



**HAL**  
open science

# PRELEVEMENT ET UTILISATION DE L'AZOTE CHEZ LE RIZ ET RELATIONS AVEC LA SENSIBILITE A LA PYRICULARIOSE

Mathias Frontini

► **To cite this version:**

Mathias Frontini. PRELEVEMENT ET UTILISATION DE L'AZOTE CHEZ LE RIZ ET RELATIONS AVEC LA SENSIBILITE A LA PYRICULARIOSE. Phytopathologie et phytopharmacie. Supagro, 2021. Français. NNT: . tel-03461768

**HAL Id: tel-03461768**

**<https://hal.science/tel-03461768>**

Submitted on 1 Dec 2021

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

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

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Génétique et amélioration des plantes

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau

Portée par

**L'UMR Biologie et génétique des interactions plante-parasite (BGPI)**

Et

**L'UMR Amélioration génétique et adaptation des plantes méditerranéennes et tropicales  
(AGAP)**

## PRELEVEMENT ET UTILISATION DE L'AZOTE CHEZ LE RIZ ET RELATIONS AVEC LA SENSIBILITE A LA PYRICULARIOSE

APPROCHES GENETIQUES ET PHYSIOLOGIQUES CHEZ DES JAPONICA TEMPERES

Présentée par Mathias Frontini

Le 05 mars 2021

Sous la direction de Jean-Benoit MOREL

Et Tanguy LAFARGE

Devant le jury composé de

Jean-benoit MOREL, Directeur De Recherche INRAE

Tanguy LAFARGE, Directeur De Recherche CIRAD

Elsa BALLINI, Maître de conférence, Institut Agro

Alia DELLAGI

Jacques LEGOUIS

Pierre CZERNIC,

Francois LECOMPTE,

Arnaud BOISNARD, sélectionneur, Centre Français du Riz

Directeur de thèse

Co- Directeur de thèse

Encadrante de la thèse

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Invité



**UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER**

**l'institut Agro**  
agriculture • alimentation • environnement

Montpellier  
**SupAgro**



## Remerciements

Je tiens en tout premier lieu à remercier mes trois encadrants : Jean-Benoit MOREL, Tanguy LAFARGE et Elsa BALLINI de m'avoir offert l'opportunité d'effectuer cette thèse à leur côté. Vous m'avez beaucoup appris chacun à votre manière aussi bien scientifiquement qu'humainement. Je vous souhaite à tous bonne chance dans vos nouvelles responsabilités respectives.

Je remercie chaleureusement Alia DELLAGI et Jacques LEGOUIS, d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse, ainsi que les autres membres du jury : Pierre CZERNIC, Francois LECOMPTE, et Arnaud BOISNARD. J'espère que vous prendrez plaisir à lire ce manuscrit.

Je souhaite également exprimer ma gratitude aux membres de mon comité de thèse qui ont pris de leurs temps pour m'écouter et m'aider à orienter ma recherche : Vincent ALLARD, Antoine GRAVOT, et plus particulièrement mon référent, Alain GOJON, pour son suivi et son soutien dans les démarches de prolongement de thèse dû au confinement.

J'adresse un remerciement particulier à Claire NEEMA, directrice d'unité et membre du comité, pour son implication dans ma thèse et pour m'avoir accepté comme partenaire d'enseignement. De même je remercie Jacques DAVID pour ses conseils en génétique quantitative et pour m'avoir donné l'opportunité de l'enseigner à ses étudiants.

Merci également à mes collègues du labo 13: Aurélie pour m'avoir formé aux techniques d'extraction et de qPCR, Véronique et Isabelle pour votre dynamisme, Thomas pour tes conseils concernant *M.oryzae*, Stella et Yuxuan pour votre bonne humeur au labo. Merci aussi aux membres d'AGAP pour leur accueil lors de mes venues à Lavalette. Je voudrais en particulier exprimer ma reconnaissance à Anne et Armelle pour votre soutien aussi bien technique que moral, nos conversations m'ont fait beaucoup de bien.

Je remercie chaleureusement ceux qui se sont occupés de mes plantes : Loïc et Remy à BGPI, Christian à Lavalette, et les techniciens du CFR au champ. Sans vous mes résultats n'auraient pas été exploitables.

