctorale Sciences de la Matiere, du Rayonnement et de l'Environnement

Mémoire des titres et travaux scientifiques

Présenté en vue d'obtenir

L'HABILITATION A DIRIGER LES RECHERCHES

Déterminisme génétique de l'adaptation à une alimentation azotée sub-optimale

par

Jacques Le Gouis

Chargé de Recherche

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

le 24 juillet 2007

devant la commission d'examen constituée de

André Gallais	Professeur Emérite, INA-PG	Rapporteur
Marie-Hélène Jeuffroy	Directrice de Recherche, INRA	Rapporteur
Théo Hendriks	Professeur, USTL	Rapporteur
Frédéric Dubois	Professeur, UPJV	Examinateur
Michel Rousset	Directeur de Recherche, INRA	Examinateur

Curriculum Vitae

ETAT CIVIL

Jacques LE GOUIS

Né le 3 mars 1964 à Lyon 6ème (Rhône)

Nationalité française

Adresse UMR INRA/UBP Amélioration et Santé des Plantes

234 Avenue du Brezet, Domaine de Crouelle, 63039 Clermont-Ferrand

Téléphone : 04-73-62-43-11 Email : jlegouis@clermont.inra.fr

FONCTION

Chargé de Recherche INRA, département de Génétique et Amélioration des Plantes UMR INRA/UBP 1095 Amélioration et Santé des Plantes Clermont-Ferrand

Co-Responsable de l'équipe « Valorisation de l'azote, composition et qualité du grain de blé »

ETUDES ET DIPLOMES

1982 Baccalauréat série D, Lyon.

1984 Diplôme Universitaire de Technologie, Biologie Appliquée, Lyon.

1988 Diplôme d'Ingénieur Agronome INA-PG

Diplôme d'Etudes Approfondies de Ressources Génétiques, Amélioration des Plantes et Création de Variétés de l'.INA-PG, responsable Prof. André Gallais.

Mémoire de DEA : **Etude du polymorphisme des anciennes variétés françaises d'orge** (*Hordeum vulgare* **L.**), responsable Louis Jestin (INRA Clermont-Ferrand)

1992 Diplôme de Docteur de l'INA-PG.

Thèse : Etude de la variabilité génétique pour l'élaboration du rendement en grain de l'orge d'hiver (*Hordeum vulgare* L.). Comparaison de variétés à deux rangs et à six rangs, directeur de thèse Prof. André Gallais.

STAGES ET EXPERIENCES PROFESSIONNELLES

Août 1987 : Stage de quatre semaines au laboratoire des fourrages de la Welsh Plant Breeding Station (Aberystwyth, Pays de Galles), responsable Dr M. D. Hayward.

Mars-Sept 1988 : Stage de DEA au laboratoire de l'orge de la station d'Amélioration des Plantes de l'INRA de Clermont Ferrand, responsable L. Jestin.

Déc 1988 : Recrutement en tant qu'Attaché Scientifique Contractuel à la station d'Amélioration des Plantes de l'INRA de Mons-Péronne, directeur M. Derieux.

- Avr 1992-mars 1993 : Stage post-doctoral à l'Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I de l'Université Justus-Liebig de Gießen, Allemagne, responsable Prof Dr W. Friedt.
- Août 1993 : Recrutement en tant que Chargé de Recherche à la station d'Amélioration des Plantes de l'INRA de Mons-Péronne, directeur G. Etévé
- Fév 2007: Mutation à l'UMR INRA/UBP Amélioration et Santé des plantes de Clemront-Ferrand, directeur G. Charmet

PARTICIPATIONS A DES CONGRES ET ECOLES-CHERCHEURS

- 16-22 avril 1989 : Ecole chercheur "La génétique des populations", La Londe-les-Maures
- 22-27 Juillet 1991: IVth International Barley Genetics Symposium, Helsingborg, Suède
- 8-10 janvier 1992 : Colloque International en l'Hommage à Jean Pernes. Complexes d'espèces, flux de gènes et ressources génétiques des plantes, Paris
- 6-10 juillet 1992 : XIIIe Congrès Eucarpia. Biologie de la reproduction et amélioration des plantes, Angers
- 4-5 mars 1993 : Les possibilités de l'amélioration génétique pour l'obtention durable de plantes saines. Gesellschaft für Pflanzenzüchtung e.v., Freising Weihenstephan, Allemagne
- 7-11 déc 1993 : Ecole chercheur "Biologie moléculaire et amélioration des plantes", Toulouse
- 18-22 sept 1994 : Third Congress of the European Society for Agronomy, Abano Padova, Italie
- 15-18 mai 1995 : VIIe Conférence sur les maladies virales des Poacées en Europe, Versailles
- 31 juil-4 août 1995 : XVth Eucarpia Congress. Adaptation in plant breeding, Jyväskylä, Finlande
- 30 juil-6 août 1996 : VIIth International Barley Genetics Symposium. Saskatoon, Canada
- 22-23 sept.1997 : Application of marker aided selection in cereal breeding programs. Eucarpia section cereal meeting, Tulln, Autriche
- 24-29 mai 1998 : VIIIth Conference on virus diseases of Gramineae in Europe, Goslar, Allemagne
- 2-5 juin 1999: Cost action 814. Crop development for the cool and wet regions of Europe. Workshop on N-use efficiency, Melle, Belgique
- 17-21 jan 1999: Plant and Animal Genome VII, San Diego, USA
- 22-27 oct 2000 : VIIIth International Barley Genetics Symposium, Adelaïde, Australie
- 30 août-1 sept 2000 : Eucarpia. Quantitative genetics and breeding methods : the way ahead, Paris
- 25-27 sept 2000 : 1er séminaire Génoplante, La Grande Motte
- 18-23 mars 2001 : 2^{ème} école thématique de biologie végétale. Génomique fonctionnelle chez les végétaux : du gène à la fonction, Carry le Rouet
- 8-12 juil 2001 : 6th International Symposium on Inorganic Nitrogen Assimilation : from the field to the genome, Reims
- 1-3 oct 2001 : 2^{ème} séminaire Génoplante, Poitiers
- 1-6 juil 2002 : 12th International European Wheat Aneuploid Cooperative, Cambridge, UK
- 29 sept-2 oct 2002 : 1st Plant Genomics European Meeting, Berlin, Allemagne
- 18-20 mars 2003 : 3^{ème} séminaire Génoplante, Poitiers

- 1-6 juil 2003: 10th International Wheat Genetics Symposium, Paestum, Italie
- 27-28 nov 2003: Séminaire Ecogène : Approches du Fonctionnement des Végétaux en Relation avec leur Environnement combinant Ecophysiologie, Génétique et Génomique, Versailles
- 12-16 jan 2004 : Réflexives Du sujet de thèse au projet de recherche, La Napoule
- 18-21 juil 2004 : International workshop on modelling quality traits and their genetic variability in wheat, Clermont-Ferrand
- 20-22 sept 2004 : 4^{ème} séminaire Génoplante, Lyon
- 22-25 sept 2004 : 3rd Plant Genomics European Meeting, Lyon
- 3-7 oct 2005 : 4^{ème} école thématique de biologie végétale. Biologie intégrative, Batzsur-Mer
- 13-17 nov 2006: Eucarpia Cereal Section meeting, Cereal Science and Technology for Feeding Ten Billion People: Genomics Era and Beyond, Lleida, Spain
- 14-16 mars 2007 : From genes to traits, 4th UK small grain cereals genetics and genomics workshop, NIAB, Cambridge, England

Activité d'évaluation et d'animation de la recherche

1. Responsabilités collectives

1.1. Responsabilité d'équipe

Recruté en 1993, j'ai été affecté au laboratoire des céréales à paille dirigé par Pierre Pluchard. Les réflexions menées dans le cadre du schéma directeur en 1999 ont conduit à la modification de la structuration par espèce (céréales, maïs, pois) des activités de la station et entraîné la création des trois équipes «Adaptation aux basses températures », « Méthodologie d'étude des interactions génotype x milieu » et «Adaptation à une alimentation azotée sub-optimale ». J'ai pris la responsabilité de cette dernière équipe composée de 2,5 scientifiques, 2,5 ingénieurs et 4,5 agents techniques.

La création en 2006 de l'UMR "Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés" (SADV) en intégrant les trois unités "Génétique et Amélioration des Plantes" (INRA Mons), "Physiologie des Parois Végétales" (USTL Lille), "Physiologie de la Différenciation Végétale" (USTL Lille) a entraîné une restructuration des thématiques de recherche. Cinq équipes ont émergé : "Adaptation au froid des végétaux", "Embryogenèse somatique et reproduction", "Adaptation à l'azote limitant et interaction génotype x milieu", "Equipe de Recherche Technologique (ERT) Produit du végétal et déterminisme génétique chez la chicorée", et "Physiologie des parois végétales". L'équipe "Adaptation à l'azote limitant et interaction génotype x milieu" résulte de la fusion des deux équipes "Adaptation à une alimentation azotée suboptimale", et "Méthodologie d'étude des interactions génotype x milieu" et j'en ai assuré la co-responsabilité avec Maryse Brancourt.

J'ai fait partie en outre du collège qui a assuré la direction de la station en 2002 et été directeur adjoint de l'UR de 2004 à 2005.

J'ai rejoint début 2007 l'UMR Amélioration et Santé des Plantes de Clermont-Ferrand. J'ai intégré l'axe 2 "Valorisation de l'azote, composition et qualité du grain de blé" où je vais développer un programme sur la valorisation de l'azote et la teneur en protéines en relation avec les écophysiologistes de l'équipe APAC.

1.2. Autres responsabilités

De 1993 à 2006, j'ai assuré l'administration du serveur Unix de la station en relation avec les informaticiens de centre situés à Villeneuve-d'Ascq et la gestion du réseau informatique locale avec l'aide d'une technicienne.

Je suis membre du Conseil Scientifique d'Utilisation (CSU) de l'unité expérimentale du Moulon dirigée par Olivier Gardet.

Je fait partie depuis 2003 du comité de sélection et de suivi des projets financés par le pôle régional Interaction Bio-moléculaire et Fonctions Biologiques (IBFBio) de Picardie.

Depuis 2002, je suis membre du bureau éditorial du Journal of Applied Genetics (Pologne).

J'ai participé à plusieurs concours de recrutement INRA:

- 1) TR pour l'UR GAP de Mons-Péronne (1992)
- 2) IE pour l'UR GAP de Mons-Péronne (1994)
- 3) AGT pour l'UR E&A de Laon (1996, président)
- 4) ASC pour l'UR BV de Versailles (1999)
- 5) TR pour les SDAR de Villeneuve-d'Ascq (2005, président)
- 6) TR pour l'UMR GAP de Clermont-Ferrand (2006)

Je suis depuis début 2005 membre de la Commission de Spécialistes 64-69ème sections de l'UPJV Amiens qui examine le recrutement des Attachés Techniques d'Enseignement et de Recherche (ATER) et des Maîtres de Conférence (MC).

2. Contrats et activité de valorisation

2.1. Responsabilités de projets

- 1.1) Responsabilité du **projet CTPS** (1998-2000) « Mise en évidence de différences variétales en vue de la sélection pour la résistance à une carence en azote chez le blé tendre d'hiver ». Partenaires : INRA, ITCF, IBP Orsay, Nickerson.
- 1.2) Co-resposabilité avec Louis Jestin (INRA Clermont-Ferrand) de l'**AIP INRA** (1998-2002) « Création de variétés d'orge d'hiver brassicoles résistantes ou tolérantes aux viroses ».
- 1.3) Co-responsabilité avec Thierry Ronsin (Nickerson) du **projet GénoPlante blé CP2P1** (1999-2001) « Etude du déterminisme génétique de la tolérance à une déficience en azote du blé tendre en combinant des approches QTL, gènes candidats et protéome ». Partenaires : INRA, Biogemma.
- 1.4) Co-responsabilité avec Frédéric Dubois (UPJV Amiens) du **projet régional IBFBio** (2000-2004) « Etude de l'adaptation du blé d'hiver à une alimentation limitante en azote ». Partenaires : INRA, UPJV.
- 1.5) Co-responsabilité avec Thierry Ronsin (Nickerson) du **projet GénoPlante blé CP2P1** (2001-2003) « Etude du déterminisme génétique de la tolérance à une déficience en azote du blé tendre en combinant des approches QTL, gènes candidats et protéome ». Partenaires : INRA, Arvalis, Biogemma.
- 1.6) Responsabilité du **projet FSOV** (2004-2006) « Amélioration conjointe de l'absorption de l'azote et de la teneur en protéines ». Partenaires : INRA, Arvalis, six membres du CETAC.
- 1.7) Co-responsabilité avec Frédéric Dubois (UPJV Amiens) du projet régional **IBFBio** (2005-2007) « Etude de la contribution de la glutamate déshydrogénase à l'efficience d'utilisation de l'azote par analyse QTL chez le blé et approches histophysiologiques chez Arabidopsis thaliana ». Partenaires : INRA, UPJV.
- 1.8) Responsabilité de la partie INRA du projet **BBSRC/INRA** (2006-2009) "Identification of traits and genetic markers to reduce the nitrogen requirement and improve the grain protein concentration of winter wheat" coordonné par John Foulkes (University of Nottingham). Partenaires : INRA, University of Nottingham, John Innes Centre, Rothamsted Research.

1.9) Responsabilité de la partie INRA du projet **GénoPlante** (2006-2009) "Analyses génétiques de la stabilité du rendement et de la teneur en protéines du grain en contexte limitant en azote chez le blé tendre et le blé dur "coordonné par Christophe Tatout (Biogemma). Partenaires : INRA, Biogemma, Limagrain-Verneuil Holding, Arvalis.

2.2. Participations à des projets

- 2.1) Participation au **Contrat Branche** (1994-1996) « Amélioration de l'évaluation des potentialités variétales du blé tendre ». Partenaires : Arvalis, INRA, CNRS, Club des 5, Nickerson.
- 2.2) Participation à l'**AIP INRA** (1995-1997) « Fonctionnement d'un peuplement de blé en conditions de nutrition azotée sub-optimales ».
- 2.3) Participation au projet INRA/Du Pont de Nemours (2000-2002) « Blés hybrides ».
- 2.4) Participation au **projet Génoplante CP2P2 (2002-2004)** « Biologie intégrative de la croissance et du développement du blé pour une meilleure stabilité de production dans un contexte d'agriculture intégrée ». Partenaires : INRA, Arvalis, Biogemma.
- 2.5) Participation au **projet Génoplante B4 (2004-2005)** « Amélioration de l'efficacité de l'utilisation de l'azote : de la plante modèle aux plantes cultivées ». Partenaires : INRA, Arvalis, Biogemma.

2.3. Inscription de variétés d'orge

Variétés d'orge inscrites par Agri-Obtentions et découlant du projet commun de création variétale Clermont-Ferrand/Mons-Péronne :

- 1) Angela (1997) 6 rangs, productive et résistantes aux maladies
- 2) Epona (1998) 6 rangs, bonne qualité brassicole
- 3) Mattina (1998) 6 rangs, productive
- 4) Falbala (2001) 2 rangs, bonne qualité brassicole
- 5) Magenta (2002) 2 rangs, très bonne qualité brassicole
- 6) Manava (2006) 2 rangs, résistante aux maladies, bonne qualité brassicole

3. Encadrement

3.1. Encadrement de stagiaires longue durée

- 1) Brancourt Michel, 1989. Etude de la variabilité pour l'élaboration du rendement chez sept génotypes d'orge. **Diplôme d'Ingénieur Agricole** de l'Institut Supérieur d'Agriculture de Lille
- 2) Bridelance Laurent, 1994. Etude de la variabilité génétique pour l'utilisation de l'azote chez l'orge d'hiver. Diplôme d'Ingénieur Agricole de l'Institut Supérieur d'Agriculture de Lille
- 3) Morel Frédéric, 1995. Recherche de marqueurs RAPD des gènes de résistance aux virus de la mosaïque de l'orge. **Diplôme de Maître es Sciences** de l'Université de Perpignan
- 4) Delebarre Olivier, 1996. Etude de le variabilité génétique pour l'utilisation de l'azote chez l'orge d'hiver. **Diplôme d'Ingénieur Agricole** de l'Institut Supérieur Agricole de Beauvais

- 5) Bodet Laurent,1998. Etude d'un diallèle en vue de l'analyse de la tolérance au stress azoté chez le blé tendre. **Diplôme de Maîtrise** des Sciences et Techniques en Productions Végétales et Industries Agroalimentaires de l'Université d'Amiens
- 6) Lutun Xavier, 2000. Etude du déterminisme génétique de la tolérance à un stress azoté. **Diplôme d'Ingénieur Agricole** de l'Ecole Supérieure d'Ingénieur et de Technicien pour l'Agriculture de Rouen
- 7) Debomy Sonia, 2001. Sélection de lignées de blé tendre adaptées à des systèmes de culture à bas niveaux d'intrants. **Diplôme de Maîtrise** de Université du Littoral de Calais
- 8) Dez Bénédicte, 2001. Déterminisme génétique de la valorisation de l'azote. Diplôme de **Licence Profesionnelle** Agrotechniques Végétales et Agro-Environnement de l'Université de Reims Champagne-Ardenne
- 9) Maniez Nicolas, 2002. Analyse de la remobilisation et de l'absorption d'azote postfloraison de variétés de blé soumises à une carence en azote. **Diplôme de Maîtrise des Sciences et Techniques** en Productions Végétales et Industries Agroalimentaires de l'Université d'Amiens
- 10) Cornaille Aurélie, 2003. Etude du déterminisme génétique de la valorisation de l'azote chez le blé tendre d'hiver. **DESS** Méthodes d'Analyse et de Contrôle dans l'Assurance Qualité de l'Université d'Amiens
- 11) Baranger Edouard, 2003. Estimation de la remobilisation et de l'absorption de l'azote chez le blé tendre (*Titicum aestivum* L.) durant la phase de remplissage du grain en vue d'une réduction des intrants azotés. **Maîtrise des Sciences et Techniques** en Productions Végétales et Industries Agroalimentaires de l'Université d'Amiens
- 12) Thiébot Paul-Alexis, 2004. Amélioration conjointe de l'efficacité d'absorption et de remobilisation de l'azote. **DESS** Gestion des Agroressources de l'Université de Reims Champagne-Ardenne
- 13) Herbain Céline, 2006. Utilisation du modèle Azodyn pour prévoir le comportement de variétés de blé tendre d'hiver vis-à-vis de nutritions azotées sub-optimales. **Master Professionnel** en Productions Végétales et Industries Agroalimentaires de l'Université d'Amiens

3.2. Encadrement de thèses

3.2.1. Comités de pilotage

- Olivier Loudet, Etude des bases génétiques de l'efficacité d'utilisation de l'azote chez une espèce modèle, Arabidopsis thaliana. INRA Versailles, 1999-2002
- Florian Chain, Caractérisation et analyse de la durabilité de la résistance de deux lignées de blé au virus PAV de la jaunisse nanisante de l'orge. Agrocampus Rennes, 2001-2005
- Xavier Lacaze, Déterminants génétiques de l'adaptation locale : exemple des critères de qualité du blé dur. INRA Montpellier, 2001-2005
- Thomas Kichey, Etude agronomique et physiologique du fonctionnement à faible niveau d'azote du blé tendre durant la phase de remplissage du grain. INRA Versailles UPJV Amiens, 2002-2005
- Marie Coque, Bases physiologiques et génétiques de l'efficacité d'utilisation de l'azote chez le maïs. INRA Le Moulon, 2003-2006
- Jean-Xavier Fontaine, Etude de la contribution de la Glutamate Déshydrogénase à l'efficience d'utilisation de l'azote par analyse QTL chez le blé et approches histo-

- physiologiques chez *Arabidopsis thaliana*. INRA Versailles UPJV Amiens, 2005-en cours
- Umar Quraishi Masood, Participation à la dissection des bases génétiques de QTLs de la qualité du grain de blé en relation avec le rendement. INRA Clermont-Ferrand, 2006- en cours

3.2.2. Jury de thèse

- Florian Chain, Caractérisation et analyse de la durabilité de la résistance de deux lignées de blé au virus PAV de la jaunisse nanisante de l'orge. Agrocampus Rennes, 13 juillet 2005
- Thomas Kichey, Etude agronomique et physiologique du fonctionnement à faible niveau d'azote du blé tendre durant la phase de remplissage du grain. INRA Versailles UPJV Amiens, 8 décembre 2005
- Marie Coque, Bases physiologiques et génétiques de l'efficacité d'utilisation de l'azote chez le maïs. INRA Le Moulon, 24 avril 2006

3.2.3. Co-Direction de thèse

Laperche Anne, Etude des déterminants génétiques de la tolérance à une carence en azote chez le Blé Tendre. Expliquer la variabilité génétique par des variables d'architecture et d'absorption racinaire, 2003-2005, ED Stratégies d'Exploitation des Fonctions Biologiques, Université Technologique de Compiègne.