Un très grand merci à Henry de m'avoir accompagné en Camargue, d'avoir partagé ton expérience et tes anecdotes. J'ai passé de très bons moments à tes côtés pendant nos repas dans la brasserie de notre ami Fafa à Arles.

Mes travaux de recherche n'auraient jamais abouti sans l'appui des stagiaires qui ont accepté de travailler à mes côtés. Je suis donc extrêmement reconnaissant envers Coline, Clémence, Julie, Arthur, Jimmy, Clément et Nadège, sans vous je serais encore en train de broyer du riz et faire des qPCR.

Je ne sais pas ce qu'aurait été ma thèse sans mes amis thésards. Tout d'abords merci aux plus anciens qui m'ont accueilli en 2017 : les heureuses mamans, Coralie, Edwige et Maëlle, ainsi que les acolytes Maude et Emeline ; Kévin dont les histoires ont animé nombres de nos repas ; et enfin Faustine toujours prête à échanger sur tous les sujets. Merci aussi aux derniers venus, Marie, Melia, Alex et Margaux de nous avoir fait rire autour de la table de ping pong, parfois malgré vous. Je voudrais également citer mes deux camarades arrivés en même temps que moi, mon collègue du sud et futur papa Jérémy, et Thomas, le chercheur/brasseur que je suis navré d'avoir déçu par mon manque de fidélité au Triskel.

Toujours parmi les copains de BGPI, je voudrais également exprimer ma sympathie aux « Végétas D'Azeroth » avec qui j'ai passé de super moments en tant que maître du jeu. Donc merci à Flo et Andy pour vos avis et conseils en informatiques partagé autour d'un café ; Valentin pour ta grande philosophie et tes encouragements à la salle de sport ; Guillaume pour tes conseils lectures et les après-midi jeux de sociétés et enfin Remi pour m'avoir supporté dans le bureau 119 et pour nos longues discussion geeks, sportives, philosophiques, et parfois scientifiques (car oui en de rares occasions nous étions sérieux)<sup>1</sup>.

Merci à ma famille, et principalement mes parents pour leur soutien inconditionnel. J'espère que les circonstances vous permettront d'assister à ma soutenance qui clôturera ces trois années de travail.

Enfin je veux exprimer mon immense gratitude et toute mon affection à celle qui m'accompagne depuis maintenant quatre années. Lucie, merci d'avoir été à mes côtés pendant cette période, ton amour et tes encouragements m'ont porté et m'ont donné les moyens d'arriver au bout de ce manuscrit. Je t'aime et j'ai hâte de voir ce que l'avenir nous réserve.

---

<sup>1</sup> Je voudrais aussi ajouter un merci à la cafetière du bureau 119 et à la table de ping pong du sous-sol d'avoir soudé à ce point notre petit groupe

# Table des Matières

Remerciements.....	1
Table des Matières.....	3
Liste des Figures .....	5
Liste des Tableaux .....	6
Abréviations .....	7
<b>Introduction .....</b>	<b>9</b>
<b>I. Problématique Générale.....</b>	<b>9</b>
I.A. Le riz dans le monde, en Europe et en Camargue .....	9
I.B. Le pathosystème Riz/ <i>Magnaporthe</i> .....	11
I.C. Enjeux Economiques et Agro-Environnementaux.....	13
<b>II. Utilisation de l'azote par le riz.....</b>	<b>16</b>
II.A. La NUE (Nitrogen Use Efficiency).....	17
II.B. Les flux d'azote chez le riz .....	19
II.C. Voies d'amélioration de la NUE et diversité.....	22
<b>III. Mécanismes de défenses et types de résistance .....</b>	<b>29</b>
III.A. Généralités sur les mécanismes de défense (Figure 7).....	29
III.B. Les types de résistance.....	31
<b>IV. L'impact de l'environnement sur la résistance.....</b>	<b>37</b>
IV.A. Généralités sur les impacts de l'environnement sur les interactions plante/agent pathogène .....	37
IV.B. Cas de la Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS).....	43
<b>Projet de thèse.....</b>	<b>55</b>
Hypothèses et démarches mise en place.....	55
<b>Partie 1 : Démarche expérimentale : vue globale des expériences menées en champ et en conditions contrôlées .....</b>	<b>57</b>
<b>I. Démarche de la caractérisation de l'utilisation de l'azote au champ .....</b>	<b>59</b>
I.A. Première expérimentation au champ (été 2017) .....	59
I.B. Expériences mises en place au champs en 2018 et 2019 .....	63
<b>II. Démarche de l'analyse fonctionnelle et sa relation avec les premières approches.....</b>	<b>65</b>
II.A. Les expériences en serres 2018 et 2019 .....	65
II.B. Evaluation de la NIS de mutants de gènes candidats .....	67
<b>III. Mise en place des divers protocoles d'inoculation.....</b>	<b>67</b>
III.A. Adaptation du protocole de routine NIS .....	69
III.B. Inoculation au champ : de fortes contraintes, beaucoup de moyens pour peu de résultats.....	71
III.C. Choix des souches selon les expériences .....	73
<b>IV. Démarche pour l'analyse génétique de la NIS par GWAS .....</b>	<b>75</b>
<b>Partie 2 : Diversité de l'utilisation de l'azote chez des variétés de riz adaptées aux conditions européennes.....</b>	<b>77</b>
<b>Chapitre I : Article 1 : Post-anthesis nitrogen uptake in temperate rice, a characteristic of early-maturing genotypes, is associated with stay-green pattern and small individual leaf area .....</b>	<b>79</b>
Abstract .....	80
Abbreviations.....	80
Introduction .....	81
Methods .....	83
Results.....	89
Discussion .....	100
Conclusion .....	104

References .....	105
<i>Chapitre II : Modification de l'utilisation de l'azote et de la physiologie avec une fertilisation à 100U.....</i>	<i>109</i>
Résultats et Discussion .....	111
<i>Chapitre III : Caractérisation de l'utilisation de l'azote en conditions contrôlées.....</i>	<i>121</i>
Matériel et Méthodes.....	123
Résultats et Discussions.....	129
Discussion Générale.....	143
Conclusion .....	149
<i>Partie3 : Etude de génétique d'association de la variation de sensibilité du riz à la pyriculariose en condition de fort intrant azoté.....</i>	<i>151</i>
<i>Article 2 :Genome-wide association of rice response to blast fungus identifies loci for robust resistance under high nitrogen. ....</i>	<i>152</i>
Abstract .....	153
Background .....	154
Methods .....	156
Results.....	159
Discussion .....	167
Conclusion .....	170
References .....	172
Additional files .....	177
<i>Partie4 : Mise en relation de la NIS avec l'état physiologique en lien avec le métabolisme azoté.....</i>	<i>179</i>
Matériel et Méthodes.....	181
Résultats .....	187
Discussion .....	197
<i>Conclusion Générale .....</i>	<i>209</i>
<i>Annexes .....</i>	<i>212</i>
<i>Références Bibliographiques.....</i>	<i>221</i>