Co-encadrement avec Florence Devienne (CR), Environnement et Grandes Cultures, UMR INRA-INA Paris-Grignon.

4. Les activités d'enseignement

- 1997 : enseignement de 9h en licence « Productions Végétales et Industries Agroalimentaires » de l'université d'Amiens : « Introduction à la sélection et à la génétique quantitative »
- 2001-2004 : enseignement de 6h à l'IUP « Productions Végétales et Industries Agroalimentaires » de l'université d'Amiens : « biologie et physiologie appliquée du blé »
- 2005-2007 : enseignement de 4/6h de cours à l'IUP Master 2 « Productions Végétales et Industries Agroalimentaires » de l'université d'Amiens : « Détection de QTL et identification de gènes candidats : un exemple de recherche chez le blé »
- 2006-2007 : enseignement de 4h de travaux dirigés à l'IUP M2 « Productions Végétales et Industries Agroalimentaires » de l'université d'Amiens : "Bioinformatique"
- 2000-2007 : enseignement de 3h de cours au Master Pro « Agroressources » de l'université de Reims : « Sélection des espèces autogames »
- 2005 : formation interne INRA de 3h organisée par le centre de Versailles-Grignon sur "la biologie moléculaire & les biotechnologies, appliquées à la recherche sur le végétal et à l'amélioration des plantes"

Mémoire des travaux scientifiques

1. Introduction

1.1. Positionnement

Mon activité de recherche a été répartie sur deux thèmes d'étude. Le premier thème concernant la résistance de l'orge aux virus a débuté lors de mon stage post-doctoral en 1993 et a progressivement diminué pour n'exister maintenant qu'à travers la valorisation de matériel de sélection. L'arrêt de ce programme a été lié à la volonté du DGAP de concentrer les efforts sur des espèces majeures et au souhait des chercheurs de Mons de fédérer les thématiques autour de l'adaptation de la plante aux contraintes abiotiques. Le deuxième thème traitant de la variabilité génétique pour l'adaptation à une carence en azote (N), commencé en 1994, occupe depuis 1998 la grande majorité de mon temps de recherche.

Les approches globales de ces deux thèmes de recherche comportaient des similitudes mais concernaient des objets d'étude très différents. Dans le cas de la résistance aux virus de l'orge, il s'agissait principalement de rechercher et de caractériser de nouvelles sources de résistance sous la forme de gènes majeurs en s'appuyant sur un programme de création variétale. La compréhension des mécanismes était relativement simple à la fois du point de vue génétique, elle concernait un caractère monogénique sur une espèce diploïde, et du point de vue expérimental, du fait de l'absence d'interaction forte avec le milieu. Pour la tolérance à une carence en azote, la démarche suivie a été similaire, avec aussi une recherche de variabilité génétique suivie ensuite de sa caractérisation. Cependant il s'agit d'un caractère complexe soumis à de fortes interactions avec le milieu, et principalement étudié sur le blé, une espèce allohexaploïde possédant donc un génome complexe.

J'ai pu profiter sur Mons des compétences de Maryse Brancourt pour l'analyse des interactions génotype x milieu et de celle de Michel Rousset puis Eric Hanocq pour le déterminisme de la précocité. Les expérimentations au champ implantées à Mons ont été suivies par Emmanuel Heumez, Daniel Dorvillez et Denis Béghin. Les compétences en biologie moléculaire ont été apportées par Nasser Bahrman et plusieurs ingénieurs CDD GénoPlante.

Pour les deux thèmes de recherche, les travaux engagés nécessitaient des compétences pluridisciplinaires non disponibles dans l'unité de Mons qui ont à chaque fois été apportées par des collaborations. Pour l'orge, elles ont principalement concerné les pathologistes de Versailles (Djabar Hariri) et de Rennes (Emmanuel Jacquot) et des généticiens à Giessen en Allemagne (Frank Ordon) et Gembloux en Belgique (Fernand Froidmont). Le domaine de compétences nécessaires étant plus large dans le cas de l'azote, des collaborations plus variées ont été tissées. D'abord avec les agronomes de E&A Grignon (Marie-Hélène Jeuffroy) puis de EGC Grignon (Florence Devienne, Betrand Ney). Ensuite avec les physiologistes de l'UNAP Versailles (Betrand Hirel, Françoise Vedele) et de l'UPJV d'Amiens (Frédéric Dubois). L'accès aux outils de génomique a été obtenu principalement au travers de projets GénoPlante à l'INRA de Clermont-Ferrand et Rennes pour la cartographie, à l'INRA du Moulon pour le séquençage de spots protéiques et chez Rhobio/Biogemma pour le développement

d'EST et de la transcriptomique. Enfin, il a largement été fait appel au réseau des stations expérimentales de l'INRA pour la réalisation des essais.

J'ai choisi de concentrer ma présentation des travaux de recherche sur le thème qui m'occupe maintenant et qui concerne l'étude du déterminisme génétique de l'adaptation à une carence en azote. La stratégie de recherche globale qui a été suivie est présentée dans la Figure 1. Deux évolutions peuvent être constatées. Premièrement, pour les premiers projets, une évolution logique de programmes destinés à évaluer la variabilité génétique vers des programmes de détection de QTL et ensuite vers des programmes de validation de régions chromosomiques dans des lignées isogéniques issues des populations de départ ou dans d'autres fonds génétiques. Deuxièmement, une évolution vers des programmes pouvant maintenant couvrir l'ensemble des phases, de la mise en évidence d'une variabilité génétique à une première validation de gènes candidats, grâce à la disponibilité de nombreuses populations de lignées recombinantes au moins partiellement caractérisées, des core-collections ou de populations de lignées mutantes.

L'ensemble des travaux conduits s'inscrit dans le champ thématique 2 du Département de Génétique et Amélioration des Plantes nommé "Connaître les génomes des espèces végétales et leurs fonctions".

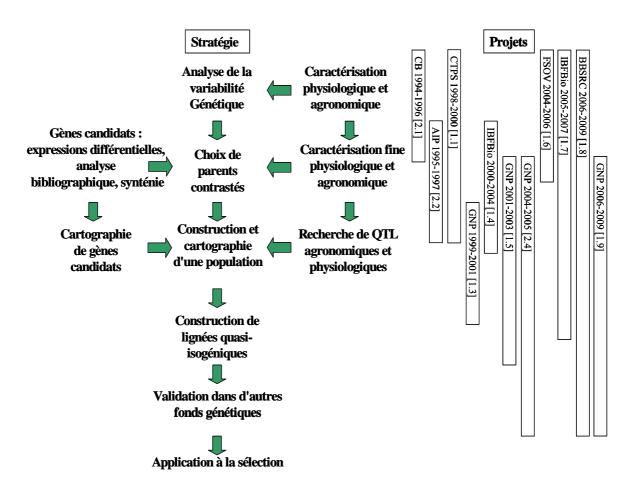


Figure 1 : présentation de la stratégie générale de recherche et des projets associés à chaque partie.

2. Déterminisme génétique de l'adaptation à une alimentation azotée suboptimale

2.1. Contexte

Le blé tendre est l'espèce végétale la plus cultivée en France et celle faisant l'objet des échanges commerciaux les plus importants. La demande est en augmentation, mais la concurrence internationale est très forte et les prix de vente ont fortement baissé depuis 1993. Contrairement aux autres grands pays producteurs, la culture de blé reste très intensive en Europe du nord. Dans ce contexte économique, la maîtrise des coûts de production et de la qualité des lots est primordiale. Par ailleurs, l'agriculture doit faire face à une demande sociale pour des productions plus respectueuses de l'environnement, indemnes de résidus chimiques et de bonne valeur alimentaire. La maîtrise des coûts de production et la diminution des risques de pollution passent par la limitation raisonnée des intrants. Les engrais azotés minéraux représentent en moyenne plus de 25% des charges opérationnelles d'une culture de blé (Quiévreux 1997) et leur prix augmente proportionnellement à celui du pétrole car leur fabrication consomme beaucoup d'énergie. De plus, leur production et leur application représentent de l'ordre des deux tiers du coût énergétique de l'ensemble des intrants d'une culture de blé (Gosse et Mérillot 1997). Ils sont les premiers responsables de la pollution des nappes phréatiques d'origine agricole et peuvent dégager des gaz à effet de serre. Dans l'hypothèse d'une diminution des apports d'engrais azoté, la plante va être en condition de carence pendant une partie de son cycle. Il faudra donc adapter les techniques culturales et les variétés pour maintenir dans ces conditions un niveau de rendement et de qualité d'utilisation acceptable. Plusieurs études démontrent déjà que l'association entre variétés rustiques et itinéraires à faible niveau d'intrant permet d'optimiser les marges des agriculteurs (Leleu et al 2000 [5.5], Félix et al 2002, 2003, 2005).

2.2. Quelle carence en azote?

Dans un système de culture conventionnel, l'azote disponible pour la plante provient en partie des apports en engrais azotés minéraux et pour partie des fournitures du sol. De façon classique, l'azote est apporté en deux ou trois fois, à la sortie de l'hiver, au stade épi à 1 cm et durant la montaison et doit assurer une couverture totale des besoins de la plante. Dans le contexte de la diminution des coûts de production et des risques de pollution, plusieurs situations peuvent entraîner l'apparition de carences en azote lors de la culture du blé :

- la première situation est la diminution de la dose totale d'azote à apporter pour limiter les intrants en visant un objectif de rendement plus faible qui maximise en fait la marge brute. Sur l'UE de Mons, l'objectif de rendement est ainsi passé de 100 q/ha à 90 q/ha voire 80 q/ha dans le cadre de la production intégrée, soit une diminution de l'ordre de 30 à 60 kg N / ha.
- la deuxième situation est la recherche du meilleur ajustement entre l'offre en azote et la demande en augmentant la fréquence et diminuant le volume des apports. Ceci est notamment obtenu par la mise en œuvre de techniques de pilotage (JUBIL, Hydro N tester par exemple) qui entraînent souvent un troisième apport. Cette démarche peut par contre accroître le risque de carences temporaires si l'utilisation de l'azote est limitée par une période sèche.
- la troisième situation, souvent associée à une diminution de la dose totale et à un pilotage du besoin de la culture, est un décalage des apports vers la

- floraison pour augmenter le coefficient d'utilisation de l'azote et maintenir la teneur en protéines du grain. Dans ce cas, la culture subira une carence à la sortie de l'hiver durant la phase de tallage.
- la quatrième situation est la concurrence entre travaux dans certains types d'exploitations qui empêche l'apport à la date optimale. Cette situation est susceptible d'augmenter avec l'accroissement des surfaces des exploitations et la recherche d'une diminution des charges de structure, d'équipement ou de personnel.

Ces quatre situations montrent que l'intensité, la durée et la date d'apparition des carences pourront être très différentes. Dans la majorité des cas, la plante ne sera pas en carence durant les premières phases de développement car la demande est faible. Elle pourra l'être par contre dès la sortie de l'hiver et pendant une grande partie de son cycle de développement. Ceci à une conséquence importante pour les études de génétique car face à la diversité des carences, il est probable qu'il existera aussi une diversité des réponses de la plante et des mécanismes de tolérance.

3. Quantification et caractérisation de la variabilité génétique pour l'utilisation de l'azote

Ainsi que le rappellent Gallais et Coque (2005), il est à la fois nécessaire de savoir s'il existe une variabilité génétique pour l'utilisation de l'azote à un niveau donné de fertilisation, mais aussi de savoir si ce sont les mêmes génotypes qui sont les plus efficaces quel que soit le niveau de fertilisation. On recherchera en priorité des génotypes tolérants, c'est à dire des génotypes dont le rendement et la teneur en protéines sont relativement moins diminués par une carence en azote.

Suivant Moll *et al* (1982), nous définissons l'efficacité d'utilisation de l'azote par la quantité de grain produit par unité d'azote disponible (Tableau 1). Nous avons estimé l'azote disponible au champ par le reliquat sortie hiver et les apports d'engrais. Nous avons ensuite décomposé l'efficacité d'utilisation en une efficacité d'absorption (N absorbé/N disponible), une efficacité de conversion (MS biomasse aérienne/N absorbé) et l'indice de récolte (MS grain / MS biomasse aérienne). Si on considère que l'azote disponible est le même pour l'ensemble des génotypes étudiés, le rendement en grain est directement proportionnel à l'efficacité d'utilisation et la quantité d'azote dans la plante à la maturité est proportionnelle à l'efficacité d'absorption. Une présentation de la méthode peut être trouvées dans Hirel et Lemaire (2003).

Tableau 1 : présentation des différentes efficacités (Moll et al 1982, Kichey et al 2007 [1.22])

Efficacité	Formule
Efficacité d'utilisation	Rendement / N disponible
Efficacité de conversion	Biomasse / N absorbé
Efficacité d'absorption	N absorbé / N disponible
Efficacité de remobilisation	N rémobilisé dans le grain / N floraison
Efficacité de translocation	N transloqué dans le grain / N absorbé post-floraison

Dans la suite du mémoire, j'aborderai, dans un premier temps, l'estimation de la variabilité génétique existante pour l'utilisation de l'azote chez le blé tendre, à la fois pour les lignées pures et pour les hybrides, et chez l'orge. Dans un deuxième temps, je

présenterai les études qui ont été réalisées pour caractériser les différences variétales observées entre lignées pures de blé tendre.

3.1. Quantification de la variabilité génétique

3.1.1. Estimation de la variabilité génétique de variétés de blé

Plusieurs études avaient déjà mis en évidence des différences génétiques pour la quantité d'azote absorbé (eg Löffler *et al* 1985; Van Sanford et MacKown, 1986; Fossati *et al* 1993) ou pour l'efficacité d'utilisation de l'azote (eg Cox *et al* 1985; Van Sanford et MacKown, 1987; Dhugga et Waines 1989; May *et al* 1991). Dans un premier temps, nous avons cherché à quantifier cette variabilité dans une série de vingt génotypes composée de matériels récent ou ancien cultivés en France (Le Gouis *et al* 2000 [1.9]). Nous avons montré qu'il existait une variabilité génétique pour l'efficacité d'utilisation de l'azote et pour ses composantes, l'efficacité d'absorption, l'efficacité de conversion et l'indice de récolte (**Figure 2**). Quel que soit le caractère et le niveau d'azote, il a été possible de trouver dans cet échantillon une variété récente plus performante qu'une variété ancienne. Il existe une corrélation positive entre les valeurs observées pour les deux doses d'azote (r=0.65** pour le rendement). Mais nous avons montré qu'il existait une interaction variété x traitement azoté significative pour ces variables à l'exception de l'efficacité de conversion. Si l'on excepte la variété ancienne Cappelle Desprez, les variétés les plus interactives sont Arche et Récital.

Utilisant une méthode proposée par Moll *et al* (1982), nous avons cherché à quantifier l'importance de chacune de ces composantes pour expliquer la variabilité de l'efficacité d'utilisation. Confirmant les résultats de Ortiz-Monasterio *et al* (1997), nous avons montré que c'est la variabilité pour l'efficacité d'absorption de l'azote qui explique majoritairement les différences d'efficacité d'utilisation quand le niveau d'azote diminue (Tableau 2) : 64% de la variation est expliquée par l'efficacité d'absorption à N⁰ et 71% par l'indice de récolte à N⁺. Les auteurs précédents n'ont pas cherché à caractériser l'interaction avec l'azote. Nous avons par contre étendu cette méthode de décomposition à l'interaction génotype x azote et montré que l'interaction pour l'utilisation de l'azote était aussi expliquée principalement par l'interaction pour l'efficacité d'absorption.

Tableau 2 : pour chaque niveau d'azote et pour l'interaction génotype x azote, contribution des composantes à la variation de l'efficacité d'utilisation de l'azote mesurée sur 20 variétés de blé cultivées deux ans (d'après Le Gouis *et al* 2000 [1.9])

	Component traits	N level [†]	Genotype x N level interaction	
		N^0	N^{+}	_
		0 kg N .ha ⁻¹	170 kg N .ha ⁻¹	
Log (NUEgdw)	Log (N uptake efficiency)	0.64	0.31	0.63
	Log (total N utilisation	0.15	-0.03	0.07
	efficiency)			
	Log (harvest index)	0.22	0.71	0.30

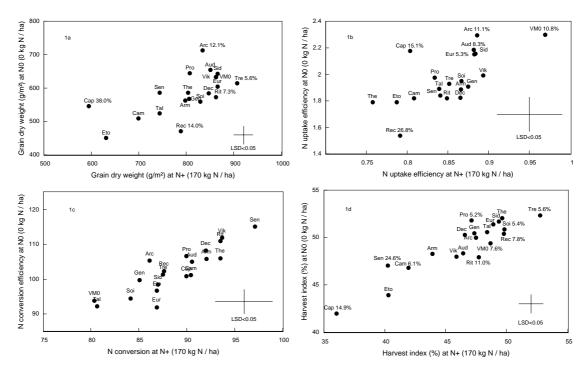


Figure 2 : rendement en grain (1a), efficacité d'absorption (1b), efficacité de conversion (1c) et indice de récolte (1d) de 20 variétés de blé cultivées deux ans à deux niveaux d'azote. La contribution de chaque génotype à l'interaction Génotype x Azote (ecovalence) est indiquée quand elle est supérieure à 5%. La liste des génotypes est donnée dans Le Gouis *et al* 2000 [1.9]. Les figures 1a, 1b et 1d sont issues de Le Gouis *et al* 2000 [1.9].

Nous avons repris récemment dans le cadre du projet FSOV 2004-2006 [1.6], la caractérisation d'une gamme de génotypes de blé tendre. L'idée est cette fois d'utiliser le modèle de fonctionnement de culture de blé Azodyn (Jeuffroy et Recous 1999) pour caractériser le comportement de variétés vis-à-vis d'une carence. La première étape a consisté à identifier une démarche pour estimer les valeurs des paramètres génotypiques d'Azodyn pour une gamme variétale d'une trentaine de génotypes (Herbain 2006). Les résultats préliminaires de la seconde étape, montrent une capacité prédictive du modèle pour la réaction à une carence (estimée par le ratio des rendements obtenus aux deux niveaux de fertilisation) dans la norme de ce qui est obtenu avec les modèles de fonctionnement des cultures (erreur moyenne de prédiction de l'ordre de 10%). Pour les génotypes bien simulés par le modèle, on pourra maintenant identifier les paramètres génotypiques expliquant principalement les différences.

3.1.2. Comparaison des deux types d'orge

Au début du projet, en parallèle avecle travail sur le blé, nous avons cherché à comparer l'efficacité d'utilisation de l'azote chez les deux types de variétés d'orge d'hiver différant par le nombre de rangs de l'épi (Le Gouis *et al* 1999 [1.6]). Comme chez le blé, nous avons montré que l'interaction avec le niveau d'azote était significative. En moyenne, à fort niveau d'azote, les 12 variétés à six rangs étudiées avaient un rendement supérieur de 4% aux 12 variétés à deux rangs. A faible niveau d'azote la différence était de 11%. A la floraison aucune différence entre les deux groupes n'était observée pour l'efficacité d'absorption ou l'efficacité de conversion de l'azote (Tableau 3 Le Gouis *et al* 1999 [1.6]). A la maturité, aucune différence à nouveau pour l'efficacité de conversion de l'azote et une seule différence significative pour l'efficacité d'absorption (la première

année à N⁰). La différence entre les deux groupes se situait au niveau de l'indice de récolte, plus fort pour les six rangs dans trois cas sur quatre. Ainsi, la différence de structure de l'épi associée à un déterminisme génétique simple (Gymer 1978), en augmentant le nombre de grains par m² des variétés à six rangs, se traduit par une meilleure utilisation de l'azote. L'écart est amplifié à faible niveau d'azote, car les deux rangs ont plus de difficulté à compenser la perte d'épis observée à faible niveau d'azote du fait de leur faible nombre potentiel de grains par épi.

3.1.3. Estimation de l'effet d'hétérosis chez le blé

A partir du milieu des années 1990, des variétés hybrides de blés ont été régulièrement inscrites en France. En micro-parcelles et à un niveau conventionnel en azote, l'hétérosis par rapport au meilleur parent est de l'ordre de +5% (Oury *et al* 1994 et références incluses). Dans une étude limitée à 10 hybrides étudiés une seule année (Le Gouis et Pluchard 1996 [3.2]), nous avions observé un hétérosis plus fort à faible niveau d'azote (+9.9%*) que celui observé à fort niveau d'azote (+1.1%^{ns}). Nous avons alors cherché à quantifier plus précisément l'hétérosis observé chez le blé pour déterminer si les blés hybrides pouvaient être une voie pour valoriser plus efficacement l'azote en situation limitante.

Un demi-diallèle 7x7 a été construit et l'ensemble constitué des sept parents et des 21 hybrides expérimenté à deux niveaux d'azote pendant deux ans (Le Gouis et al 2002 [1.10]). Un hétérosis parent moyen a été observé principalement la première année et sur les deux niveaux de fertilisation azotée pour les principaux caractères mesurés : rendement, rendement en azote, biomasse à la floraison et à la maturité, quantité d'azote absorbée à la floraison et à la maturité. A la floraison, le meilleur hybride était supérieur à la meilleure lignée pure pour la quantité d'azote absorbé, les deux années à faible niveau d'azote et la première année à fort niveau d'azote. A chaque fois, le parent tardif Renan était impliqué dans la meilleure combinaison hybride. La décomposition des effets génétiques en Aptitude Générale à la Combinaison (AGC) et Aptitude Spécifique à la Combinaison (ASC) nous a permis de mieux étudier les interactions avec le niveau d'azote. Les effets d'AGC étaient beaucoup plus forts que les effets d'ASC. De plus, l'interaction avec le traitement azoté était significative pour 5 caractères sur 8 pour l'AGC et dans aucun cas pour l'ASC. Pour le rendement en grain, les valeurs d'AGC étaient positives pour Eurêka, Trémie et VM014 et négatives pour Récital et Thésée (Figure 3). L'interaction AGC x N était principalement causée par Récital qui montrait une AGC plus faible à N⁻ qu'à N⁺. Nous n'avons pas pu malheureusement tester la variété Arche dans ce dispositif, cette variété et les hybrides en découlant ayant subi des dégâts de froid la première année.

En conclusion, la voie hybride semble intéressante à faible niveau d'azote mais le choix des parents est déterminant du fait de l'interaction entre l'AGC et le traitement azoté.

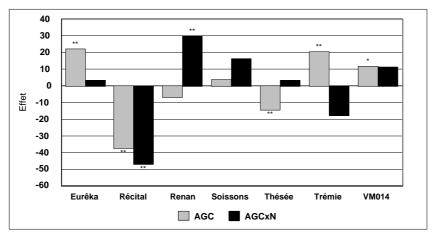


Figure 3 : valeur des AGC et des interactions AGC x N pour le rendement (g.m⁻²) de sept variétés de blé expérimentées deux années (1997-1998). (d'après Tableau 3 de Le Gouis *et al* 2002 [1.10])

3.2. Caractérisation des différences variétales

Nous avons montré précédemment avec une approche très globale que des différences variétales existaient pour l'utilisation de l'azote et pour la réponse à une carence. Des études comportant un nombre plus limité de variétés ont été conduites pour affiner la caractérisation génotypique. Les efforts se sont concentrés sur le blé tendre et les lignées pures, pour lesquelles les résultats étaient plus intéressants. Les deux variétés Arche et Récital, parce qu'elles ont montré la plus forte différence de comportement en interaction avec le niveau d'azote, ont été principalement utilisées. Elles ont été parfois associées à d'autres variétés choisies elles aussi pour leur comportement contrasté. Ces études ont été conduites en collaboration avec des agronomes (MH Jeuffroy, F Devienne-Barret) et des physiologistes (B Hirel, F Dubois).

3.2.1. Composantes du rendement

La décomposition du rendement en un nombre de grains par m² et un poids de mille grains (PMG) permet de mieux comprendre les différences variétales. Avec des variétés ayant un potentiel de rendement équivalent (Figure 4), nous avons pu observer des comportements en situation de carence très différents pour les composantes (Le Gouis *et al* 2000 [3.5]). Tout d'abord en ce qui concerne le nombre de grains par m²: Arche et VM014 perdent relativement peu de grains par rapport à Soissons et surtout à Récital. Ensuite pour le PMG: son accroissement compense partiellement la perte de grains pour Arche, de façon intermédiaire pour Récital et Soissons et très faiblement pour VM014. C'est cette faible compensation qui explique la chute de rendement en situation de carence pour cette lignée.

Juste et al (1997) ont proposé de relier la perte de nombre de grains à l'indice de nutrition azotée (INN). Cette analyse a permis de montrer que la chute du nombre de grains de Récital était plutôt causée par un fort niveau de carence plutôt que par une sensibilité à la carence de la mise en place du nombre de grains (Figure 5). En effet ses valeurs d'INN sont très faibles mais la variation de son nombre de grains en fonction de l'INN ne semble pas différent de celui des autres variétés. Par contre, Arche présente plutôt de forts INN, même à faible niveau d'azote. Entre les deux variétés Soissons et VM014, la situation semble différente puisque pour un même INN, l'indice de nombre de grains est systématiquement inférieur pour Soissons. Cette première analyse indiquait donc que la différence principale entre les deux variétés Arche et Récital était

le niveau de carence estimé par l'INN et donc probablement la capacité à absorber l'azote.

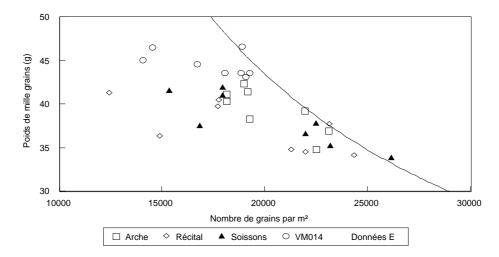


Figure 4 : relation entre le poids de mille grains et le nombre de grains pas m², pour quatre variétés de blé cultivées deux années à quatre niveaux de fertilisation azotée. La courbe d'iso-rendement tracée en pointillé joint les points ayant un rendement égal à 870 g.m². (Le Gouis *et al* 2000 [3.5])

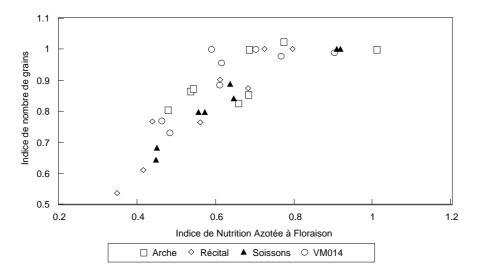


Figure 5 : relation entre l'indice de nombre de grains (nombre de grains pas m² d'un traitement / nombre de grains par m² maximal de la variété observé sur l'essai) et l'indice de nutrition azotée mesuré à la floraison pour quatre variétés de blé tendre. (Le Gouis *et al* 2000 [3.5])

Suivant la proposition de Hirel et Lemaire (2003), nous avons analysé la quantité d'azote absorbé en fonction de la production de biomasse (Figure 6). Cette analyse permet de décomposer la quantité d'azote absorbé en une composante liée à la production de biomasse et une autre liée à la capacité intrinsèque d'absorption de l'azote. On peut voir que Arche et Récital ont des comportements proches à fort niveau d'azote. La quantité d'azote absorbé un peu supérieure pour Arche est plutôt due à une plus forte biomasse dont une partie est expliquée par sa plus grande tardiveté. A faible niveau d'azote, Arche montre une plus grande quantité d'azote absorbé pour une même production de biomasse. On retrouve un décalage dans la production de biomasse qui doit en partie s'expliquer par la différence de précocité (environ une semaine) à la

floraison. Ces premiers résultats nous ont poussé à étudier plus en profondeur la capacité d'absorption de ces variétés.

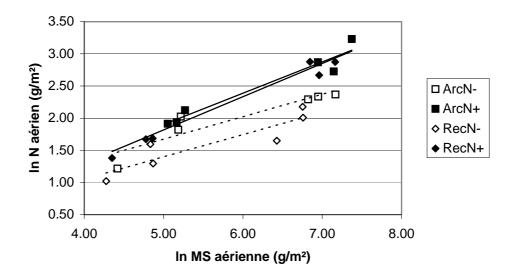


Figure 6 : relation entre la quantité d'azote absorbé et la matière sèche aérienne (en échelle logarithmique). Données issues de trois années d'essai à fort niveau d'azote (150-170 kg N .ha⁻¹) et à faible niveau d'azote (0-50 kg N .ha⁻¹) et des prélèvements aux stades épi à 1 cm et floraison.

3.2.2. Architecture et fonctionnement du système racinaire

Ces travaux ont fait l'objet d'une collaboration avec Florence Devienne-Barret alors qu'elle travaillait à l'unité d'Agronomie de Laon.

3.2.2.1. Architecture racinaire et capacité d'absorption en conditions contrôlées

Des expérimentations réalisées en conditions contrôlées et en hydroponie ont permis de caractériser l'absorption de l'azote par la capacité maximale d'absorption (Vmax) et l'architecture racinaire par le nombre et la longueur des ramifications (Gauthier 1999). Les variétés Arche, Récital et Soissons ont été testées à deux niveaux de fertilisation azotée : un niveau non carencé à 3,0 mM (N⁺) et un niveau fortement carencé à 0,5 mM (N⁻). Un suivi non destructif du nombre et de la longueur des racines a été pratiqué pendant les 14 premiers jours après repiquage. Des prélèvements ont ensuite été effectués huit et dix semaines après le repiquage soit environ aux stades mimontaison et fin montaison. Il est a noter qu'un décalage de stade entre les variétés, de Récital la plus précoce à Arche la plus tardive, rend parfois difficile les interprétations.

Dans les deux conditions, Arche développe initialement moins de racines primaires que les deux autres variétés. Cependant, en situation de carence, Arche maintient plus longtemps la vitesse d'émission des racines pour atteindre, 14 jours après le repiquage, un système racinaire aussi développé que celui de Récital et Soissons. Arche privilégie plutôt leur croissance en longueur, contrairement à Récital et Soissons, ce qui se traduit au final par une longueur racinaire totale identique pour les trois variétés. Enfin, Arche se caractérise par des racines relativement peu ramifiées dans les deux situations. Récital qui présente le plus fort taux de ramification en N⁺ montre la plus forte diminution en situation de carence (de 8,2 ramifications par racine à 1,6).

La mesure de la capacité maximale d'absorption du nitrate donne des informations sur le nombre de transporteurs mis en place par la plante et sur leur fonctionnement. La capacité d'absorption maximale diminue avec le stade de développement et en condition d'azote limitante (**Figure 7**). Dix semaines après repiquage, Arche possède une vitesse maximale d'absorption supérieure pour les deux niveaux d'azote. Soissons montre une capacité d'absorption faible à 0,5 mM.

Cette première étude a mis en évidence des comportements différenciés entre les trois variétés de blé en conditions contrôlées. L'hydroponie permet un accès relativement facile au système racinaire et un contrôle complet de la fertilisation azotée. Mais l'environnement racinaire est très différent de celui du champ, ce qui peut modifier fortement l'architecture et le fonctionnement des racines. Le passage à des études au champ nous a donc semblé indispensable pour avancer dans la caractérisation de la capacité d'absorption de l'azote.

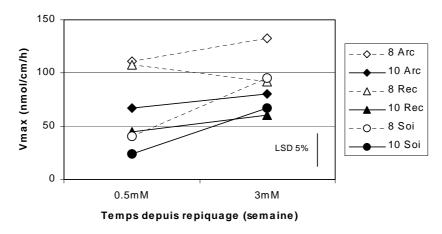
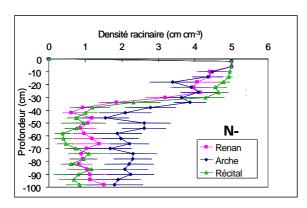


Figure 7 : capacité maximale d'absorption de l'azote (Vmax) en fonction de la dose d'azote pour trois variétés de blé expérimentées en hydroponie et prélevées 8 et 10 semaines après repiquage (d'après Gauthier 1999).

3.2.2.2. Profil racinaire et capacité d'absorption au champ

Les profils racinaires des variétés Arche, Récital et Renan ont été établis à Mons en 2002 à trois stades du cycle (épi à 1cm, 2 nœuds et floraison) et pour deux conditions de fertilisation azotée (N et N). Le dispositif expérimental pour décrire le profil racinaire consiste d'abord à creuser une fosse de 1,5 m de long et de 1,2 m de profondeur perpendiculaire au sens de semis. On dispose ensuite contre la paroi de la fosse entre 0 et 1 mètre de profondeur une grille formée de carrés de 2 cm de côté. Dans chaque carré, le nombre d'impacts de racine est évalué (0, 1 ou plus). Le comptage se fait sur 9 rangs, chacun étant considéré comme une répétition.

Les trois variétés présentaient des profils similaires à fort niveau d'azote. A faible niveau de fertilisation azotée, Arche présentait un système racinaire plus dense en profondeur (Figure 8). À la floraison, en condition d'azote limitante et à un mètre de profondeur, les racines d'Arche ont une densité supérieure à 2 cm.cm⁻³ de sol, alors que la densité des racines de Soissons et Récital sont de l'ordre de 1 cm.cm⁻³.



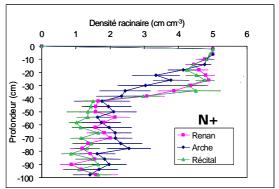


Figure 8 : profils racinaires des variétés Arche, Renan et Récital à deux niveaux de fertilisation azotée (50 et 140 kg N .ha⁻¹) au stade floraison (le 25 mai 2002). Les différences significatives sont les suivantes : Récital > Arche à N⁻ à -10, -15 et -20 cm, et Arche > Récital à N⁻ de -35 à -100 cm (Laperche 2006).

Lors de ces mêmes expérimentations, les vitesses d'absorption de l'azote ont été évaluées à chacun des stades (Figure 9). Un fort apport d'azote marqué (385 kg N .ha⁻¹) était suivi, huit jours plus tard, d'un prélèvement des parties aériennes. Quel que soit le niveau de fertilisation azotée, Arche avait une vitesse d'absorption supérieure à celle de Récital, ce qui concorde avec les résultats présentés précédemment en conditions contrôlées. Les différences les plus marquées entre Arche et Récital apparaissent au stade deux nœuds.

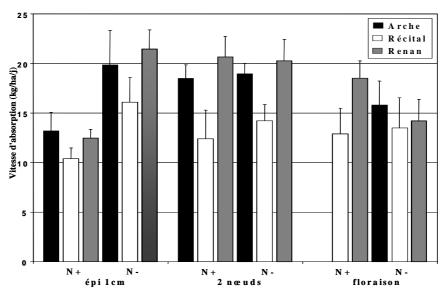


Figure 9 : vitesse d'absorption de l'azote au champs pour les variétés Arche, Récital et Renan, à trois stades et pour deux niveaux de fertilisation azotée. Les mesures de vitesse d'absorption ont été obtenues en apportant de l'azote marqué (N^{15}) huit jours avant le prélèvement. La donnée pour Arche N^+ à la floraison est manquante. (Laperche 2006)

3.2.3. Absorption et remobilisation de l'azote post-floraison

Ainsi que nous l'avons vu précédemment, il existe des différences variétales de quantité d'azote absorbé à la floraison, dont au moins une partie est indépendante de la date de floraison. L'objectif de cette partie était d'étudier le comportement des variétés pendant la phase post-floraison où va se dérouler à la fois une absorption d'azote et une remobilisation d'azote stocké dans les parties végétatives avant la floraison. On sait que

selon les milieux environ 60 à 95% de l'azote du grain provient de la remobilisation (Van Sanford et Mac Kown 1986; Palta et Fillery 1995; Barbottin *et al* 2005).

Le travail a été conduit dans le cadre d'une thèse financée par un programme régional IBFBio 2000-2004 [1.4]. L'absorption et la remobilisation post-floraison sont généralement estimées en faisant un bilan des matières sèches végétatives et totales à la floraison et à maturité. Cette méthode a l'inconvénient d'être peu répétable et suppose que tout l'azote absorbé en post-floraison sera transféré dans le grain (Gallais *et al* 2006a, Kichey *et al* 2007 [1.22]). Nous avons donc décidé d'utiliser une méthode de marquage à l'azote ¹⁵N en profitant des nombreuses discussions autour d'expérimentations semblables menées sur le maïs (Gallais *et al* 2006a, Gallais *et al* 2006b [1.25]). Nous avons ensuite évalué la variabilité présente pour plusieurs marqueurs physiologiques du métabolisme azoté (activités enzymatiques, teneurs en métabolites) et recherché des corrélations entre variables agronomiques et physiologiques.

Dans un premier temps, nous avons pu montrer que les estimations obtenues par la méthode du bilan et par le marquage ¹⁵N étaient similaires mais que l'utilisation d'engrais marqué à la floraison permettait une estimation plus répétable (Kichey et al 2007 [1.22]). Dans un deuxième temps, nous avons observé des différences significatives pour la quantité d'azote absorbé et la quantité d'azote remobilisé postfloraison (Tableau 3). Arche et Récital représentent les deux extrêmes, Arche remobilisant beaucoup d'azote et corrélativement en absorbant relativement peu après la floraison. L'interaction génotype x azote est significative pour les deux caractères et principalement causée par ces deux variétés. L'efficacité de remobilisation (N remobilisé / N floraison) est significativement différente entre variétés mais ne montre pas d'interaction avec l'azote (Tableau 2 dans Kichey et al 2007 [1.22]). En moyenne, 78.5% de l'azote présent à floraison est remobilisé dans le grain ce qui fait que 71.2% de l'azote du grain provient de la remobilisation. Nous avons aussi montré que seulement 91.5% de l'azote absorbé en post-floraison était transféré dans le grain (efficacité de translocation de l'azote, Tableau 1). Les différences entre variétés sont faibles (de 90.1 à 93.4%) mais significatives.

Tableau 3: absorption (Nabs), remobilisation (Nrem), efficacité de remobilisation (NRE) et efficacité de translocation (NTE) de l'azote post-floraison estimé par marquage ¹⁵N à la floraison pour cinq variétés de blé cultivées deux ans à deux niveaux de fertilisation azotée (Kichey *et al* 2006 [4.18])

	Arche		Récital		Renan		Shango		Soissons		LCD
	N ⁻	N^{+}	LSD								
Nrem (gm ⁻²)	7.74	13.77	5.98	9.51	6.74	11.16	6.31	11.08	6.99	11.09	0.82
Nabs (gm ⁻²)	3.52	3.81	3.13	5.57	3.60	4.54	3.03	3.39	3.92	5.42	1.09
NRE (%)	72.7	80.2	82.8	86.1	72.4	73.1	74.5	69.8	88.8	84.8	12.1
NTE (%)	92.8	91.6	91.7	90.1	93.4	93.4	90.3	89.7	91.7	90.6	1.1

Ainsi que montré par Barbottin *et al* (2005), le déterminant majeur de la quantité d'azote remobilisé vers le grain est la quantité d'azote présent à la floraison comme illustré sur l'expérimentation pratiquée à Mons (Figure 10). Ainsi que montré par Barbottin *et al* (2005), le déterminant majeur de la quantité d'azote remobilisé vers le grain est la quantité d'azote présent à la floraison comme illustré sur l'expérimentation pratiquée à Mons (Figure 10).

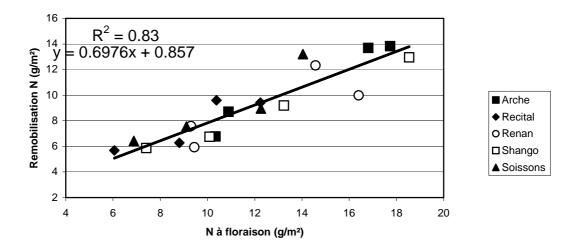


Figure 10 : relation entre l'azote remobilisé vers le grain (méthode ¹⁵N) et la quantité d'azote présent à la floraison dans les parties aériennes pour cinq variétés de blé expérimentées deux ans à deux niveaux de fertilisation azotée.

La mise en relation des différents caractères mesurés montre une corrélation significative entre la quantité d'azote remobilisé et le rendement en grain d'une part et entre la quantité d'azote remobilisé et l'activité de la Glutamine Synthétase (GS) d'autre part (Figure 11). Cette relation a déjà été mise en évidence chez le maïs (Hirel *et al* 2005) où il a été démontré que les différentes formes de la GS jouent un rôle déterminant dans la formation du nombre de grains de l'épi et dans la taille du grain (Martin *et al* 2006). Chez le blé, il n'est pas encore certain qu'une telle relation fonctionnelle existe. En effet, même si le nombre de grains est bien la composante du rendement la plus affectée par une carence en azote, cette action se fait principalement au travers du nombre d'épis par plante et du nombre de grains par épi. Cette corrélation pourrait aussi refléter la corrélation entre la quantité d'azote floraison, la biomasse aérienne et le nombre de grains formés.

Il existe aussi une corrélation entre la quantité d'azote absorbé et la teneur en protéines du grain d'une part et, mais elle est plus faible si on considère chacun des niveaux d'azote, entre la quantité d'azote absorbé et l'activité de la nitrate réductase d'autre part (Figure 11). Cela donne une première indication sur l'importance de l'absorption de l'azote post-floraison dans le déterminisme génétique de la teneur en protéines du grain.

Dans le même cadre, nous avons montré que la feuille étendard pouvait être un bon indicateur de l'activité de la plante entière (Kichey *et al* 2005 [1.19]) après la floraison : la corrélation entre la teneur en azote et l'activité GS mesurées au niveau de la plante et ces mêmes caractères mesurés au niveau de la dernière feuille est de r=0.91 (Figure 6 dans Kichey *et al* 2005 [1.19]). La corrélation est encore plus élevée si c'est le premier étage (feuille étendard + dernier entrenœud) qui est considéré (r>0.97).