# Liste des Figures

<b>FIGURE 1</b> : PRODUCTION EN RIZ PADDY DE 1968 A 2018 (SURFACES ET RENDEMENTS).....	8
<b>FIGURE 2</b> : REPARTITION DES SURFACES RIZICOLES EN EUROPE .....	8
<b>FIGURE 3</b> DIVERSITE ET PLASTICITE DE LA SENSIBILITE DU RIZ FACE A LA PYRICULARIOSE. ....	10
<b>FIGURE 4</b> : ÉVOLUTION DE LA CONSOMMATION, DE LA PRODUCTION ET DES IMPORTATIONS DE RIZ DU CONTINENT AFRICAÏN DE 1970 A 2013.....	14
<b>FIGURE 5</b> : PRELEVEMENT ET UTILISATION DE L'AZOTE CHEZ LE RIZ (D'APRES YONEMAYA 2016).....	20
<b>FIGURE 6</b> :REGULATION DE LA REMOBILISATION DE L'AZOTE DEPUIS LES FEUILLES SENESCENTES (D'APRES XU ET AL. 2012).....	26
<b>FIGURE 7</b> : MODELE GENERAL DE L'IMMUNITE DES PLANTES FACE A L'INFECTION D'AGENTS PATHOGENES. ....	28
<b>FIGURE 8</b> : ILLUSTRATION THEORIQUE DE LA DUALITE DES RESISTANCES QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DU POINT DE VUE DE LA BIOLOGIE DES POPULATIONS ET DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE. ....	32
<b>FIGURE 9</b> : ILLUSTRATION DU CONCEPT DE LA STARVATION MEDIATED RESISTANCE (SMER) .....	36
<b>FIGURE 10</b> : MODELE HYPOTHETIQUE DE LA SENSIBILITE INDUITE PAR LA SECHERESSE. ....	40
<b>FIGURE 11</b> : MODELE PROPOSE PAR SUN AT AL. (2020) SUR L'INTERACTION ENTRE LA NUTRITION AZOTEE ET LES DEFENSES DES PLANTES. ....	44
<b>FIGURE 12</b> : NITROGEN INDUCED SUSCEPTIBILITY DE LA VARIETE KASALATH ET MAINTIEN DU NIVEAU DE SENSIBILITE DE NIPPONBARE FACE A SIX SOUCHES DE <i>M. ORYZAE</i> .....	48
<b>FIGURE 13</b> : RELATION ENTRE LES PNUE (PHYSIOLOGICAL NITROGEN USE EFFICIENCY) ET LA VALEUR NIS.....	50
<b>FIGURE 14</b> SYMPTOMES DE PYRICULARIOSE SUR DES LIGNEES MUTANTES POUR LE GENE <i>OSGS1-2</i> .....	50
<b>FIGURE 15</b> : METABOLOME DU MUTANT DE RIZ <i>OSGS1-2</i> .....	52
<b>FIGURE 16</b> : SCHEMA RECAPITULATIF DE LA DEMARCHE EXPERIMENTALE.....	58
<b>FIGURE 17</b> : DIVERSITE MORPHOLOGIQUE DE 50 GENOTYPES DE RIZ SOUMIS A UNE FERTILISATION A 150U A FLORAISON .....	60
<b>FIGURE 18</b> : VARIATION DE LA NUE AGRONOMIQUE CHEZ 44 GENOTYPES DE RIZ TEMPERES .....	62
<b>FIGURE 19</b> : PROJECTION DES 44 GENOTYPES SELON LES VARIABLES LIEES A LA NUE .....	62
<b>FIGURE 20</b> : VALEUR DE NIS EN FONCTION DES CLUSTERS DE NUE CALCULES A PARTIR DES RESULTATS DE L'EXPERIMENTATION EN CAMARGUE 2017...	66
<b>FIGURE 21</b> : CORRELATION ENTRE L'EFFICACITE DE PRELEVEMENT POST FLORAL ET LA REMOBILISATION EVALUEES EN CHAMP ET L'INVERSE DE LA NIS MESUREE AU LABORATOIRE.....	66
<b>FIGURE 22</b> : VALIDATION DU NOUVEAU PROTOCOLE NIS AVEC ENGRAIS RETARD PLUS UN SHOOT D'AZOTE .....	68
<b>FIGURE 23</b> : ÉVALUATION DE LA SENSIBILITE DES PANICULES A LA PYRICULARIOSE .....	70
<b>FIGURE 24</b> : IMPACT DE LA FERTILISATION SUR LA TAILLE MOYENNE D'UNE LESION DE PYRICULARIOSE SUR LE GENOTYPE <i>PATY</i> .....	72
<b>FIGURE 25</b> : IMPACT DE LA FERTILISATION AZOTEE SUR LE NOMBRE DE LESIONS PAR CM <sup>2</sup> SELON LA SOUCHE DE <i>M. ORYZAE</i> UTILISEE .....	74
<b>FIGURE 26</b> : <i>ARTICLE 1 FIGURE 1</i> :GENOTYPIC DIVERSITY OF GRAIN PRODUCTION AND ITS COMPONENTS .....	89
<b>FIGURE 27</b> : <i>ARTICLE 1 FIGURE 2</i> : DIVERSITY OF NITROGEN UPTAKE AND REMOBILIZATION OF TWELVE GENOTYPES IN TWO CONTRASTED YEARS.....	94
<b>FIGURE 28</b> : <i>ARTICLE 1 FIGURE 3</i> : DIVERSITY OF NITROGEN UTILIZATION FOR BIOMASS PRODUCTION AT FLOWERING AND GRAIN PRODUCTION .....	96
<b>FIGURE 29</b> : <i>ARTICLE 1 FIGURE 4</i> : PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL TRAITS.....	98
<b>FIGURE 30</b> : VARIABILITE DE LA CONCENTRATION D'AZOTE DANS LES TISSUS SELON L'ANNEE ET LE TRAITEMENT.....	110
<b>FIGURE 31</b> : EFFET DE LA FERTILISATION SUR LES COMPOSANTES DU RENDEMENT ET LA PRODUCTION DE GRAINS PAR ANNEE .....	114
<b>FIGURE 32</b> : EFFET DE LA FERTILISATION SUR LA PRODUCTION EN GRAINS DE CHAQUE GENOTYPE SELON L'ANNEE.....	114
<b>FIGURE 33</b> : DIVERSITE D'UTILISATION DE L'AZOTE SUR UN PANEL DE DOUZE GENOTYPES SUR DEUX ANNEES DANS LES CONDITIONS N100 DE FERTILISATION .....	116
<b>FIGURE 34</b> : EFFET DE LA FERTILISATION SUR LA NITROGEN UTILIZATION EFFICIENCY (NUTE).....	116
<b>FIGURE 35</b> : ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES DES VARIABLES MESUREES SUR DEUX ANNEES EN CONDITION N100 .....	118
<b>FIGURE 36</b> : CORRELATIONS ENTRE LA QUANTITE D'AZOTE POST-FLORALE PRELEVEE ET PLUSIEURS TRAITS D'INTERET SELON L'ANNEE D'EXPERIMENTATION ET LE TRAITEMENT AZOTE.....	120
<b>FIGURE 37</b> : PLAN D'EXPERIMENTATION DE L'EXPERIENCE EN SERRE 2018/2019 .....	122
<b>FIGURE 38</b> :EFFET DU TRAITEMENT AZOTE SUR L'ÉVOLUTION DE LA BIOMASSE DU STADE TALLAGE A LA MATURITE TOUT GENOTYPES CONFONDUS.....	128
<b>FIGURE 39</b> : EFFET DU TRAITEMENT AZOTEE SUR LA PRODUCTION DE GRAINS POUR CHAQUE GENOTYPE.....	130
<b>FIGURE 40</b> : DIVERSITE DE PRELEVEMENT ET D'UTILISATION DE L'AZOTE SUR UN PANEL DE NEUF GENOTYPES SELON LA QUANTITE D'AZOTE APORTE...	132
<b>FIGURE 41</b> : EFFICACITE DE REMOBILISATION (NRE) DE L'AZOTE PENDANT LE REMPLISSAGE DES GRAINS SELON LA TRAITEMENT AZOTE POUR CHACUN DES NEUF GENOTYPES.....	136
<b>FIGURE 42</b> : EFFICACITE DE PRELEVEMENT DE L'AZOTE (NUPe) POST-FLORALE SELON LES DEUX CONDITIONS AZOTEES .....	138
<b>FIGURE 43</b> : DIVERSITE DE LA NITROGEN UTILIZATION EFFICIENCY (NUTE) SELON LE TRAITEMENTS .....	140
<b>FIGURE 44</b> : EFFET DU TRAITEMENT AZOTE SUR LA NITROGEN USE EFFICIENCY (A) ET LES CONSEQUENCES SUR L'AGRONOMIQUE NUE (B) POUR CHACUN DES 9 GENOTYPES .....	140
<b>FIGURE 45</b> : MATRICE DE CORRELATION DES VARIABLES PHYSIOLOGIQUES PAR TRAITEMENT .....	142
<b>FIGURE 46</b> : RELATION ENTRE LE PRELEVEMENT D'AZOTE POST-FLORAL ET L'ESTIMATION DE LA FORCE DE PUIITS .....	146
<b>FIGURE 47</b> : FLUX THEORIQUES D'AZOTE D'UNE DES QUATRE DERNIERES FEUILLES LORS DU REMPLISSAGE DES GRAINS (MODIFIE D'APRES YONEYAMA 2016) .....	148
<b>FIGURE 48</b> : SCHEMA BILAN DE L'UTILISATION DE L'AZOTE ESTIME A DES RESULTATS OBTENUS DANS CETTE PARTIE A L'ÉCHELLE DE LA PLANTE ENTIERE POUR DES JAPONICA TEMPERES ETUDIES .....	150
<b>FIGURE 49</b> : <i>ARTICLE 2 FIGURE 1</i> :DISEASE SUSCEPTIBILITY AGAINST CD203 ISOLATE IN TWO NITROGEN ENVIRONMENTS .....	160
<b>FIGURE 50</b> : <i>ARTICLE 2 FIGURE 2</i> :MANHATTAN PLOTS FROM GENOME-WIDE ASSOCIATION MAPPING OF RICE BLAST SUSCEPTIBILITY UNDER CONTRASTED NITROGEN FERTILIZATION AND OF THE NIS INDEX.....	162
<b>FIGURE 51</b> : <i>ARTICLE 2 FIGURE 3</i> :GENETIC DETAILS AND PHENOTYPIC ASSOCIATIONS OF THE THREE LOCI CONTROLLING NIS TO <i>M. ORYZAE</i> IN TEMPERATE JAPONICAS .....	164
<b>FIGURE 52</b> : <i>ARTICLE 2 FIGURE 4</i> : ADJUSTED NIS INDEX FOR NIS3 IN VALIDATION POPULATION .....	166
<b>FIGURE 53</b> : DISPOSITIF EXPERIMENTAL .....	182
<b>FIGURE 54</b> : VARIATION DE SENSIBILITE A LA PYRICULARIOSE SELON LE NIVEAU D'AZOTE APORTE .....	188
<b>FIGURE 55</b> : NIVEAU D'EXPRESSION DES GENES <i>POX223</i> ET <i>PBZ1</i> .....	188
<b>FIGURE 56</b> : RELATION ENTRE LA NIS ET LA QUANTITE D'AZOTE PRELEVEE APRES FLORAISON.....	190
<b>FIGURE 57</b> : NIVEAU D'EXPRESSION DE <i>OSGS1;3</i> SELON LE PHENOTYPE NIS ET LA QUANTITE D'AZOTE APORTEE.....	190