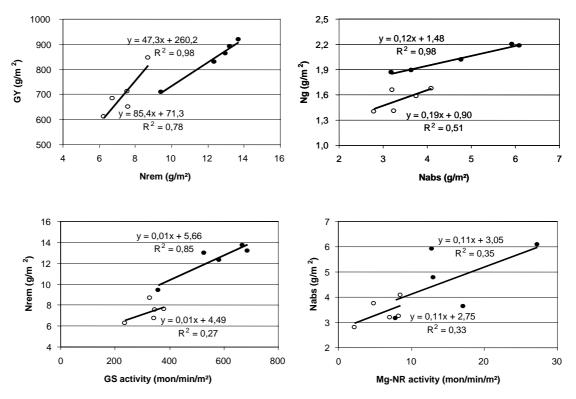


Figure 11 : relation entre la quantité d'azote remobilisé (Nrem), le rendement en grain (GY) et l'activité de la Glutamine Synthétase (GS) d'une part et entre la quantité d'azote absorbé après la floraison (Nabs), la teneur en azote du grain (Ng) et l'activité de la Nitrate Réductase (Nr) d'autre part pour cinq variétés de blé cultivées deux ans à deux niveaux de fertilisation azotée (d'après Kichey *et al* 2007 [1.22]).

3.2.4. Composantes de la précocité

En parallèle avec ces études, nous avons entrepris la caractérisation du rythme de développement des variétés Arche et Récital. Initié par Michel Rousset, ce travail a été poursuivi par Eric Hanocq. Le rythme de développement peut en effet interagir au moins à trois niveaux avec la tolérance à une carence en azote :

- la précocité va jouer sur la quantité d'azote absorbé à la floraison et donc sur la quantité d'azote qui pourra être remobilisée;
- la précocité va interagir avec la fourniture en azote du sol (reliquat, minéralisation), ou même avec les apports d'azote si ceux-ci sont faits à la même date (ce qui est le cas dans la quasi-totalité des essais variétaux), et se traduire par des carences se situant à des stades différents en fonction des variétés.
- on peut aussi supposer que les besoins en vernalisation ou la sensibilité à la photopériode vont pouvoir bloquer le développement d'une variété si les seuils ne sont pas atteints et donc interagir avec sa capacité à absorber et valoriser l'azote.

Les composantes de la précocité des variétés Arche et Récital ont été déterminées en utilisant des semis décalés de plantes vernalisées ou non vernalisées (Hanocq *et al* 2003 [3.8]). La sensibilité à la photopériode est estimée soit par la date d'épiaison pour un semis d'octobre pour lequel les besoins en vernalisation sont satisfaits, soit grâce à un dispositif en serre qui permet de tester les plantes vernalisées à deux photopériodes (9h00 et 24h00). Les besoins en vernalisation sont estimés en comparant des semis en mai de plantes vernalisées et non vernalisées ou en utilisant un

semis du mois de mars permettant un niveau de vernalisation intermédiaire. Enfin la précocité intrinsèque est estimées par le repiquage de jeunes plantes vernalisées soit au champ en mai soit en serre avec 24h00 de jour.

Il résulte de cette étude que Arche et Récital présentent des composantes du rythme de développement contrastées (Hanocq *et al* 2003 [3.8]): Arche est un type printemps, sensible à la photopériode et de précocité intrinsèque moyenne; Récital est de type hiver, insensible à la photopériode et de précocité intrinsèque semblable à celle d'Arche. Ceci explique que Arche soit plus tardif à l'épiaison que Récital (environ une semaine) et que les classements varient au stade épi à 1cm même si Récital est généralement plus précoce.

3.3. Conclusions

L'ensemble de ces travaux nous a permis d'identifier une variabilité génétique pour l'utilisation de l'azote et de montrer l'existence d'une interaction génotype x azote. La capacité à absorber l'azote est ressortie comme le caractère principal expliquant à la fois l'utilisation de l'azote en situation limitante et l'interaction génotype x azote.

Nous avons choisi de poursuivre l'approche génétique avec les deux variétés Arche et Récital qui montrent des comportements extrêmes dans la série variétale que nous avons testée (**Figure 2**). Les études ultérieures ont montré qu'elle différaient par un ensemble de caractères liés en particulier à la capacité d'absorption de l'azote. Arche possède une plus forte capacité d'absorption de l'azote pour une même production de biomasse qui pourrait être reliée au développement d'un système racinaire plus dense en profondeur. Arche et Récital sont aussi très différentes pour les composantes du rythme de développement ce qui peut influencer leur niveau de tolérance.

4. Approche du déterminisme génétique

La détection des régions chromosomiques contrôlant la variation de caractères quantitatifs (QTL) a été rendue possible à la fin des années 80 grâce à la mise au point des marqueurs moléculaires (Paterson *et al* 1988). Cette approche repose sur l'association de données phénotypiques et de données génotypiques sur une population d'individus en déséquilibre de liaison. Les données phénotypiques sont constituées par la mesure des caractères d'intérêt et les données génotypiques par la détermination des allèles pour chacun des marqueurs moléculaires.

La population Arche x Récital (population "ARE") a été créée au milieu des années 90 par haplo-diploïdisation sur la première génération issue du croisement. La production des lignées haploïdes doublées (HD) a été réalisée en partie à l'INRA du Moulon (P. Brabant) et à la station Hybrinova de Pouy-Roquelaure (C. Quandalle). Le génotypage a été réalisé par l'INRA de Clermont (G. Charmet), l'INRA de Rennes (F.Dedryver) et le laboratoire de Biogemma les Cézeaux (P. Dufour) dans le cadre du projet Génoplante CP2P1 1999-2001 [1.3]. Au total, 241 lignées ont été obtenues et ont servi à la construction de la carte génétique dont les détails sont donnés par Laperche (2006).

Les travaux sur cette population ont été conduits dans le cadre de la thèse d'Anne Laperche que j'ai co-encadrée avec Florence Devienne-Barret (EGC Grignon).

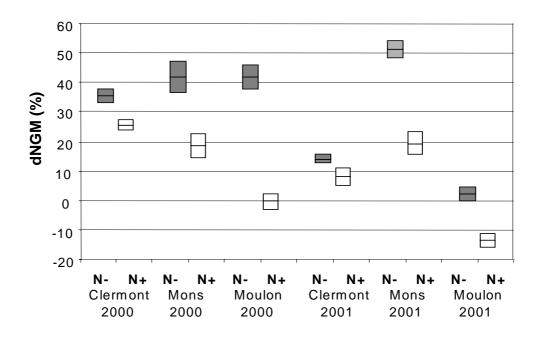


Figure 12 : moyenne et étendue de la déviation du nombre de grains (écart au nombre de grains seuil) mesurée sur quatre génotypes révélateurs (d'après Laperche *et al* 2006 [1.20]). Plus la déviation du nombre de grains (dNGM) est forte, plus l'environnement est stressé.

4.1. Quantification de la carence azotée au champ

Au départ du projet, il a été décidé de tester la population ARE à deux niveaux de fertilisation azotée pour permettre d'estimer la tolérance à une carence de chacune des lignées. Les expérimentations ont été menées pendant deux ans sur quatre lieux pour balayer une large gamme de milieux (un milieu = combinaison d'un lieu, d'une année et d'un traitement azoté). Une forte différence entre les deux apports a été choisie pour assurer une carence importante qui permette de mettre en évidence des différences de réponse entre les lignées. L'écart entre les deux doses s'étale de 60 à 144 kg N .ha⁻¹ (Tableau 1 dans Laperche *et al* 2006 [1.20]). Le problème de ce type d'expérimentation multilocale réside dans la difficulté d'interpréter l'ensemble des résultats en l'absence d'une caractérisation précise du niveau des facteurs limitants ressenti par les lignées et en particulier de l'intensité du stress azoté.

Pour réaliser cette caractérisation du milieu, il avait été décidé d'implanter des génotypes révélateurs selon la méthodologie développée par Maryse Brancourt (Brancourt-Hulmel 1999). Pour chacun de ces génotypes, constitués dans cette étude par les deux parents et deux variétés témoins, il est nécessaire de connaître les paramètres de la courbe enveloppe qui relie le poids de mille grains (PMG) au nombre de grains pas m². On peut ensuite calculer les déviations entre le nombre de grains et le PMG mesurés dans le milieu et les valeurs de référence de la courbe enveloppe. Ces valeurs sont utilisées pour caractériser les périodes pré-floraison et post-floraison respectivement (Brancourt-Hulmel *et al* 1999). Utilisées en régression multiple avec des indicateurs pédo-climatiques, nutritionnels ou épidémiologiques, elles permettent d'identifier les principaux facteurs limitants du milieu.

Sur les trois lieux sur lesquels les génotypes révélateurs ont été suivis (Figure 12), la déviation du nombre de grains va de -12% pour le Moulon N^+ en 2001 (milieu

peu stressé) à +52% pour Mons N⁻ en 2001. L'écart entre les deux traitements azotés est très variable puisqu'il s'échelonne de quelques pour-cent à Clermont en 2001 à plus de 40% au Moulon en 2001. Pour trois des génotypes révélateurs sur quatre, l'indicateur expliquant le mieux la déviation du nombre de grains est l'INN mesuré à la floraison (Tableau 2 dans Laperche *et al* 2006 [1.20]). Pour la variété Récital, il explique 83% de la déviation du nombre de grains. Nous avons donc décidé d'utiliser comme indice de stress la quantité [1-min(1,INN floraison de Récital)]. Sur l'ensemble des essais, cet indice va de 0 à 0.63 (Laperche *et al* 2005 [4.17]).

Cette approche a l'avantage de caractériser le milieu par un indice directement relié au stress qui nous intéresse, à la différence par exemple du rendement moyen du milieu utilisé en régression conjointe, qui peut dépendre de nombreux facteurs. Cet indice est ensuite relativement facile à mesurer sur les génotypes révélateurs. Par contre, il ne s'agit pas d'un indice absolu mais d'un indice qui dépend de la variété utilisée, un témoin sensible au stress azoté dans ce cas. L'INN à la floraison est un bon indicateur d'une carence dans le cas de traitement azoté relativement simple, mais il peut par contre mal révéler la carence subie par une culture en cas d'apport tardif (Jeuffroy et Bouchard 1999).

4.2. Estimations des héritabilités et de l'interaction génotype x milieu

L'héritabilité d'un caractère correspond à la part de la variation totale qui est due aux génotypes. Elle permet d'apprécier la facilité avec laquelle le caractère pourra être sélectionné mais aussi la possibilité d'identifier des régions chromosomiques par une approche QTL. Généralement, on observe des héritabilités plus élevées dans les milieux non stressés que dans les milieux comportant une contrainte (Bänziger *et al* 1997; Bertin et Gallais 2000). Cela a été confirmé chez le blé, où nous avons montré avec du matériel en sélection que cette diminution d'héritabilité était due à une augmentation de la variance environnementale et une décroissance de la variance génétique (Brancourt-Hulmel *et al* 2005 [1.17]).

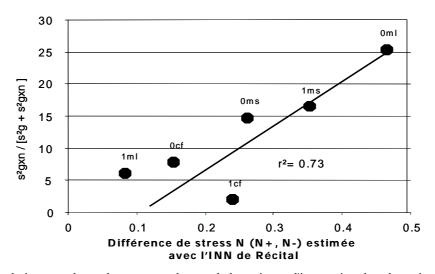


Figure 13 : relation pour le rendement entre la part de la variance d'interaction dans la variance génétique totale et la différence de stress entre les deux traitements azotés d'une même expérimentation (0=2000, 1=2001, ms = Mons, ml = Le Moulon, cf = Clermont-Ferrand) de la population ARE (d'après Laperche *et al* 2005 [4.17])

Nous avons pu observer qu'avec la population ARE, l'héritabilité était de même plus faible quand la fertilisation était limitante (Tableau 4 Laperche *et al* 2006 [1.20]). La corrélation entre l'héritabilité et l'indice de stress est généralement négative et due à une baisse de la variabilité génétique. Nous avons aussi pu montrer que la part de l'interaction génotype x milieu dans la variance génotypique totale (variance génétique + variance d'interaction) augmentait quand la différence de stress entre les deux traitements d'un même lieu et d'une même année augmentait (Figure 13). Ainsi pour le rendement en grain, la variance d'interaction représente environ 5% de la variance génétique totale au Moulon en 2001 et près de 25% au Moulon en 2000.

4.3. Caractérisation du niveau de tolérance des lignées

Pour évaluer le niveau de tolérance des lignées de la population ARE, nous avons utilisé deux valeurs issues de la régression factorielle utilisant l'indice de stress comme régresseur. La sensibilité au stress azoté est estimée par la pente de la régression. Nous avons choisi d'évaluer la performance à faible niveau d'azote en considérant la valeur prédite par la régression pour un INN de 0.5 qui correspond dans notre expérimentation à une baisse de rendement de l'ordre de 30% par rapport au traitement N⁺. Cette méthode a l'avantage de comparer les lignées à un même niveau de stress. La population se montre très variable pour le niveau de tolérance avec des lignées possédant à la fois une faible réaction au stress et un rendement élevé pour un INN de 0.5 (Figure 14)

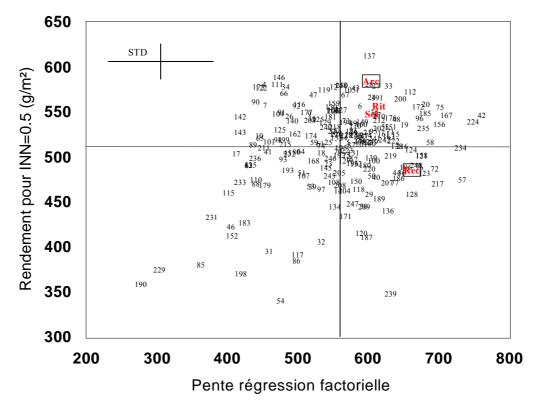


Figure 14 : relation entre la pente de la régression factorielle du rendement sur l'indice de stress calculé à partir de l'INN floraison de Récital et le rendement pour un INN de 0.5 pour l'ensemble des lignées et les quatre témoins (d'après Laperche *et al* 2006 [1.20]).

Pour aller un peu plus loin dans la caractérisation des lignées, nous avons corrélé la pente de la régression factorielle et le rendement pour un INN de 0.5 avec trois

caractéristiques génotypiques des lignées. Pour le rendement en grain, des corrélations positives et significatives (de l'ordre de 0.2-0.3) ont été trouvées entre le rendement pour un INN de 0.5 et la hauteur des lignées, la date d'épiaison et le PMGmax (PMG maximum observé pour de faibles nombres de grains). Les lignées plus tardives et plus hautes sont en moyennes plus productives à faible niveau d'azote. On peut penser à une meilleure capacité à stocker l'azote et à profiter de la minéralisation avant la floraison. La liaison avec le PMGmax renvoie au paragraphe 3.2.1 où il avait été mis en évidence que la capacité à compenser une baisse du nombre de grains par une augmentation du PMG pouvait expliquer une partie de la tolérance au stress (Le Gouis *et al* 1998 [3.5]).

4.4. Détection de QTL pour des caractères liés à la valorisation de l'azote mesurés au champ

L'ensemble des variables mesurées et les différents essais conduits pendant deux ans en quatre lieux et à deux niveaux de nutrition azotée constitue une très riche base de données. Différentes méthodes ont été choisies durant la thèse pour avoir une approche de l'utilisation de l'azote et de la réponse à une carence (Laperche 2006) :

- analyse milieu par milieu et comparaison des QTL détectés à chacun des niveaux de fertilisation azotée
- analyse pour chaque combinaison lieu x année du rapport et de la différence entre les rendements obtenus à fort et faible niveaux d'azote pour avoir une première approche de la sensibilité à une carence
- analyse des paramètres de la régression factorielle sur l'INN floraison de Récital.

Globalement pour les 14 milieux considérés, 67 QTL ont été détectés à fort niveau d'azote et 51 à faible niveau (Laperche *et al* 2006 [1.24]). Pour les sept combinaisons lieu x année, 85 QTL ont été détectés pour les variables d'interaction (N⁺ - N⁻) et (N⁻/N⁺). 30 QTL ont ensuite été obtenus pour les paramètres de la régression factorielle, c'est-à-dire la pente de la régression, l'ordonnée pour une valeur de 0.5 de l'INN floraison de Récital et le coefficient de détermination. En considérant l'ensemble des détections, un total de 233 QTL a été détecté sur l'ensemble des groupes de liaison. La part de la variance phénotypique expliquée par un QTL variait de 3.0% à 33.0%, les plus fortes valeurs étant observées sur les groupes de liaison 4B et 2D1. Les deux parents apportent des allèles favorables, mais la meilleure tolérance à une carence en azote de la variété Arche est confirmée car Arche apporte l'allèle favorable dans 31 cas à N⁻ et 28 cas à N⁺ alors que Récital apporte l'allèle favorable seulement dans 13 cas à N⁻ et 27 cas à N⁺.

Treize loci ont été détectés à la fois en N⁺ et en N⁻ et sont localisés sur les groupes de liaison 2A1, 2A2, 2D1, 3D, 4B, 5A1, 5B, 5D et 7B2 (Laperche *et al* 2006 [1.24]). Des QTL N⁺-spécifiques sont observés sur les groupes 1A2, 3A, 3B, 5A1, 5A2, 6A et 7A1 et des QTL N⁻-spécifiques sur les groupes 1B, 2B1, 2B2, 5B et 7B1.

Parmi l'ensemble de ces régions, on peut en faire ressortir particulièrement cinq :

• 1B : cette région regroupe des QTL pour le PMG et le rendement en azote observés uniquement à faible niveau d'azote. On y retrouve aussi un QTL pour l'azote total à maturité et le rendement en azote estimés pour un INN de 0.5 après régression factorielle sur l'INN floraison de Récital. Dans tous les cas, l'allèle favorable est apporté par la variété Arche. Le marqueur le plus proche

de cette région est le marqueur spécifique du facteur de transcription SPA (Storage Protein Activator) qui a été proposé comme gène candidat pour expliquer des différences de teneurs en protéines (sous-unité x de Glu-B1) dans le croisement Récital x Renan (Guillaumie et al 2004) mais qui a été ensuite invalidé par génétique d'association (Ravel et al 2006).

- 3B : contrairement à la précédente, cette région regroupe des QTL spécifiques du fort niveau d'azote. On y retrouve particulièrement des QTL pour la quantité d'azote absorbé à la floraison et pour la quantité d'azote remobilisé dont l'allèle favorable est apporté par la variété Arche. On trouve aussi un QTL d'azote absorbé après la floraison dont l'allèle favorable est apporté par Récital, ce qui confirme la corrélation négative entre absorption pré-floraison et post-floraison souvent décrite. On retrouve dans cette région des QTL d'interaction pour le nombre de grains pas m², le rendement en azote et l'azote total à la maturité. Plusieurs QTL de taille de la plante sont aussi détectés dans cette région qui semble différente de la région du chromosome 3BS qui contient le gène de nanisme Rht5 (Ellis et al 2005).
- 2D : de nombreux QTL pour plusieurs caractères sont détectés sur le groupe de liaison 2D1. L'allèle apporté par Arche augmente en moyenne le nombre de grains par m² et l'azote total absorbé à maturité. L'allèle apporté par Récital augmente de son côté l'indice de récolte de l'azote et la teneur en protéines du grain. De nombreux QTL d'interaction sont identifiés dans cette région. Le gène candidat le plus probable est le gène de sensibilité à la photopériode Ppd-D1. Il est localisé sur le chromosome 2D (Worland 1996) dans la même région, ainsi que l'a montré l'analyse QTL de la population Récital x Renan (Hanocq et al 2004 [1.13]). Arche possède l'allèle de sensibilité à la photopériode qui entraîne en moyenne près de 10 jours de retard à l'épiaison. Il est toutefois difficile de séparer dans l'effet de ce locus ce qui pourrait provenir d'un effet pléïotropique du gène et d'une interaction avec les conditions de milieux (azote disponible, température, ...) qui sont changées par le décalage de floraison.
- 4B : le plus grand nombre de QTL sont détectés sur le chromosome 4B (Tableau 1 dans Laperche et al 2006 [1.24]). L'ensemble des caractères mesurés sont influencés et les effets d'interaction sont très forts. Le gène candidat dans cette région est le gène Rht-B1 qui entraîne un nanisme par insensibilité à la gibbérelline. L'allèle de nanisme apporté par Récital augmente en moyenne le nombre de grains par m² et le rendement. Cet allèle augmente aussi la sensibilité à la carence estimée par la pente de la régression factorielle du nombre de grains par m² sur l'INN floraison de Récital. En fait, on observe que l'avantage lié à la l'allèle de nanisme a tendance à diminuer quand l'intensité du stress augmente (Figure 15). Les notations de verse montrent que même si en moyenne la verse est plus faible pour les plantes courtes, ce n'est pas l'explication majeure des différences observées. Miralles et al (1998) ont montré que les lignées naines produisaient plus de grains par épillet que les lignées hautes en relation avec une distribution plus favorable des assimilats.

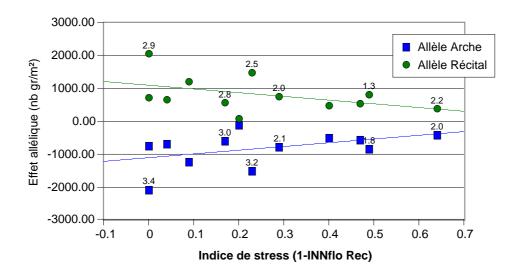


Figure 15 : évolution des effets alléliques pour le nombre de grains par m^2 au niveau du marqueur spécifique du gène de nanisme Rht-B1. Les valeurs moyennes de verse (de 1 = absence de verse à 9 = verse complète) sont indiquées au dessus des points quand celle-ci est intervenue dans les essais.

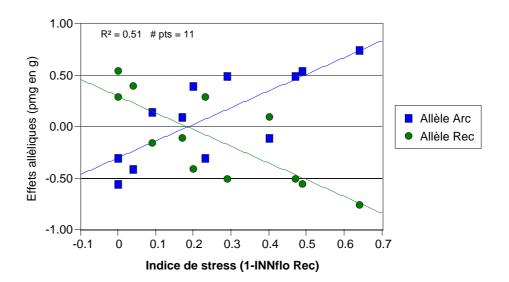


Figure 16 : évolution des effets alléliques pour le poids de mille grains au niveau du gène d'aristation B1 (d'après Laperche *et al* 2006 [1.24]).

• 5A2 : plusieurs QTL d'interaction pour le poids de mille grains ont été détectés dans une région du chromosome 5A. Le gène candidat probable est le gène d'aristation B1 qui contrôle la présence d'une barbe en prolongement de la nervure centrale de la glumelle inférieure de chaque fleur. La mise en relation des effets alléliques avec l'intensité du stress azoté montre une inversion des allèles favorables (**Figure 16**). L'allèle provenant de Arche qui donne des épis barbus entraîne un poids de mille grains supérieur à faible niveau d'azote. C'est le contraire à fort niveau d'azote où l'allèle apporté par Récital qui donne des épis non barbus entraîne un poids de mille grains supérieur. Il a été montré que les barbes augmentaient l'activité photosynthétique de l'épi (Motzo et Giunta 2002), ce qui peut être un avantage à faible niveau d'azote où l'offre en assimilats peut être limitante. L'avantage d'un épi non barbu à fort niveau d'azote semble plus difficile à expliquer : une hypothèse pourrait être une compétition

entre le développement des barbes et celui des grains ou des fleurs à un stade très précoce qui limiterait la taille potentielle du grain.

4.5. Détection de QTL pour des caractères d'architecture racinaire et des paramètres d'un modèle simplifié de fonctionnement

Deux idées soutenaient ce projet de caractérisation des lignées en rhizotron. La première, comme nous l'avons déjà dit est qu'une partie des écarts de comportement entre Arche et Récital provient de leur différence de capacité à absorber l'azote. Le travail en rhizotron à l'avantage de permettre une description non destructive de l'architecture racinaire et d'avoir accès à des caractères architecturaux difficiles à mesurer autrement (taux de ramification par exemple). Plusieurs études ont montré une bonne correspondance entre les caractéristiques du système racinaire mesurées au champ et en conditions contrôlées (Mian et al 1994, Landi et al 2002). Deux des principales limites concernent les contraintes de place et de durée. Nous avons choisi de ne tester qu'une partie des lignées de la population et de ne le faire qu'à une seule dose d'azote. Comme nous disposions de l'information sur le génotype de l'ensemble des lignées, le choix d'un sous-échantillon de 120 lignées (taille maximale gérable dans le cadre de la thèse) a été réalisé grâce au logiciel MapPop (Vision et al 2000) qui permet de choisir les individus optimisant le nombre et la distribution des recombinaisons. Cette méthode accroît en théorie la précision de la détection des QTL (Jannink 2005) et il a été montré qu'elle était plus efficace qu'un échantillonnage aléatoire pour des effectifs supérieurs à 100 (Vales et al 2005).

Nous avons choisi de ne tester les lignées qu'à faible dose d'azote car c'était pour nous le niveau le plus informatif. Cela empêchait par contre *a priori* toute caractérisation de la réponse des lignées à une carence et une réelle estimation des interactions génotype x milieu (sauf à considérer un potentiel de croissance identique en azote non limitant, ce qui n'est pas réaliste). La deuxième limite concerne la durée de l'expérimentation qui est contrainte par la vitesse de croissance du système racinaire dans un milieu sans résistance mécanique (pour la description du rhizotron, voir la Figure 2 dans Laperche *et al* 2006b [1.21]). Au bout d'une vingtaine de jours, les racines atteignaient l'extrémité des rhizotrons disponibles à Grignon.

La deuxième idée était qu'analyser les résultats en se servant du cadre d'un modèle simplifié du fonctionnement de la plante permettrait de mieux comprendre les différences entre les lignées. La pertinence de l'utilisation de modèles écophysiologiques plus complexes pour la détection de QTL a déjà été montrée (Quilot et al 2004, 2005; Reymond et al 2004, Tardieu et al 2005). Les principaux avantages sont la détection de QTL sur des paramètres de modèle qui sont moins dépendants des conditions environnementales, la possibilité de déduire une cause physiologique par la co-localisation entre QTL pour les paramètres du modèle et les caractères d'intérêt, et la possibilité de prédire le comportement de combinaisons alléliques non présentes dans la population de départ.

Un modèle simplifié d'analyse a été construit sur la base des travaux conduits sur Arabidopsis à EGC Grignon par l'équipe de Bertrand Ney (Figure 17). Ce modèle décrit les relations entre des variables d'état (surface foliaire, matières sèches totale et racinaire, longueur racinaire et quantité d'azote totale) par l'intermédiaire de paramètres (efficacités de conversion, d'utilisation du rayonnement, ...). Ce modèle, paramétré sur

le prélèvement en fin d'expérimentation en rhizotron, à l'exception des mesures de longueurs racinaires, considère que les valeurs des paramètres sont stables pendant les trois semaines de culture.

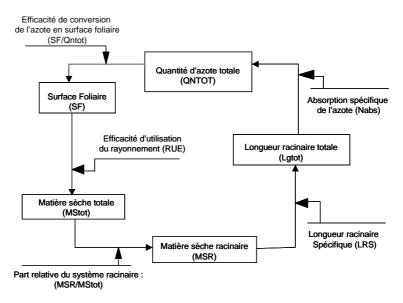


Figure 17 : représentation schématique du modèle simplifié de fonctionnement de la plante (d'après Laperche *et al* 2006b [1.21])

L'étude des relations entre les variables d'état montre de fortes corrélations entre la surface foliaire et la matière sèche totale, entre la matière sèche totale et la matière sèche racinaire, entre la matière sèche racinaire et la longueur racinaire totale, et entre la quantité d'azote et la surface foliaire (corrélations de 0.87 à 0.92). La relation est plus lâche entre la longueur racinaire totale et la quantité d'azote totale (Figure 18). Il existe toutefois une variabilité génétique significative pour chacun des paramètres du modèle.

La détection de QTL sur les variables d'état, les paramètres du modèle et les caractères descriptifs de l'architecture racinaire ont permis d'identifier 32 QTL répartis sur 12 chromosomes (Tableau 6 dans Laperche *et al* 2006b [1.21]). Les chromosomes 2B et 4B regroupent plus de la moitié des QTL. Globalement, on remarque une faible superposition des QTL détectés pour les variables d'état et les paramètres du modèle avec seulement des co-localisations sur les chromosomes 2B et 6B. Cette approche a ainsi permis de détecter des régions qui n'auraient pas été mises en évidence en n'observant que les variables d'état. L'absorption spécifique est le seul paramètre du modèle pour lequel deux QTL avec des effets favorables parentaux opposés ont été détectés. Cela peut expliquer la plus grande variation observée dans la population pour ce paramètre.

On peut probablement expliquer la faible correspondance entre variables d'état et paramètres par la faible taille de la population qui n'a permis de détecter que les plus forts QTL. D'autre part l'hypothèse de la stabilité sur la durée de l'expérimentation des valeurs de certains paramètres peut être fausse.

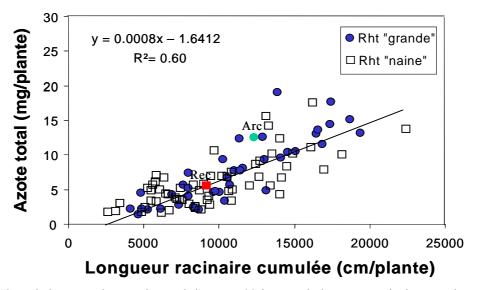


Figure 18 : relation entre la quantité total d'azote à 22 jours et la longueur racinaire cumulée mesurées sur 120 lignées HD et les deux parents Arche et Récital en rhizotron à faible niveau d'azote (d'après Laperche *et al* 2006b [1.21])

La confrontation des QTL observés au champ et en conditions contrôlées n'a pas été complètement formalisée. En première analyse, on observe toutefois des colocalisations pour les chromosomes 1B, 2D, 4B et 5A.

5. Identification de gènes candidats

Une fois que des QTL ont été identifiés, deux voies peuvent être suivies. La première consiste à affiner la détection en rajoutant des marqueurs, en augmentant les effectifs ou en préparant du matériel isogénique, tout cela dans l'espoir de réduire l'intervalle de confiance du QTL. Parallèlement, on peut rechercher des gènes qui pourraient être candidats à l'explication des QTL, soit par une approche *a priori* sur des gènes dont on peut penser qu'ils interviennent dans le caractère qui nous intéresse, soit par une approche sans *a priori* où on va rechercher des gènes situés dans l'intervalle de confiance du QTL et/ou montrant une d'expression différentielle pour le stress qui nous intéresse.

5.1. Cartographie de gènes du métabolisme azoté

Il existe plusieurs techniques de cartographie de gènes, qui sont toutes rendues plus difficiles par la structure hexaploïde du blé. Un très gros projet de cartographie de gènes par hybridation d'EST (Expressed Sequenced Tag) sur des lignées de délétion a été lancé aux USA (Qi *et al* 2004 et articles associés). Un peu plus de 7000 EST avec une moyenne de 2.8 loci/EST ont été cartographiées dans environ 130 bins de délétion représentant une distance de 10 à 40 cM. Un projet semblable de cartographie, mais de taille plus modeste, a été développé dans GénoPlante.

En parallèle, nous avons décidé de développer une approche plus longue mais *a priori* plus précise. Ce travail a été réalisé par Nathalie Nicot, Karine Mondon puis Murielle Boisson dans le cadre d'un contrat ingénieur CDD GénoPlante. L'objectif était de définir des marqueurs PCR spécifiques à la fois du gène d'intérêt mais aussi du groupe d'homéologie. Nous avons sélectionné les gènes de la voie d'assimilation primaire du nitrate. La cartographie se déroulait en plusieurs étapes (Boisson *et al* 2005 [1.16]): (1) définition d'amorces spécifiques du gène en se basant sur les séquences existantes dans les bases de données pour le blé ou d'autres espèces; (2) amplification du gène chez le blé tendre et les espèces ancêtres (*T. monoccocum*, *T. speltoides*, *T. tauschii*), clonage et séquençage; (3) alignement des séquences pour identifier chacune des copies homéologues du blé tendre; (4) si possible, définition d'amorces spécifiques du génome et cartographie sur les lignées de délétion; (5) si possible, cartographie génétique en utilisant des amorces spécifiques d'un SNP (Single Nucleotide Polymorphism).

La démarche complète a été déroulée pour une des copies du gène de la Ferrédoxine-dépendante Glutamate Synthase (Fd-Gogat). Des amorces ont permis d'amplifier spécifiquement chacune des copies homéologues du gène de Fd-Gogat (Figure 19). Ces amorces ont permis de confirmer la localisation du gène sur le groupe 2 du génome du blé en utilisant les lignées de délétion de la variété 'Chinese Spring'. Grâce à la présence d'un polymorphisme de séquence entre Arche et Récital pour le groupe 2D, une cartographie génétique a pu être réalisée sur la population Arche x Récital (Figure 20).

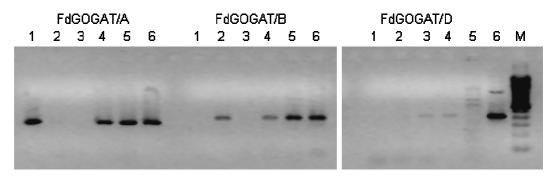


Figure 19 : amplification d'un fragment de Fd GOGAT avec des amorces génome-spécifiques (Fd-GOGAT/A, Fd-GOGAT/B et Fd-GOGAT/D) définies sur la présence de SNP dans les génomes A, B et D. Pistes : (1) *T. monococcum*; (2) *T. speltoides*, (3) *T. tauschii*, (4). *T. aestivum* cv 'Arche', (5) *T turgidum*, (6) *T. aestivum* cv 'Chinese Spring', (M) échelle 100bp (Boisson *et al* 2005 [1.16]).

En combinant les informations obtenues dans les programmes de cartographie d'EST et nos études, la plupart des gènes du métabolisme azoté sont maintenant cartographiés au moins au niveau des bins de délétions. Cette localisation n'est toutefois pas suffisante pour développer réellement une approche gène candidat où des informations de cartographie génétique sont souvent nécessaires. La cartographie génétique est toutefois de plus en plus rapide grâce à l'accroissement du nombre de séquences dans les banques d'EST (855 000 EST sur NCBI en août 2006), de contigages de plus en plus précis qui permettent de séparer les différentes copies d'un même gène et de méthodes de révélation du polymorphisme (comme le polymorphisme de conformation simple brin ou SSCP) de plus en plus puissantes.

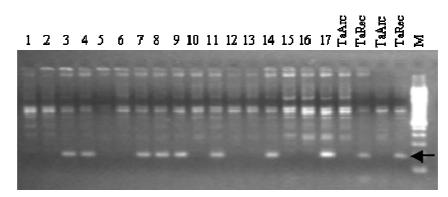


Figure 20 : amplification d'un fragment de 176 bp de la copie du génome D de la Fd-GOGAT sur *T. aestivum* cvs 'Arche' et 'Récital' et sur 17 lignées HD issues de leur croisement en utilisant des amorces révélant un SNP. (M) échelle 100bp (Boisson *et al* 2005 [1.16]).

5.2. Identification de gènes/protéines différentiellement exprimés

Cette approche est fondée sur l'hypothèse que la variation du caractère quantitatif peut être expliquée par une différence du niveau d'expression d'un gène, soit au niveau des ARN messagers (transcriptome), soit au niveau des protéines (protéome). Une des limites de cette approche est qu'elle ne permettra pas d'identifier des différences de séquences qui pourraient se traduire par des différences d'activité de la protéine.

Nous avons mené trois types d'approches dans ce cadre : la production d'EST, la recherche de protéines exprimées différentiellement et la recherche de gènes dont l'expression est modifiée par une carence en azote.

5.2.1. Production d'EST

Au début du programme Génoplante en 1999, très peu d'EST de blé étaient disponibles dans les banques de données. La variété Récital avait été choisie comme référence aux niveaux des projets GénoPlante blé car elle apparaissait dans plusieurs des programmes (stress azoté, résistance aux maladies, qualité d'utilisation). Nous avons décidé d'utiliser les échantillons produits en conditions contrôlées à Laon (Gauthier 1999) et quatre banques d'EST ont été produites par Xavier Sarda (Rhobio Evry) :

- une banque de feuille non carencée : 4359 EST (Azo1)
- une banque de racine non carencée : 10671 EST (Azo2)
- une banque de feuille carencée : 4378 EST (Azo3)
- une banque de racine carencée : 3507 EST (Azo4)

Ces banques obtenues par soustraction virtuelle, pour en enrichir le contenu en séquences non redondantes, n'ont pas pu être utilisées pour étudier les niveaux d'expression. Intégrées dans les bases de données, y compris maintenant pour la grande majorité dans les bases publiques, elles sont cependant une source d'information pour la recherche des séquences de gènes candidats.

5.2.2. Protéines exprimées différentiellement

Une étude des quantités de protéines évite certaines limites des approches au niveau des transcrits dues aux modifications post-traductionelles et aux différences de

turn-over entre ARNm et protéines (de Vienne *et al* 1999). Sur le blé, des approches protéomiques avaient déjà été réalisées sur la tolérance au stress thermique (Dell'Aquila *et al* 1998), au froid (Abromeit *et al* 1992) et à une forte concentration en sel (Ouerghi *et al* 2000). Depuis, de nombreuses études ont suivi sur le stress thermique (Majoul *et al* 2005) ou sur la résistance à la germination sur pied (Sun *et al* 2005).

Une étude en conditions contrôlées à quatre niveaux contrastés en azote (Figure 1 dans Bahrman *et al* 2004a [1.11]), a permis de révéler par électrophorèse bidimensionnelle des variations de quantité de protéines dans les feuilles des variétés Arche et Récital (Tableau 4). Sur les 540 spots révélés, environ un tiers montrait une variation soit en fonction de la variété, soit en fonction du traitement, soit en interaction. Une étude similaire conduite sur les échantillons produits en conditions contrôlées à Laon (Gauthier 1999) a permis de révéler une variation légèrement inférieure au niveau des racines pour un ensemble de 860 spots (Tableau 4).

Tableau 4 : variabilité de l'expression de protéines révélée par analyse de variance sur le volume des spots dans les racines et les feuilles de variétés de blé (d'après Bahrman *et al* 2004a [1.11], 2005 [1.15])

Type de variation	Racine	Feuille
Différence entre variété	69 (8.0%)	72 (13.3%)
 Qualitative 	31	17
 Quantitative 	38	55
Différence entre traitement azoté	50 (5.8%)	76 (14.5%)
 Augmentation 	27	23
 Diminution 	23	22
Interaction variété x traitement	20 (2.3%)	20 (3.7%)
Nombre total de spots	860	540

Après prélèvement des spots, il est possible d'identifier les protéines en comparant les séquences peptidiques obtenues après digestion trypsique et séparation en chromatographie liquide (LC MS/MS) avec les séquences protéiques ou d'EST présentes dans les bases de données (Bahrman *et al* 2004a, 2004b [1.11, 1.12]). De cette manière, la majorité des 62 spots racinaires ou 84 spots foliaires prélevés sur les gels ont été identifiés. L'analyse a été concentrée sur 14 spots foliaires montrant une variation avec le traitement azoté ou la variété (Bahrman *et al* 2004a [1.11]). Il ressort que la majorité des protéines variables sont impliquées dans le métabolisme carboné. Pour les différences observées à faible niveau d'azote, Arche montre un volume du spot supérieur pour la sous-unité B de l'ATP synthase alors que Récital montre des volumes supérieurs pour la Malate Déshydrogénase et la Ribose 5 phosphate Isomérase (Figure 21). Sur les 14 spots, deux n'ont pu être identifiés dont un montrant une interaction avec la variété (spot 482).

5.2.3. Transcriptome

La mise au point des puces à ADN rend possible l'étude simultanée du niveau d'expression de plusieurs dizaines de milliers de gènes. La puce cDNA développée dans le cadre de GénoPlante par Xavier Sarda comporte plus de 18000 séquences représentant environ 15000 gènes différents. A la fin du programme CP2P1 2001-2003 [1.5], il a été décidé d'utiliser cette technique pour identifier les gènes exprimés ou réprimés lors de l'induction ou de levée d'une carence. Cette expérimentation a ensuite été intégrée dans le programme GénoPlante B4 2004-2005 [2.4] qui comportait des

études semblables sur Arabidospsis, le maïs et le colza. Les productions d'échantillons ont toutes été réalisées sur le même modèle en se basant sur l'expérience acquise par Françoise Vedele sur Arabidopsis. Pour le blé, l'expérimentation a été conduite en hydroponie à l'INRA de Laon sur les variétés Arche et Récital, les échantillons de la variété Arche étant utilisés par la suite. Les prélèvements sur les racines et sur la dernière feuille ont été effectués à différents temps (Figure 22) après une induction et une levée de carence. Des analyses d'azote nous ont permis de vérifier que les plantes conduites à 3 mM étaient non carencées (teneur en azote proches de 4 % sur les échantillons de feuilles et racines P1) et que la carence était forte après 15 jours sur 0 mM (teneur en azote proches de 2 % sur les échantillons de feuilles et racines P4).

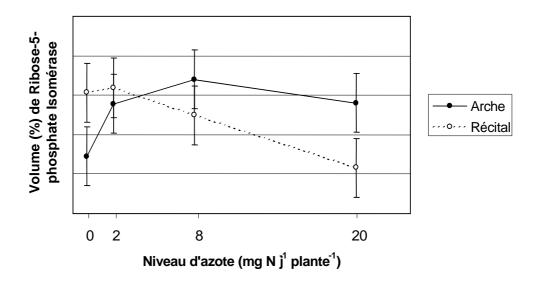


Figure 21 : volume du spot (%) correspondant à la Ribose-5-phosphate Isomérase mesuré à quatre niveaux d'azote sur les variétés Arche et Récital. Les barres verticales représentent une fois la plus petite différence significative (5%). (d'après Bahrman *et al* 2004a [1.11]).