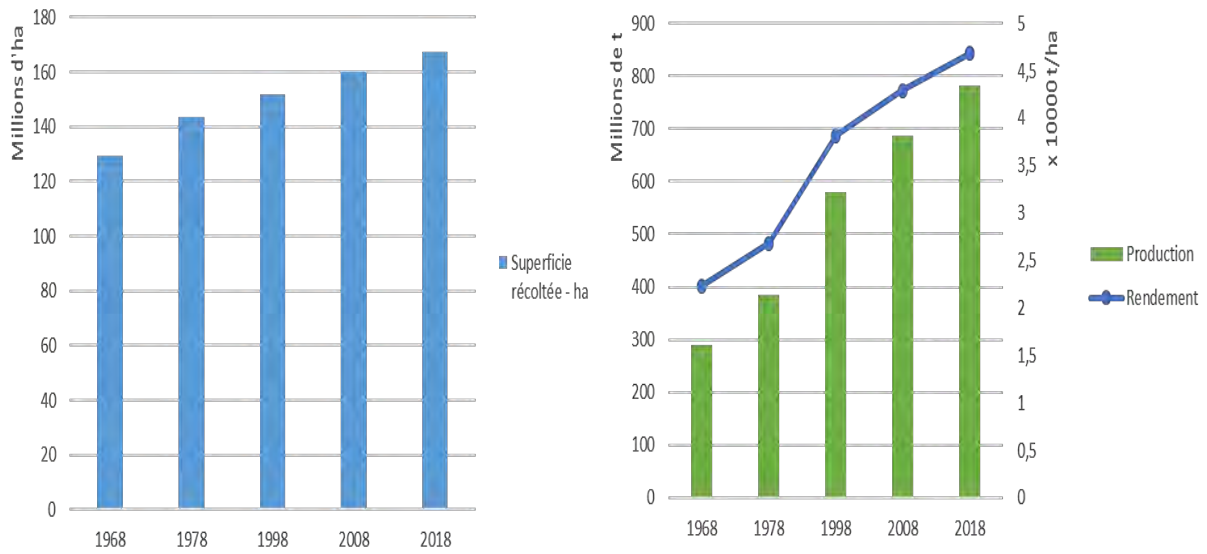
<b>FIGURE 58</b> : IMPLICATION DE L'ALANINE DANS LA NIS .....	192
<b>FIGURE 59</b> : EVOLUTION DU NIVEAU D'EXPRESSION DE <i>OsALAAT</i> ET DE <i>HvALAAT</i> .....	192
<b>FIGURE 60</b> : MATRICE DE CORRELATION D'UN SOUS-ENSEMBLE DES VARIABLES MESUREES .....	194
<b>FIGURE 61</b> : RELATIONS ENTRE LA MODIFICATION EN CONCENTRATION DES METABOLITES SUITE A L'APPORT AZOTE ET LA NIS .....	196
<b>FIGURE 62</b> : PROJECTIONS COMBINEES DES INDIVIDUS ET DES VARIABLES DES PLSDA CALCULEES POUR CHAQUE RANG DE FEUILLE.....	198
<b>FIGURE 63</b> : COMPARAISON DE LA SENSIBILITE ET DES PROFILS METABOLIQUES DE CIGALON ET PACO AVEC UNE PARTIE DE LEUR METABOLOME .....	200
<b>FIGURE 64</b> : DIFFERENCE DE DEVELOPPEMENT RACINAIRE DE 56 GENOTYPES EN FONCTION DES HAPLOTYPES MAJORITAIRES DE QTLs DETECTES DANS LA PARTIE 3 .....	202
<b>FIGURE 65</b> : IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LES MECANISMES DE DEVELOPPEMENT DE <i>M. ORYZAE</i> .....	204
<b>FIGURE 66</b> : CROISSANCE DE <i>M. ORYZAE</i> AUGMENTEE PAR L'AZOTE (BALLINI ET AL. 2013) .....	206
<b>FIGURE 67</b> : HYPOTHESE DES LIENS PHYSIOLOGIQUES ENTRE L'UTILISATION DE L'AZOTE ET LA NIS .....	210