Six comparaisons ont été réalisées, cinq concernant l'induction d'une carence (P1/P2, P1/P3, P1/P4 sur racines, P1/P3, P1/P4 sur feuilles) et une la levée de carence (P4/P5 sur racine). Pour chaque traitement, les répétitions techniques requises ont été pratiquées, sachant que les échantillons provenaient d'un mélange de trois répétitions de 5 plantes.

Les résultats sont en cours d'analyse et de comparaison avec les données obtenues sur les autres espèces. L'objectif est d'obtenir une liste de gènes dont la variation d'expression sera d'abord validée par RT-PCR quantitative. Ensuite, la cartographie génétique de ces gènes sera entreprise pour déboucher sur d'éventuelles co-localisations avec des QTL.

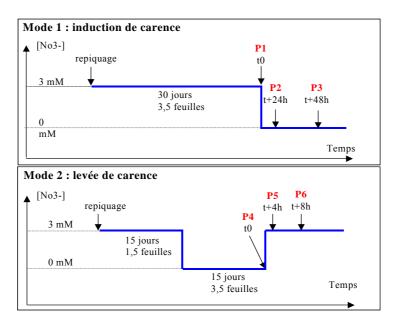


Figure 22 : présentation des prélèvements réalisés sur l'expérimentation conduite en hydroponie (INRA Laon) sur les variétés de blé Arche et Récital pour produire des échantillons destinés à identifier les gènes dont l'expression est modifiée par l'induction ou la levée d'une carence en nitrate.

6. Utilisation en sélection

L'objectif de notre travail est d'apporter des connaissances sur la tolérance à une carence en azote mais aussi de fournir des outils pour la sélection de variétés adaptées à des itinéraires techniques à faible niveau en azote. Jusqu'à présent, nous n'avons pas proposé de schéma de sélection assisté par marqueur valorisant le programme de détection de QTL. Il nous semble prématuré de développer ce type d'approche sans une validation des QTL mis en évidence. Par contre, nous avons conduit des analyses pour définir le milieu optimal de sélection et réfléchi à la définition d'un idéotype résultant des connaissances acquises sur les gènes majeurs en ségrégation dans la population ARE.

6.1. Sélection directe / indirecte

En France, ces dernières années, la sélection variétale a généralement été conduite à fort niveau d'azote. On peut alors considérer que le gain génétique qui a été obtenu à faible niveau en azote (Brancourt-Hulmel *et al* 2003) a été dû à un effet indirect de la sélection à fort niveau d'azote. Pour une intensité de sélection équivalente, le gain relatif de la sélection directe par rapport à la sélection indirecte va dépendre des héritabilités dans l'environnement de sélection et dans l'environnement cible et de la corrélation génétique entre les deux milieux (Falconer 1974). En fonction des caractères, des espèces et des contraintes étudiées, la sélection directe peut être plus ou moins efficace.

A partir d'un matériel issu du programme de sélection de la station de Mons, nous avons cherché à comparer la sélection directe à faible niveau d'azote par rapport à la sélection indirecte à fort niveau d'azote (Brancourt-Hulmel *et al* 2005 [1.17]). Les héritabilités observées à faible niveau d'azote pour le rendement et la teneur en protéines, comme dans le cas de la population ARE, étaient plus basses à faible niveau d'azote : par exemple h²=0.74 à Mons sur deux ans pour le rendement à N⁺ et h²=0.47 à

N⁻ (Tableau 2 dans Brancourt-Hulmel *et al* 2005 [1.17]). Cette diminution de l'héritabilité était causée par une baisse de la variance génétique et une augmentation de la variance environnementale.

Les corrélations génétiques observées entre les différents milieux traités par des fongicides étaient généralement élevées. En définitive, la sélection indirecte à fort niveau d'azote était toujours moins efficace mais la perte d'efficacité dépend fortement des années (Tableau 5). En 1998, la sélection à N⁺ permet d'atteindre 89% du gain en sélection directe à N⁻ mais en 1999 la valeur est de 99%. L'intensité de sélection doit aussi être plus faible en cas de sélection indirecte puisqu'en 1998, il est nécessaire de conserver 33% des lignées en sélectionnant à N⁺ pour conserver 80% des 20% meilleures lignées à N⁻.

Tableau 5 : efficacité relative de la sélection indirecte par rapport à la sélection directe pour le rendement en grain dans quatre environnements (1^{er} ligne en gras) et pourcentage de lignées à retenir dans l'environnement de sélection pour conserver 80% des 20% meilleures lignées dans l'environnement cible (2^{ème} ligne en italique). D'après Brancourt-Hulmel *et al* (2005 [1.17]).

		N apporté (kg ha ⁻¹)	1998 N ⁺	1999 N ⁺	1998 N ⁻	1999 N ⁻
	1998 N ⁺	215		0.77	0.89	0.65
				47.5	32.7	50.0
Environnement	1999N^+	249	0.77		0.75	0.99
de			39.4		48.2	43.7
sélection	1998 N ⁻	55	0.76	0.65		0.95
			35.6	45.4		55.6
	1999 N ⁻	59	0.35	0.54	0.59	
			59.5	57.0	51.4	

Cette étude a montré que la sélection à faible niveau d'azote est nécessaire mais aussi qu'elle sera plus difficile à cause de la plus faible variance génétique et de la plus forte variance environnementale observées.

6.2. Définition d'un idéotype de tolérance à une carence en azote fondé sur les gènes majeurs

Les résultats obtenus jusqu'à maintenant permettent d'ébaucher la définition d'un idéotype prenant en compte la composition allèlique à certains gènes majeurs. Ces résultats principalement acquis sur la population Arche x Récital seront bien sûr à confirmer dans d'autres fonds génétiques. Cet idéotype serait :

• grand : on peut voir deux avantages à une plus grande taille. D'abord une capacité plus importante de stockage en azote qui peut ensuite être remobilisé en cas de carence. Ensuite, un système racinaire plus développé comme le montre le Tableau 6 (dans Laperche *et al* 2006 [1.21]) avec la détection au niveau du gène Rht-B1 d'un QTL pour la longueur des racines latérales dont l'allèle favorable est apporté par Arche. A faible niveau d'azote, les risques de verse sont plus limités et donc l'avantage que constitue une plus faible taille dans la résistance n'est plus valorisé. Il en est de même de la plus forte capacité de tallage souvent associée aux gènes de nanisme, elle est moins valorisée à faible niveau d'azote ce qui entraîne une diminution de l'effet favorable de l'allèle nain quand l'intensité du stress augmente (**Figure 15**).

- tardif : dans la population Arche x Récital, les génotypes tardifs sont plus productifs à faible niveau d'azote. On peut supposer une interaction avec la minéralisation de l'azote du sol. Un écart d'une dizaine de jours à la floraison peut se traduire par une différence de plusieurs kg N / ha pour un sol profond comme celui de Mons. Sur les essais comportant de nombreux génotypes, les apports ne peuvent être individualisés et sont donc réalisés à la même date et donc à des stades différents. Il est possible que cela interagisse avec la tolérance. Enfin, le rythme de développement de la variété durant l'hiver est à considérer. Une variété peu sensible à la vernalisation mais sensible à la photopériode (et résistante au froid) pourrait par un développement actif en hiver avoir une capacité supérieure à absorber l'azote (Foulkes *et al* 1998).
- aristé : nous avons vu que les lignées aristées avaient en moyenne un poids de mille grains supérieur aux lignées non aristées à faible niveau d'azote. On peut supposer que c'est directement la présence de barbes qui est responsable et non un gène proche. Cela en fait un caractère facile à sélectionner.
- à fort PMG: nous avons vu qu'il existait une corrélation positive entre le PMGmax et le rendement à faible niveau d'azote. Les variétés possédant un fort PMG potentiel seraient mieux à même de compenser une forte baisse de nombre de grains par m² entraînée par la carence en azote.

7. Perspectives / programme de recherche

J'ai rejoint début 2007 l'UMR Amélioration et Santé des Plantes de Clermont-Ferrand. Je vais intégrer l'axe 2 "Valorisation de l'azote, composition et qualité du grain de blé". Mon projet de recherche va se dérouler dans la continuité de celui développé jusqu'à aujourd'hui avec toutefois une accent plus fort mis sur la teneur en protéines. Mon objectif est toujours d'avancer dans la connaissance du déterminisme de la valorisation de l'azote en collaboration avec les écophysiologistes et en intégrant les outils de la génomique.

7.1. Vers une meilleure caractérisation des QTL de valorisation de l'azote

Dans la suite logique du travail effectué sur la population Arche x Récital et en collaboration avec les mêmes acteurs, nous envisageons quatre directions de recherche pour compléter les résultats obtenus sur la population Arche x Récital et permettre une meilleure caractérisation des QTL obtenus :

• la construction de lignées quasi-isogéniques a débuté pour six QTL montrant une interaction avec la fertilisation azotée. Il s'agit des QTL situés sur les chromosomes 1B, 2A2, 3B, 5A2, 5B et 7A. Par ailleurs, Eric Hanocq a débuté la création de lignées quasi-isogéniques pour la région du 2D contenant le gène de sensibilité à la photopériode Ppd-D1. Nous n'avons pas pour l'instant prévu de développer des lignées pour la région du gène de nanisme Rht-B1sur le 4B car plusieurs couples existent déjà pour d'autres fonds génétiques. Pour chaque QTL, nous avons prévu d'introgresser l'allèle d'Arche dans un fond Récital et réciproquement. A chaque fois, nous avons choisi les trois lignées les plus proches du parent récurrent pour l'ensemble du génome en dehors de l'intervalle de confiance du QTL. Nous prévoyons, dans un premier temps, de faire trois générations de rétrocroisements. Les premières lignées concernant un des QTL seront disponibles dès l'année prochaine pour une première expérimentation. Ces lignées quasi-isogéniques permettront, dans un premier temps, de valider l'effet de la région chromosomique sur les caractères nous intéressant en permettant de plus d'élargir les conditions de test et d'affiner les mesures. En parallèle, nous allons densifier le

marquage dans la région d'intérêt en utilisant soit des marqueurs neutres, soit des marqueurs dérivés de gènes en se basant notamment sur la synténie entre le blé et le riz (en collaboration avec Jérôme Salse). Enfin, les lignées quasi-isogéniques ouvrent la possibilité à plus long terme de créer une population de cartographie fine dans la région du QTL pour se diriger vers un clonage du gène, en particulier pour le QTL du chromosome 3B pour lequel il existe une banque BAC disponible à Clermont-Ferrand.

- les expérimentations conduites sur la population ARE représentent une très riche base de données qui n'a pas été encore complètement exploitée. Un sujet de post-doc a été proposé par Maryse Brancourt et validé par le département pour analyser les interactions génotype x milieu et QTL x azote. L'objectif est de combiner des approches statistiques et l'approche génotypes révélateurs, en utilisant éventuellement les modèles de fonctionnement des cultures pour estimer des variables non mesurées, pour tenter d'expliquer pourquoi certains QTL ne sont détectés que dans certaines conditions. Cette approche pourra aussi s'appuyer sur des données disponibles pour une deuxième population de lignées recombinantes, la population Apache x Ornicar. Cette population a été expérimentée dans un réseau multilocal à deux niveaux d'azote et montre en première analyse un niveau d'interaction génotype x azote qui permettra une comparaison des QTL détectés avec ceux de la population ARE. Nous pourrons inclure, dans une analyse générale, des données provenant d'autres études pour synthétiser les informations par une méta-analyse telle que celle que nous avons récemment publiée pour les composantes de la précocité (Hanocq *et al* 2007 [1.23]).
- le paramètre du modèle simplifié utilisé en rhizotron montrant le plus de variabilité entre les lignées de la population Arche x Récital est l'efficacité d'absorption spécifique calculée par le rapport entre la quantité d'azote total et la longueur racinaire cumulée. Ce résultat est en concordance avec les résultats obtenus au champ et confirme la capacité d'absorption racinaire comme une des hypothèses pouvant expliquer les différences de tolérance à une carence en azote. Le travail en rhizotron a donc dégagé des pistes intéressantes mais il a aussi montré ses limites : travail à une seule dose d'azote ne permettant pas de caractériser réellement la réaction à une carence, étude d'un échantillon de seulement 120 lignées qui, même s'il était optimisé pour maximiser la variabilité génotypique, pouvait limiter la puissance de détection des QTL, faible nombre de répétitions avec un fort effet de l'état initial des plantules au moment du repiquage, et absence de mesures dynamiques en dehors de la longueur racinaire qui oblige à faire l'hypothèse d'une constance dans le temps des efficiences du modèle. En collaboration avec B.Ney, nous avons donc fait une demande de post-doc au DGAP pour compléter les résultats. Cette demande ayant été acceptée un post-doc d'un an va commencer début 2007.

La comparaison des parents et d'un échantillon de lignées à deux niveaux d'azote, et non à un seul niveau comme précédemment, nous permettra de quantifier la réponse corrélative de l'absorption d'azote et de la croissance foliaire à une offre supérieure en azote. Cela doit être un premier moyen d'identifier le facteur déterminant de l'acquisition d'azote, la demande en azote entraînée par le développement de la plante ou l'offre en azote contrôlée par la capacité d'absorption du système racinaire. De plus, la comparaison des deux niveaux de fertilisation azotée pourra permettre d'identifier les QTL d'adaptation de la plante à des conditions limitantes. Le gène de nanisme Rht-B1 en ségrégation dans la population et agissant très tôt dans le cycle de développement de la plante, permettra de différencier deux groupes de plantes. Les plantes naines

caractérisées *a priori* par une plus faible demande en azote à cause d'une croissance aérienne plus limitée et les plantes normales ayant une plus forte demande. Cette caractéristique de la population nous permettra de jouer sur les rapports entre l'offre et la demande en azote.

• Au cours d'un précédent travail, il est apparu que la glutamate déshydrogénase (GDH) était fortement induite à des moments très précis du remplissage du grain et semblait donc très impliquée dans le processus de remobilisation (Kichey et al 2005 [1.19]). Par ailleurs, des études de génétique quantitative réalisées chez le maïs ont permis d'identifier des co-localisations entre des QTL d'activité GDH et des QTL agronomiques, ce qui suggère que l'enzyme pourrait jouer un rôle au cours de la translocation des assimilats vers les organes puits (Dubois et al 2003). Nous nous proposons donc, en parallèle avec un travail de physiologie mené par l'UPJV d'Amiens sur des mutants d'Arabidopsis, de mieux cerner l'implication possible de la GDH dans le remplissage du grain. Cela repose sur deux approches qui sont, premièrement la détection de QTL pour l'activité enzymatique et la recherche de co-localisations avec les QTL disponibles sur la population Arche x Récital et, deuxièmement la recherche de séquences spécifiques des gènes de GDH pour en réaliser la cartographie et en étudier l'expression.

7.2. Analyse génétique de l'écart à la relation rendement / teneur en protéines

Un des principaux critères d'utilisation du blé, pour l'alimentation humaine ou animale, est l'obtention d'une teneur en protéines (Grain Protein Content = GPC) forte et stable. Il est toutefois difficile d'améliorer simultanément le rendement et la teneur en protéines du fait de la forte corrélation négative qui existe entre ces deux caractères. En utilisant des séries variétales assez larges et des données multilocales pour tenir compte des interactions génotype x milieu, Oury et al (2003) ont estimé que la corrélation était en moyenne de l'ordre de -0.8. La pente de la régression permet d'estimer que tout accroissement de rendement de 10 g/ha se traduit par une baisse de 1% de la teneur en protéines. Il est toutefois possible d'identifier des génotypes qui s'écartent significativement de la régression, c'est à dire qui possèdent une teneur en protéines supérieure à celle prédite par la relation rendement – teneur en protéines (Law et Payne 1973, Simmonds 1975). Monaghan et al (2001) ont suggéré d'utiliser la déviation à la régression comme un critère de sélection qu'ils ont appelé Grain Protein Deviation (GPD). L'examen de la relation entre le rendement et la teneur en protéines permet aussi d'identifier et de favoriser l'inscription de variétés de blé tendre qui s'écartent de manière favorable de la régression linéaire négative rendement/teneur en protéines. Cette caractéristique conduit à l'attribution d'une bonification selon la grille définie par la section « céréales à paille » du Comité Technique Permanent de la Sélection (CTPS). Cette bonification intervient dans la cotation finale à hauteur de + 1 ou + 2% sur le seuil requis pour l'admission Valeur Agronomique et Technologique (VAT). Nous avons confirmé, dans les premiers résultats du projet FSOV 2004-2006 [1.6], l'existence de génotypes montrant une déviation positive ou négative à la régression.

De nombreuses détections de QTL ont eu pour objet la teneur en protéines du grain (eg Joppa et al 1997, Zanetti et al 2001, Prasad et al 2003, Blanco et al 2006) mais souvent le rendement était pas ou mal estimé. De plus, quand le rendement est estimé, comme pour Blanco et al (2002), des QTL de rendement sont généralement associés à des QTL de teneurs en protéines avec des effets inverses. Mais plus

récemment Kade *et al* (2005) ont décrit une lignée substituée recombinante de blé dur ayant introgressé un fragment du chromosome 6B de *T. diccocoides* portant un QTL permettant d'augmenter la teneur en protéines sans effet sur le rendement. Ils attribuent cela à une remobilisation plus efficace de l'azote des feuilles vers l'épi durant le remplissage du grain. A notre connaissance, toutefois, aucune étude fine et systématique de l'écart à la relation rendement teneur en protéines n'a été menée.

Le projet de recherche que je vais développer à l'UM ASP s'appuie sur plusieurs points forts. Tout d'abord la disponibilité d'un matériel végétal spécifique qui a été déjà en partie construit par François-Xavier Oury et Gilles Charmet. Ensuite la présence d'une équipe d'écophysiologistes (Equipe APAC) dans laquelle Pierre Martre et Vincent Allard participeront au projet. Enfin un financement pour les trois prochaines années à travers deux projets qui ont été acceptés courant 2006 : le projet ANR GénoPlante "Analyses génétiques de la stabilité du rendement et de la teneur en protéines du grain en contexte limitant en azote chez le blé tendre et le blé dur" et le projet INRA/BBSRC "Identification of traits and genetic markers to reduce the nitrogen requirement and improve the grain protein concentration of winter wheat". Ce dernier financement inclut une bourse de thèse et un post-doc de trois ans pour les équipes françaises.

7.2.1. Matériel végétal

Plusieurs lignées s'écartant significativement de la relation négative rendement – teneur en protéines du grain ont été identifiées en analysant des réseaux multilocaux (Figure 23). Cela a permis de construire un plan de croisement (**Tableau 6**) associant des variétés contrastées. Dix populations de lignées haploïdes doublées ont été obtenues offrant a priori une très large gamme de variabilité. La première partie du di-allèle (en gris) sera étudiée en totalité. La deuxième partie pourra servir soit de validation soit passera par une première étape de sélection des extrêmes pour limiter le nombre de lignées à étudier en détail.

7.2.2. Dispositif d'étude

7.2.2.1. Expérimentations multilocales

La mise en place d'un réseau doit permettre de répondre à deux types de demandes:

- d'abord, permettre d'estimer avec précision les caractères qui nous intéressent, c'est à dire le rendement, la teneur en protéines et l'écart à la régression. L'ensemble de ces caractères est soumis à une forte action de l'environnement (héritabilité faible) et à une forte interaction génotype x milieu, d'où la nécessité de multiplier les mesures (2 années x 4 lieux). Des mesures sont de plus prévues à la floraison et à la maturité sur les parents des lignées et sur des lignées témoins pour permettre un diagnostic *a posteriori* des facteurs limitants du milieu (approche génotypes révélateurs).
- ensuite, de comparer le comportement des lignées à différents niveaux de nutrition azotée pour estimer l'impact d'une carence en azote. Dans chaque milieu seront appliqués un niveau de fertilisation azotée préconisé par la méthode du bilan et un niveau limitant en azote (X-60/X-80 kg N ha⁻¹ pour le programme ANR-Génoplante par exemple).

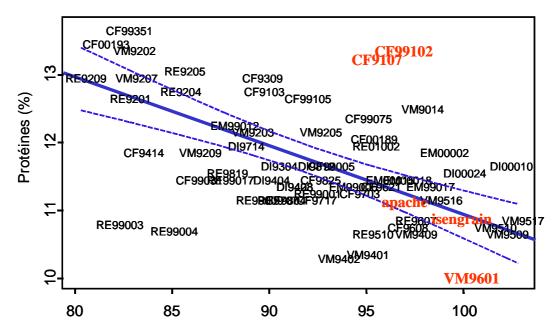
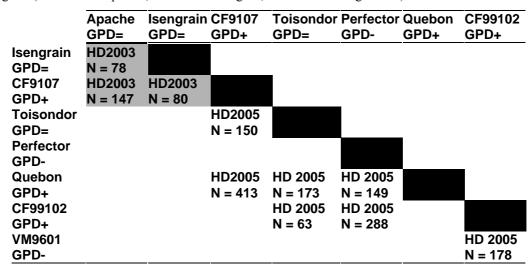


Figure 23 : relation entre le rendement et la teneur en protéines de lignées issues des programmes de sélection de l'INRA (moyennes de 8 essais au minimum pour chaque variété). La position des variétés Apache et Isengrain a été estimée à partir d'autres résultats (d'après Oury (comm. perso.)).

Tableau 6 : plan de croisement destiné à l'étude de l'écart à la régression rendement – teneur en protéines du grain (GPD+ : écart positif, GPD- : écart négatif, GPD= : sur la régression)



7.2.2.2. Détection de QTL

La détection de QTL sera conduite dans un premier temps sur les variables nécessaires à la mesure de la teneur en protéines et sur les variables classiquement mesurées sur ce type de populations (PMG, hauteur, précocité, ...). On pourra envisager une Meta-analyse de QTL en combinant les informations obtenues sur les différentes populations déjà étudiées à l'INRA et les données de la bibliographie.

Dans un deuxième temps, avec les écophysiologistes de l'équipe APAC, nous souhaitons pouvoir intégrer dans cette recherche les apports de la modélisation écophysiologique. L'objectif de cette équipe est d'aboutir à une modélisation mécaniste

de la dynamique d'azote dans la plante en peuplement, prenant en compte les régulations liées à l'environnement lumineux local et aux interactions carbone-azote. Leur hypothèse de départ est que la distribution verticale de l'azote dans le couvert et sa répartition entre les différents organes (limbes des feuilles, gaines des feuilles, tiges) qui sont influencées par l'éclairement local et donc l'architecture de la plante peuvent expliquer une large part des différences variétales pour l'utilisation de l'azote et l'écart à la relation rendement / teneur en protéines.

Le modèle qui s'appuiera sur SiriusQuality (Martre *et al* 2003) doit être conçu pour permettre la prise en compte des variations génétiques. Pour cela, des allers-retours sont nécessaires entre les approches écophysiologique et génétique : étude de sensibilité du modèle en intégrant les interactions avec le niveau de fertilisation azotée ; identification des paramètres les plus influents pour le caractère d'intérêt ; analyse de la variabilité de ces paramètres sur une collection de génotypes ; analyse du déterminisme génétique (QTL) de ces paramètres ; intégration de ces effets génétiques dans le modèle, définition d'idéotypes sur la base de combinaisons originales d'effets alléliques et validation de ces idéotypes par construction de matériel par sélection assistée par marqueur.

7.2.2.3. Identification de gènes candidats

L'identification et la validation de gènes candidats reposera sur trois types d'approches. Tout d'abord, l'identification des gènes pouvant expliquer les écarts à la relation rendement – teneur en protéines du grain se fera en recherchant les gènes exprimés différentiellement entre des lignées GPD+ et GPD-. Sur la base des résultats des expérimentations, une dizaine de lignées GPD+ et une dizaine de lignées GPD-seront sélectionnées. Des échantillons provenant de chacune des lignées seront mélangés pour obtenir un pool GPD+ et un pool GPD- qui seront hybridés sur une puce à ADN blé. Les organes qui seront prélevés et les stades de prélèvement seront déterminés avec l'aide des écophysiologistes. La même approche pourra être conduite non plus au niveau des transcrits, mais au niveau des protéines en profitant des compétences de l'UMR ASP (Gérard Branlard).

La validation des gènes identifiés se fera préférentiellement en utilisant une core-collection et une population de lignées mutantes disponibles à l'UMR ASP. Nous souhaitons utiliser une core-collection de variétés de blés d'hiver "cultivables", c'est-à-dire présentant un niveau agronomique suffisant pour permettre une culture en parcelle au champ dans des conditions réalistes, sans trop grand risque de verse ou de problèmes sanitaires. Cette core-collection pourra être dérivée de la core-collection définie pour maximiser la variabilité génétique présente sur la base d'un marquage micro-satellite (Balfourier et al 2007). Une population d'environ 5000 lignées obtenues par irradiation de la variété Renan est aussi en cours de caractérisation. Pour les deux types de populations, il sera recherché une liaison entre un polymorphisme pour la séquence des gènes candidats et un phénotype lié au caractère qui nous intéresse.

8. Conclusion

Après quatorze ans passés comme chargé de recherche dans l'unité d'Estrées-Mons du département de Génétique et Amélioration des Plantes de l'INRA, je souhaite obtenir l'Habilitation à Diriger des Recherches. Je le fais sur la base du programme de recherche que j'ai construit et dont je viens de présenter les résultats. Ce programme a impliqué l'élaboration et la gestion de plusieurs contrats de recherche, l'établissement d'un partenariat pluridisciplinaire impliquant des acteurs de la recherche privée et publique, ainsi que l'encadrement d'étudiants de niveau BAC+5 et BAC+8.

Au début des années 90, la problématique de l'adaptation à une carence en azote du blé tendre était nouvelle, celle-ci répondait aux conséquences du changement d'orientation de la politique agricole commune. Dans ce contexte, la tolérance à une déficience en azote au cours de l'élaboration du rendement en grain ou de la teneur en protéines est apparue systématiquement dans les appels d'offre soutenus par les acteurs de la filière semences (Projets CTPS, FSOV, GénoPlante). Il a été possible de solliciter rapidement l'intérêt des sélectionneurs privés et des instituts techniques qui dès le départ ont soutenu nos programmes de recherche dans ce domaine. Comme la plupart des caractères importants en amélioration des plantes, la tolérance à un stress est un caractère complexe dont l'étude implique obligatoirement une approche pluridisciplinaire. Une partie des compétences étaient disponibles dans l'unité, ce qui s'est traduit notamment par des travaux communs avec M. Brancourt pour la caractérisation des milieux grâce aux génotypes révélateurs et avec E. Hanocq pour les composantes de la précocité. En complément, j'ai développé des collaborations avec des écophysiologistes de la plante entière et des physiologistes. Ces collaborations ont permis d'entreprendre une approche du déterminisme génétique de la tolérance à une carence à plusieurs niveaux : depuis des caractères très intégratifs comme le rendement et ses composantes jusqu'à des caractères plus fins comme les activités d'enzymes du métabolisme azoté et plus récemment des paramètres d'un modèle de fonctionnement. C'est ce que je souhaite continuer à développer dans le cadre de l'élaboration de nouveaux projets de recherche, en conservant le crible des expérimentations au champ qui reste déterminant dans l'identification des caractères pertinents.

Mon implication dans l'encadrement d'étudiants s'est progressivement accrue. Ces dernières années, j'ai activement participé au co-encadrement de deux thèses (T Kichey et JX Fontaine en cours) en collaboration avec les physiologistes de l'université d'Amiens et de Versailles. J'ai aussi co-dirigé la thèse d'Anne Laperche en collaboration avec F. Devienne-Barret. A chaque fois, ces thèses conduites à l'interface de deux disciplines, génétique et physiologie pour les deux premières et génétique et écophysiologie pour la troisième, se sont traduites par des résultats novateurs qui ont pu être valorisés par des communications et des publications. C'est ce type d'encadrement que je voudrais privilégier dans la suite de mon activité de recherche, car il se traduit par des avancées significatives de la problématique de recherche tandis qu'il permet à l'étudiant d'acquérir des compétences variées.

1.Article à comité de lecture

- 1.1 **Le Gouis, J.** 1992. A comparison between two- and six-row winter barley genotypes for above-ground dry matter production and distribution. Agronomie 12:163-171.
- 1.2 Damay, N., and **J. Le Gouis**. 1993. Radiation use efficiency of sugar beet in Northern France. European Journal of Agronomy 2:179-184.
- 1.3 **Le Gouis, J.** 1993. Grain filling and shoot growth of 2-row and 6-row winter barley varieties. Agronomie 13:545-552.
- 1.4 **Le Gouis, J.**, M. Erdogan, F. Ordon, and W. Friedt. 1995. Potential and limits of isozymes for chromosomal localization of resistance genes against barley mild mosaic virus (BaMMV) in Barley. Euphytica 82:25-30.
- 1.5 Bahrman, N., **J. Le Gouis**, D. Hariri, L. Guilbaud, and L. Jestin. 1999. Genetic diversity of old French six-rowed winter barley varieties assessed with molecular, biochemical and morphological markers and its relation to BaMMV resistance. Heredity 83:568-574.
- 1.6 **Le Gouis, J.**, O. Delebarre, D. Béghin, E. Heumez, and P. Pluchard. 1999. Nitrogen uptake and utilisation efficiency of two-row and six-row winter barley cultivars grown at two N levels. European Journal of Agronomy 10:73-79.
- 1.7 **Le Gouis, J.**, F. Ordon, D. de Froidmont, D. Béghin, L. Jestin, J.-L. Joseph, and F. Froidmont. 1999. Agronomic comparison of two sets of SSD lines differing for the ym4 resistance gene against barley mosaic viruses. Agronomie 19:125-131.
- 1.8 Hariri, D., M. Meyer, **J. Le Gouis**, N. Bahrman, M. Fouchard, C. Forget, and A. Andre. 2000. Characterisation of BaYMV and BaMMV pathotypes in France. European Journal of Plant Pathology 106:365-372.
- 1.9 **Le Gouis, J.**, D. Béghin, E. Heumez, and P. Pluchard. 2000. Genetic differences for nitrogen uptake and nitrogen utilisation efficiencies in winter wheat. European Journal of Agronomy 12:163-173.
- 1.10 **Le Gouis, J.**, D. Béghin, E. Heumez, and P. Pluchard. 2002. Diallel analysis of winter wheat at two nitrogen levels. Crop Science 42:1129-1134.
- 1.11 Bahrman, N., **J. Le Gouis**, L. Negroni, L. Amilhat, P. Leroy, A.-L. Lainé, and O. Jaminon. 2004. Differential protein expression assessed by two-dimensional gel electrophoresis for two wheat varieties grown at four nitrogen levels. Proteomics 4:709-719.
- 1.12 Bahrman, N., L. Negroni, O. Jaminon, and **J. Le Gouis**. 2004. Wheat leaf proteome analysis using sequence data of proteins separated by two dimensional electrophoresis. Proteomics 4:2672-2684.
- 1.13 Hanocq, E., M. Niarquin, E. Heumez, M. Rousset, and **J. Le Gouis**. 2004. Detection and mapping of QTL for earliness components in a bread wheat recombinant inbred lines population. Theoretical and Applied Genetics 110:106-115
- 1.14 **Le Gouis, J.**, P. Devaux, K. Werner, N. Bahrman, D. Hariri, D. Béghin, and F. Ordon. 2004. rym15 from the Japanse cultivar 'Chikurin Ibaraki 1' is a new Barley Mild Mosaic Virus (BaMMV) resistance gene mapped on chromosome 6H. Theoretical and Applied Genetics 108:1521-1525.
- 1.15 Bahrman, N., A. Gouy, F. Devienne-Barret, F. Vedele, B. Hirel, and **J. Le Gouis**. 2005. Differential change in root protein patterns of two wheat varieties under high and low nitrogen nutrition levels. Plant Science 68:81-87.

- 1.16 Boisson, M., K. Mondon, V. Torney, N. Nicot, A.-L. Lainé, N. Bahrman, A. Gouy, F. Daniel-Vedele, B. Hirel, P. Sourdille, M. Dardevet, C. Ravel, and J. Le Gouis. 2005. Partial sequences of nitrogen metabolism genes in hexaploid wheat. Theoretical and Applied Genetics 110:932-940.
- 1.17 Brancourt-Hulmel, M., E. Heumez, P. Pluchard, D. Béghin, C. Depatureaux, A. Giraud, and **J. Le Gouis**. 2005. Indirect versus direct selection of winter wheat for low input or high input levels. Crop Science 45:1427-1431.
- 1.18 Kichey, T., **J. Le Gouis**, B. Sangwan, B. Hirel, and F. Dubois. 2005. Changes in the Cellular and Subcellular Localization of Glutamine Synthetase and Glutamate Dehydrogenase During Flag Leaf Senescence in Wheat (Triticum aestivum L.). Plant and Cell Physiology 46: 964-974
- 1.19 Kichey, T., E. Heumez, D. Pocholle, K. Pageau, H. Vanacker, F. Dubois, **J. Le Gouis**, and B. Hirel. 2005. Combined agronomic and physiological aspects of nitrogen managment in Wheat (Triticum aestivum L.). Dynamics and integrated views highlighting the central role of the enzyme glutamine synthetase. New Phytologist. 169: 265-278
- 1.20 Laperche, A., M. Brancourt-Hulmel, E. Heumez, O. Gardet, and **J. Le Gouis**. 2006. Estimation of genetic parameters of a DH wheat population grown at different N stress levels characterized with probe genotypes. Theoretical and Applied Genetics 112: 797-807
- 1.21 Laperche A., F. Devienne-Barret, O. Maury, **J. Le Gouis**, B. Ney 2006. A simplified conceptual model of carbon and nitrogen functionning for QTL analysis of winter wheat adaptation to nitrogen deficiency. Theoretical and Applied Genetics 113: 1131-1146
- 1.22 Kichey T., B. Hirel, E. Heumez, F. Dubois., **J. Le Gouis** 2007. In wheat (Triticum aestivum L.), post-anthesis nitrogen uptake and remobilisation to the grain correlate with agronomic traits and nitrogen physiological markers. Field Crops Research 102:22-32
- 1.23 Hanocq E, A. Laperche, O. Jaminon, A.-L. Lainé, **J. Le Gouis** 2007. Most significant genome regions involved in the control of earliness traits in Bread Wheat as revealed by QTL meta-analysis. Theoretical and Applied Genetics 114: 569-584
- 1.24 Laperche A, M. Brancourt-Hulmel, E. Heumez, O. Gardet, E. Hanocq, F. Devienne-Barret, **J. Le Gouis** 2007. Using genotype x nitrogen interaction variables to evaluate the QTL involved in wheat tolerance to nitrogen constraints. Theoretical and Applied Genetics. DOI 10.1007/s00122-007-0575-4
- 1.25 Gallais A, M. Coque, **J. Le Gouis**, J.-L. Prioul, B. Hirel, I. Quilléré 2007. Estimating the proportion of nitrogen remobilization and of postsilking nitrogen uptake allocated to maize kernels by nitrogen-15 labeling. Crop Science 47:685-693
- 1.26 Laperche A, **J. Le Gouis**, E. Hanocq, M. Brancourt-Hulmel 2007. Modelling nitrogen stress with probe genotypes to assess genetic parameters and genetic determinism of winter wheat tolerance to nitrogen constraint. Euphytica (sous presse)

2. Chapitre d'ouvrage

2.1 Hirel, B., **J. Le Gouis**, P. Perez, M. Falque, F. Quétier, A. Murigneux, A. Rogowsky, and A. Charcosset. 2004. Le maïs et le blé, céréales modèles pour la recherche en biologie intégrative et son application à la sélection, p. 453-471, In J.-F. Morot-Gaudry and J.-F. Briat, eds. La génomique en biologie végétale. INRA Editions.

- 2.2 Trottet, M., and **J. Le Gouis**. 2004. Managing genes for resistance to viruses in Poaceae, In H. Lapierre and P.-A. Signoret, eds. Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae). INRA Editions.
- 3. Communication orale
- 3.1 **Le Gouis, J.** 1994. Source de résistance des céréales aux virus: cas de l'orge, pp. 29-31 Mosaïques des céréales transmises par Polymyxa graminis Led., Blois, France.
- 3.2 <u>Le Gouis, J.</u>, and P. Pluchard. 1996. Genetic variation for nitrogen use efficiency in winter wheat (Triticum aestivum L.), pp. 243-246, In P. M. A. Tigerstedt, (ed.) Adaptation in Plant Breeding, Vol. 4. Kluwer Academic Publishers, Jyväskyla, Sweden.
- 3.3 <u>Le Gouis, J.</u>, D. Hariri, N. Bahrman, and L. Jestin. 1998. Resistance of old French barley cultivars to barley mosaic viruses VIIIth conference on virus diseases of Gramineae in Europe, Goslar, Germany.
- 3.4 <u>Le Gouis</u>, <u>J</u>. and T. Ronsin. 2000. Présentation du programme d'étude du déterminisme de la tolérance du blé d'hiver à une déficience en azote combinant des approches QTL, gènes candidats et protéome. Premier séminaire GénoPlante, La Grande-Motte.
- 3.5 <u>Le Gouis, J.</u>, M.-H. Jeuffroy, E. Heumez, and P. Pluchard. 2000. Différences variétales pour le fonctionnement du blé tendre en conditions de nutrition azotée suboptimales, pp. 531-538, In P. Maillard and R. Bonhomme, (eds.) Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales, Vol. 93. INRA Editions, Paris, France.
- 3.6 <u>Le Gouis, J.</u>, N. Bahrman, N. Nicot, A. Gouy, F. Vedèle, B. Hirel, E. Heumez, C. Depatureaux, P. Bérard, P. Flament, and T. Ronsin. 2001. Déterminisme génétique de la tolérance au stress azoté chez le blé tendre : QTL, protéome et gènes candidats. Deuxième séminaire GénoPlante, Poitiers.
- 3.7 <u>Le Gouis, J.</u>, N. Bahrman, K. Mondon, E. Heumez, A. Gouy, A. Kamara, F. Vedèle, B. Hirel, F. Devienne-Barret, C. Depatureaux, N. Nicot, P. Bérard, P. Flament, and T. Ronsin. 2002. Genetic determinism of tolerance to nitrogen deficiency in winter wheat: QTL, proteomics and candidate genes 1st Plant GEM, Berlin.
- 3.8 <u>Hanocq</u>, E., E.J. Sayers, M. Niarquin, **J. Le Gouis**, G. Charmet, L. Gervais, F. Dedryver, N. Duranton, N. Marty, P. Dufour, M. Rousset, and A.J. Worland. 2003. A QTL analysis for earliness under field and controlled environment conditions in a bread wheat doubled-haploid population, pp. 57-59, In A. Börner and J. Snape, (eds.) 12th International European Wheat Aneuploid Cooperative, Norwhich, UK.
- 3.9 <u>Le Gouis, J.</u>, M. Brancourt-Hulmel, and A. Gallais. 2003. Variation génétique et possibilités de sélection pour la valorisation de l'azote chez le blé et le maïs. Sélectionneur Français.
- 3.10 <u>Le Gouis, J.</u>, N. Bahrman, M. Boisson, A. Laperche, K. Mondon, N. Nicot, A. Gouy, A. Kamara, F. Vedele, B. Hirel, E. Heumez, F. Devienne-Barret, O. Gardet, C. Depatureaux, P. Bérard, P. Flament, J.-B. Beaufumé, and T. Ronsin. 2003. Approches agronomiques de la tolérance à une déficience en azote chez le blé tendre Séminaire Génoplante, Poitiers, France.
- 3.11 <u>Rousset, M.</u>, **J. Le Gouis**, and E. Heumez. 2003. A QTL analysis for spike characteristics and fertility under field conditions in a bread wheat doubled-haploid population, pp. 167-170 Tenth International Wheat genetics Symposium, Paestum, Italy.