## Liste des Tableaux

<b>TABLEAU 1</b> : LISTES DE GENES UTILISES POUR AMELIORER LA NUE PAR DES APPROCHES TRANSGENIQUES ET IMPLIQUES DANS LE CYCLE GS-GOGAT....	24
<b>TABLEAU 2</b> : IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT AZOTE SUR LA GRAVITE DE PLUSIEURS MALADIES. ....	44
<b>TABLEAU 3</b> : ENZYMES OU COMPOSES LIES A LA DEFENSE ET REGULES PAR L'AZOTE. ....	46
<b>TABLEAU 4</b> : RECAPITULATIF DES GENOTYPES RETENUS POUR LE PROJET AVEC LEURS CARACTERISTIQUES .....	64
<b>TABLEAU 5</b> :LIST OF TRAITS MEASURED .....	84
<b>TABLEAU 6</b> : BIOMASSES PRODUCTIONS AND PARTIONNING AMONG TWO YEARS FOR EACH GENOTYPES.....	92
<b>TABLEAU 7</b> :MOYENNES DES CARACTERES MESURES EN N100 ET LEUR DIFFERENTIEL AVEC LA MODALITE N150 PAR ANNEE .....	112
<b>TABLEAU 8</b> : RESULTATS DES ANOVAS EFFECTUEES SUR LA PRODUCTION DE GRAINS, ET LES TROIS COMPOSANTES DU RENDEMENT .....	112
<b>TABLEAU 9</b> : RESULTATS ANOVA DU MODELE UTILISE SUR LES CARACTERES D'UTILISATION DE L'AZOTE.....	114
<b>TABLEAU 10</b> :LISTE DES GENOTYPES ETUDIES CLASSES PAR PHENOLOGIE MOYENNE .....	122
<b>TABLEAU 11</b> : TAUX D'AZOTE DANS LES FEUILLES ET LES TIGES A TALLAGE ET A FLORAISON, ET DANS LES PAILLES ET LES GRAINS A MATUREITE .....	128
<b>TABLEAU 12</b> EFFET DU TRAITEMENT AZOTEE SUR LES COMPOSANTES DU RENDEMENTS. ....	130
<b>TABLEAU 13</b> : LISTE DES MOLECULES RECHERCHEES ET DETECTEES PAR L'ANALYSE HPLC METABOLOMIQUE .....	184
<b>TABLEAU 14</b> : LISTE DES GENES DONT L'EXPRESSION EST MESUREE PAR ANALYSE RT-QPCR .....	184