- 3.12 **Le Gouis, J.**, N. Bahrman, M. Boisson, K. Mondon, A. Laperche, A.-L. Lainé, A. Gouy, F. Vedele, B. Hirel, E. Heumez, O. Gardet, F. Devienne-Barret, L. Amilhat, P. Leroy, J.-B. Beaufumé, X. Sarda, and T. Ronsin. 2004. Study of the determinism of tolerance to nitrogen deficiency in winter wheat, pp. 191-192 Séminaire Génoplante, Lyon, France.
- 3.13 Laperche, A., M. Brancourt-Hulmel, F. Devienne-Barret, E. Hanocq, B. Ney, <u>J. Le</u> <u>Gouis</u>. 2006. Genetic control of nitrogen stress in winter wheat, Eucarpia Cereal Section meeting "Cereal Science and Technology for Feeding Ten Billion People: Genomics Era and Beyond", Lleida, Spain
- 3.14 <u>Le Gouis, J.</u>, A. Laperche, M. Brancourt-Hulmel, F. Devienne-Barret, E. Hanocq, B. Ney. 2007. Genetic determinism of tolerance to N deficiency in wheat, 4th UK small grain cereals genetics and genomics workshop "From genes to traits", NIAB, Cambridge, England

4. Communication par affiche

- 4.1 Koenig, J., A. Le Targa-Le Blanc, L. Jestin, **J. Le Gouis**, and A. Bouguennec. 1991. Cereal genetic ressources networks in France., pp. 111-115, In T. J. L. van Hintum, et al., (eds.) The Eucarpia/IBPGR symposium, Crop networks searching for new concepts for collaborative genetics ressource, Wageningen, The Netherlands.
- 4.2 **Le Gouis, J.** 1991. A comparison between two- and six-row winter barley genotypes for dry matter production and partition, pp. 522-525, In L. Munck, (ed.) VIth International Barley Genetics Symposium, Vol. VI, Helsinborg, Suède.
- 4.3 **Le Gouis, J.**, and D. Hariri. 1996. Characterisation of the resistance of old winter barley (Hordeum vulgare L) French cultivars to barley mosaic viruses, pp. 746-748, In A. Slinkard, et al., (eds.) Vth International Oat Conference and the VIIth International Barley Genetics Symposium, Vol. 2. University Extension Press, Saskatoon, Canada.
- 4.4 **Le Gouis, J.**, and O. Delebarre. 1996. Varietal differences for nitrogen use efficiency in winter barley (Hordeum vulgare L), pp. 640-642, In A. Slinkard, et al., (eds.) Vth International Oat Conference and the VIIth International Barley Genetics Symposium, Vol. 2. University Extension Press, Saskatoon, Canada.
- 4.5 **Le Gouis, J.**, E. Heumez, and P. Pluchard. 1999. N use efficiency of winter wheat varieties grown at two different N levels Cost action 814. Crop development for the cool and wet regions of Europe, Workshop on N-use efficiency, Melle, Belgique.
- 4.6 Bahrman, N., **J. Le Gouis**, D. Hariri, and M. Rousset. 2000. Resistance to BaMMV among the old French six-rowed winter barley varieties Plant & Animal Genome VIII Conference, San Diego, USA.
- 4.7 Jestin, L., A. Le Blanc, and **J. Le Gouis**. 2000. Status and evolvement of the barley germpasm collections in France in 2000, In R. IPGRI, (ed.) Working Group on Barley,6th IPGRI Meeting, Salsomaggiore, Italy.
- 4.8 Lainé, A.-L., **J. Le Gouis**, and N. Bahrman. 2000. Genetic diversity of Hordeum species assessed by random amplified polymorphic DNA markers., pp. 3-5, In S. Logue, (ed.) VIIIth International Barley Genetics Symposium, Vol. II. Department of Plant Science, Adelaide, Australia.
- 4.9 **Le Gouis, J.**, N. Bahrman, D. Béghin, E. Jacquot, and L. Jestin. 2000. Breeding for barley yellow dwarf virus tolerance using controlled field test and molecular markers., pp. 134-136, In S. Logue, (ed.) VIIIth International Barley Genetics Symposium, Vol. II. Department of Plant Science, Adelaide, Australia.

- 4.10 Gouy, A., **J. Le Gouis**, F. Devienne, F. Daniel-Vedèle, and B. Hirel. 2001. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis of the nitrogen use efficiency in winter wheat 6th International Symposium on Inorganic Nitrogen Assimilation, Reims.
- 4.11 Werner, K., S. Rönicke, **J. Le Gouis**, W. Friedt, and F. Ordon. 2001. Mapping of a new BaMMV-resistance gene derived from the variety 'Taihoku A' IXth conference on virus diseases of Gramineae in Europe, York, England.
- 4.12 Bahrman, N., A. Floury, O. Jaminon, J.-P. Noclercq, and **J. Le Gouis**. 2003. Wheat leaf response to nitrogen deficiency observed at the proteomics level, pp. 173 Plant & Animal Genome, San Diego, USA.
- 4.13 Laperche, A., E. Heumez, P. Pluchard, N. Bahrman, C. Depatureaux, O. Gardet, P. Bérard, P. Flament, T. Ronsin, and **J. Le Gouis**. 2003. QTL detection for nitrogen use efficiency in winter wheat Tenth International Wheat Genetics Symposium, Paestrum, Italy.
- 4.14 Laperche, A., M. Leflon, **J. Le Gouis**, and M. Brancourt-Hulmel. 2003. Interpreting genoytype x environment and QTLx environment interactions for kernel number in winter wheat with an environmental characterization based on probe genotypes and a simple crop model Ecogène: Approches du Fonctionnement des Végétaux en Relation avec leur Environnement combinant Ecophysiologie, Génétique et Génomique, Versailles, France.
- 4.15 Kichey, T., K. Pageau, M.-H. Valadier, **J. Le Gouis**, F. Dubois, and B. Hirel. 2004. Physiological characterization of nitrogen metabolism in two winter wheat (Triticum aestivum L.) varieties grown either in the field or under controlled conditions. 7th International Symposium on Inorganic Nitrogen Assimilation in Plants: from the Genome to the Agro-ecosystem, Wageningen, Netherlands.
- 4.16 Ordon, F., W. Friedt, K. Scheurer, B. Pellio, K. Werner, C. Weiskorn, G. Neuhaus, F. Nissan-Azzouz, W. Huth, A. Habekuss, **J. Le Gouis**, P. Devaux, and A. Graner. 2004. Molecular Mapping of Virus Resistance in Barley (H. vulgare L.) 9th International Barley Genetics Symposium, Brno, République Tchèque.
- 4.17 Laperche, A., **J. Le Gouis**, M. Brancourt-Hulmel. 2005. Heritabilities estimation of yield and nitrogen traits for a wheat DH population under nitrogen stress European Society for New Methods in Agricultural Researches XXXV Annual meeting, Amiens, France.
- 4.18 Kichey T, J.-X. Fontaine, E. Heumez, F. Dubois, B; Hirel, **J. Le Gouis** 2006. Genetic variability for post-anthesis nitrogen metabolism in winter wheat varieties grown under limiting and non limiting nitrogen conditions Eucarpia Cereal section Meeting, Lleida, Spain

5.Article de vulgarisation

- 5.1 **Le Gouis, J.** 1994. Variétés de céréales. Mosaïque. Orge. Quelles sont les sources potentielles de résistances? Perspectives agricoles 192:128-130.
- 5.2 **Le Gouis, J.**, F. Ordon, and W. Friedt. 1994. Isozyme-electrophoresis for chromosomal localization of barley mild mosaic virus resistance genes different from ym4. Barley Genetics Newsletter 23:36-39.
- 5.3 **Le Gouis, J.**, D. Hariri, F. Ordon, N. Bahrman, D. Béghin, and L. Jestin. 1999. Résistance aux virus de la mosaïque de l'orge. Phytoma 520:33-36.
- 5.4 Lainé, A.-L., **J. Le Gouis**, and N. Bahrman. 2000. Genetic diversity of Hordeum species assessed by random amplified polymorphic DNA markers. Barley Genetics Newsletter 30:36-38.

- 5.5 Leleu, M., N. Lenne, A. Maurice, **J. Le Gouis**, E. Heumez, M. Brancourt-Hulmel, and P. Pluchard. 2000. Des intrants en moins pour des marges en plus. Cultivar 484:10-13.
- 5.6 Hariri, D., **J. Le Gouis**, F. Ordon, and M. Adams. 2004. Les virus des mosaïques transmis aux céréales par Polymyxa graminis. Phytoma 575 : 41-45.
- 5.7 Laperche, A., M. Brancourt-Hulmel, F. Devienne-Barret, E. Hanocq, A. Savin, and **J. Le Gouis**. 2005. Des variétés de blé économes en azote: un enjeu pour la sélection. Perspectives Agricoles 315.

Références

- Abromeit M, Askman P, Sarnighausen E, Dorffling K (1992) Accumulation of high-molecular-weight proteins in response to cold hardening and abscisic-acid treayment in 2 winter-wheat varieties with different frost tolerance. Journal of Plant Physiology 140:617-622
- Balfourier F, Rousssel V, Strelchenko P, Exbrayat-Vinson F, Sourdille P, Boutet G, Koenig J, Ravel C, Mitrofanova O, Beckert M, Charmet G (2007) A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. Theoretical and Applied Genetics (in press)
- Bänziger M, Betran FJ, Lafite HR (1997) Efficiency of high-nitrogen selection environments for improving maize for low-nitrogen target environments. Crop Science 37:1103-1109
- Barbottin A, Lecomte C, Bouchard C, Jeuffroy M-H (2005) Nitrogen Remobilization during Grain Filling in Wheat: Genotypic and Environmental Effects. Crop Science 45:1141-1150
- Bertin P, Gallais A (2000) Genetic variation for nitrogen use effciency in a set of recombinant maize inbred lines. I. Agrophysiological results. Maydica 45:53-66
- Blanco A, Pasqualone A, Troccoli A, Di Fonzo N, Simeone R (2002) Detection of grain protein content QTLs across environments in tetraploid wheats. Plant Molecular Biology 48:615-623
- Blanco A, Simeone R, Gadaleta A (2006) Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. Theoretical and Applied Genetics 112:1195-1204
- Brancourt-Hulmel M (1999) Crop diagnosis and probe genotypes for interpreting genotype x environment interaction in winter wheat trials. Theoritical and Applied Genetics 99:1018-1030
- Brancourt-Hulmel M, Doussinault G, Lecomte C, Bérard P, Le Buanec B, Trottet M (2003) Genetic improvement of agronomic traits of winter wheat cultivars released in France from 1946 to 1992. Crop Science 43:37-45
- Cox MC, Qualset CO, Rains DW (1985) Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat II. Nitrogen assimilation in relation to grain yield and protein. Crop Science 25:435-440
- de Vienne D, Leonardi A, Damerval C, Zivy M (1999) Genetics of proteome variation for QTL characterization: application to drought-stress responses in maize. Journal of Experimental Botany 50:303-309
- Dell'Aquila A, Corona MG, Di Turi M (1988) Heat-shock proteins in monitoring aging and heat-induced tolerance in germinating wheat and barley embryos. Seed Science Research 8:91-98
- Dhugga KS, Waines JG (1989) Analysis of nitrogen accumulation and use in bread and durum wheat. Crop Science 29:1232-1239
- Dubois F, Tercé-Laforgue T, Gonzalee-Moro M-B, Estavillo J-M, Sangwan R, Gallais A, Hirel B (2003) Glutamate dehydrogenase in plants: is there a new story for an old enzyme. Plant Physiology and Biochemistry 41:565-576
- Ellis MH, Rebetzke GJ, Azanza F, Richards RA, Spielmeyer W (2005) Molecular mapping of gibberelinresponsive dwarfing genes in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics 111:423-430
- Falconer DS (1974) Introduction à la génétique quantitative. Masson, Paris
- Félix I, Bernicot M-H, Loyce C, Bouchard C, Meynard JM, Rolland B, Haslé H (2003) Une des voies pour s'adapter aux baisses de prix du blé : Des variétés rustiques conduites à faible coût. Perspectives Agricoles 290:22-29
- Félix I, Bernicot M-H, Rolland B, Loyce C, Bouchard C (2005) Quand les prix baissent : jouer la carte des variétés rustiques. Perspectives Agricoles 312:34-38
- Félix I, Loyce C, Bouchard C, Meynard JM, Bernicot M-H, Rolland B, Haslé H (2002) Associer des variétés rustiques à des niveau d'intrants réduits. Intérêt économiques et perpectives agronomiques. Perspectives Agricoles 279:30-35
- Fossati D, Fossati A, Feil B (1993) Relationship between grain yield and grain nitrogen concentration in winter triticale. Euphytica 71:115-123
- Foulkes M, Sylvester-Bradley R, Scott R (1998) Evidence for differences between winter wheat cultivars in acquisiation of soil mineral nitrogen and uptake and utilization of applied fertilizer nitrogen. Journal of Agricultural Science, Cambridge 130:29-44
- Gallais A, Coque M (2005) Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize : a synthesis. Maydica 50:521-547
- Gallais A, Coque M, Quilléré I, Prioul J-L, Hirel B (2006a) Modelling post-silking N-fluxes in maize using 15N-labeling field experiments. New Phytologist 172: 696-707
- Gauthier C (1999) Compréhension de différence variétales en matière d'absorption d'azote par le blé tendre (Triticum aestivum). Rapport de Maîtrise, INRA Laon
- Gosse G, Mérillot JM (1997) Bilans environnementaux des cultures. In: INRA (ed) Maîtrise de l'azote dans les agrosystèmes: Les colloques, pp 69-83

- Guillaumie S, Linossier L, Robert N, Bénard V, Charmet G, Ravel C (2004) Colocation between a gene encoding the bZip factor SPA and an eQTL for a high-molecular-weight glutenin subunit in wheat (Triticum aestivum). Genome 47:705-713
- Gymer PT (1978) The genetics of the six-row/two-row character. Barley Genetics Newsletter 8:44-46
- Hirel B, Andrieu B, Valadier M-H, Renard S, Quilleré I, Chelle M, Pommel B, Fournier C, Drouet J-L (2005) Physiology of maize II: Identification of physiological markers representative of the nitrogen status of maize (Zea mays L.) leaves, during grain filling. Physiologia Plantarum 124:178-188
- Hirel B, Lemaire G (2003) From agronomy and ecophysiology to molecular genetics for improving nitrogen use efficiency in crops. In: Basra A, Goyal S (eds) Efficient Nitrogen Use in Crop Production. Haworth's Food Product Press, Binghamton, New-York
- Jannink J (2005) Selective phenotyping to accurately map quantitative trait loci. Crop Science 45:901-908
- Jeuffroy M-H, Bouchard C (1999) Intensity and duration of nitrogen deficiency on wheat grain number. Crop Science 39:1385-1393
- Jeuffroy M-H, Recous S (1999) Azodyn: a simple model simulating the date of nitrogen deficiency for decision support in wheat fertilization. European Journal of Agronomy 10:129-144
- Joppa LR, Du CH, Hart GE, Hareland GA (1997) Mapping gene(s) for grain protein in tetraploid wheat (Triticum turgidum L.) using a population of recombinant inbred chromosome lines. Crop Science 37:1586-1589
- Justes E, Jeuffroy M-H, Mary B (1997) Wheat, barley and Durum wheat. In: Lemaire G (ed) Diagnosis of the nitrogen status in crop. Springer-Verlag, Berlin Heidelerg New York, pp 73-84
- Kade M, Barneix AJ, Olmos S, Dubcovsky J (2005) Nitrogen uptake and remobilization in tetraploid 'Langdon' durum wheat and a recombinant substitution line with the high grain protein gene Gpc-B1. Plant Breeding 124:343-349
- Landi P, Sanguineti M-C, Darrah LL, Giuliani MM, Salvi S, Conti S, Tuberosa R (2002) Detection of QTLs for vertical pulling resistance in maize and overlap with QTLs for root traits in hydroponics and for grain yield under different water regimes. Maydica 47:233-243
- Law CN, Payne PI (1973) Genetical aspects of breeding for improved grain protein content and type in wheat. Journal of Cereal Science 1:79-83
- Löffler CM, Rauch TL, Busch RH (1985) Grain and plant protein relationships in hard red spring wheat. Crop Science 25:521-524
- Majoul T, Bancel E, Triboi E, Hamida JB, Branlard G (2004) Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: characterization of heat-responsive proteins from non-prolamins fraction. Proteomics 4:505-513
- Martin A, Lee J, Kichey T, Gerentes D, Zivy M, Tatout C, Dubois F, Balliau T, Valot B, Davanture M, Terce-Laforgue T, Quilléré I, Coque M, Gallais A, Gonzalez-Moro M, Bethencourt L, Habash DZ, Lea PJ, Charcosset A, Perez P, Murigneux A, Sakakibara H, Edwards KJ, Hirel B (2006) Two cytosolic glutamine synthetase isoforms of maize are specifically involved in the control of grain production. Plant Cell 18:3252-3274
- Martre P, Porter JR, Jamieson PD, Triboï E (2003) Modeling grain nitrogen accumulation and protein composition to understand the sink/source regulations of nitrogen remobilization for wheat. Plant Physiology 133:1959-1967
- May L, Van Sanford DA, MacKown CT, Cornelius PL (1991) Genetic variation for nitrogen use in soft red x hard red winter wheat populations. Crop Science 31:626-630
- Mian MAR, Nafziger ED, Kolb FL, Teyker RH (1994) Root size and distribution of field grown wheat genotypes. Crop Science 34:810-812
- Miralles DJ, Katz SD, Colloca A, Slafer GA (1998) Floret development in near isogenic wheat lines differing in plant height. Field Crop Research 59:21-30
- Moll RH, Kamprath EJ, Jackson WA (1982) Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. Agronomy Journal 74:562-564
- Monaghan JM, Snape JW, Chojecki AJS, Kettlewell PS (2001) The use of grain protein deviation for identifying wheat cultivars with high protein concentration and yield. Euphytica 122:309-317
- Motzo R, Giunta F (2002) Awnedness affects grain yield and kernel weight in near-isogenic lines of Durum wheat. Australian Journal of Agricultural Research 53:1285-1293
- Ortiz-Monasterio JI, Sayre KD, Rajaram S, McMahon M (1997) Genetic progress in wheat and nitrogen use efficiency under four nitrogen rates. Crop Science 37:898-904

- Ouerghi Z, Remy R, Ouelhazi L, Ayadi A, Brulfert J (2000) Two-dimensional electrophoresis of soluble leaf proteins, isolated from two wheat species (Triticum durum and Triticum aestivum) differing in sensitivity towards NaCl. Electrophoresis 21:2487-2491
- Oury F-X, Bérard P, Brancourt-Hulmel M, Depatureaux C, Doussinault G, Galic N, Giraud A, Heumez E, Lecomte C, Pluchard P, Rolland B, Rousset M, Trottet M (2003) Yield and grain protein concentration in bread wheat: a review and a study of multi-annual data from a French breeding program. Journal of Genetics and Breeding 57:59-68
- Oury FX, Brabant P, Pluchard P, Bérard P, Rousset M (1994) Une étude de la qualité des blé hybrides à travers différents tests technologiques. Agronomie 14:377-385
- Palta JA, Fillery IRP (1995) N application increases pre-anthesis contribution of dry-matter to grain yield in wheat grown on a duplex soil. Australian Journal of Agricultural Research 46:507-518
- Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD (1988) Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. Nature 335
- Prasad M, Kumar N, Kulwal PL, Röder MS, Balyan HS, Dhaliwal HS, Gupta PK (2003) QTL analysis for grain protein content using SSR markers and validation studies using NILs in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics 106:659-667
- Qi LL, Echalier B, Chao S, Lazo GR, al. e (2004) A chromosome bin map of 16,000 expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat. Genetics 168:701-712
- Quiévreux D (1997) Réseau d'observation de parcelles de céréales. Résultats de la récolte 1997. Chambre d'Agriculture de la Somme, Amiens
- Quilot B, Génard M, Kervella J, Lescourret F (2004) Analysis of genotypic variation in fruit flesh total sugar content via an ecophysiological model apllied to peach. Theoretical and Applied Genetics 109:440-449
- Quilot B, Kervella J, Génard M, Lescourret F (2005) Analysing the genetic control of peach fruit quality through an ecophysiological model combined with a QTL approach. Journal of Experimental Botany 56:3083-3092
- Ravel C, Praud S, Murigneux A, Linossier L, Dardevet M, Balfourier F, Dufour P, Brunel D, Charmet G (2006) Identification of Glu-B1-1 as a candidate gene for the quantity of high-molecular-weight glutenin in bread wheat (Triticum aestivum L.) by means of an association study. Theoretical and Applied Genetics 112:738-743
- Reymond M, Muller B, Tardieu F (2004) Dealing with the genotypexenvironment interaction via a modelling approach: a comparison of QTL of maize leaf length or width with QTLs of model parameters. Journal of Experimental Botany 55:2461-2472
- Simmonds NW (1975) The relation between yield and protein in cereal grain. Journal of Science Food and Agriculture 67:309-315
- Sun G, Zhang X, Xiao S (2005) Proteome analysis on ABA sensitivity of wheat embryo isolated from cultivars resistant or susceptible to sprouting. Scientia Agricultura Sinica 38
- Tardieu F, Reymond M, Muller B, Granier C, Simonneau T, Sadok W, Welcker C (2005) Linking physiological and genetic analyses of the control of leaf growth under changing environmental conditions. Australian Journal of Agricultural Research 56:937-946
- Vales MI, Schon CC, Capettini F, Chen XM, Corey AE, Mather DE, Mundt CC, Richardson KL, Sandoval-Islas JS, Utz HF, Hayes PM (2005) Effect of population size on the estimation of QTL: a test using resistance to barley stripe rust. Theoritical and Applied Genetics 111:1260-1270
- Van Sanford DA, MacKown CT (1986) Variation in nitrogen use efficiency among soft red winter wheat genotypes. Theoritical and Applied Genetics 72:158-163
- Van Sanford DA, MacKown CT (1987) Cultivar differences in nitrogen remobilization during grain fill in soft red winter wheat. Crop Science 27:295-300
- Vision TJ, Brown DG, Shmoys DB, Durett RT, Tanksley SD (2000) Selective mapping: A strategy for optimizing the construction of high-density linkage maps. Genetics 155:407-420
- Worland A (1996) The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. Euphytica 89:49-57
- Zanetti S, Winzeler M, Feuillet C, Keller B, Messmer M (2001) Genetic analysis of bread-making quality in wheat and spelt. Plant Breeding 120:13-19