## Abréviations

<b>%N_Gr</b> : Taux d'azote dans les grains	<b>N1</b> : Traitement azote
<b>%N_Leaf</b> : Taux d'azote dans les feuilles	<b>N100</b> : Traitement 2*50U au champ
<b>%N_Stem</b> : Taux d'azote dans les tiges+gainnes	<b>N150</b> : Traitement 3*50U au champ
<b>%N_Straw</b> : Taux d'azote dans les pailles	<b>NADH</b> : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduite
<b>1000GrDW</b> : Poids de 1000 grains	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b> : Ammonium
<b>AA</b> : Acide Aminé	<b>NiR</b> : Nitrite Reductase
<b>ABA</b> : Acide Abscisique	<b>NIRS</b> : Near Infra-Red Spectrum
<b>ACP</b> : Analyses en Composantes Principales	<b>NIS</b> : Nitrogen Induced Susceptibility
<b>AlaAT</b> : Alanine aminotransferase	<b>NLR</b> : Nucleotide-Binding Site Leucine Rich Repeat
<b>AMT</b> : Ammonium transporter	<b>NO</b> : Oxyde Nitrique
<b>ANUE</b> : Agronomic NUE	<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b> : Nitrite
<b>ATP</b> : Adénosine TriPhosphate	<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b> : Nitrate
<b>Avr</b> : Avirulence	<b>NR</b> : Nitrate Reducase
<b>BR</b> : Brassinostéroïdes	<b>NRE</b> : Nitrogen Remobilization Efficiency
<b>CDPK</b> : Calcium-Dependent Protein Kinases	<b>NRT</b> : Nitrate transporter
<b>CeBIP</b> : Chitin elicitor binding protein	<b>NUE</b> : Nitrogen Use Efficiency
<b>CERK</b> : Chitin elicitor receptor kinase	<b>NUpE</b> : Nitrogen Uptake Efficiency
<b>CK</b> : Cytokinine	<b>NUtE</b> : Nitrogen Utilization Efficiency
<b>Dim</b> : Dimension	<b>P</b> : Phosphore
<b>DIS</b> : Drought-Induced Susceptibility	<b>Pa_Length</b> : Longueur de panicules
<b>DR</b> : Defense Regulator	<b>PAL</b> : Phenylalanine Ammonia-Lyase
<b>DW_Translo</b> : Biomasse remobilisée après floraison	<b>PAMP</b> : Pathogen Molecular Patterns
<b>DWlf</b> : Biomasse des feuilles	<b>PanNB</b> : Nombre de panicules
<b>DWSt</b> : Biomasses des tiges+gainnes	<b>phi_Assim</b> : Assimilation de Co2
<b>ETI</b> : Effector-Triggered Immunity	<b>phi_Gs</b> : Conductance en vapeur d'eau
<b>ETI</b> : Ethylène	<b>phi_Transp</b> : Evapotranspiration
<b>Fd</b> : Ferredoxine	<b>PNUE</b> : Physiological NUE
<b>FiRate</b> : Taux de remplissage	<b>POD</b> : Peroxydase
<b>GA</b> : Gibbéréline	<b>Post_DW_Acc</b> : Biomasse accumulée après floraison
<b>GABA</b> : Gamma-aminobutanoic acid	<b>PR</b> : Pathogenesis Related
<b>Gln</b> : Glutamine	<b>Pre_DW_Accu</b> : Biomasse accumulée avant floraison
<b>Glu</b> : Glutamate	<b>PRR</b> : Pattern Recognition Receptors
<b>GOGAT</b> : Glutamine 2-Oxaloglutamate Amino Transférase	<b>PTI</b> : PAMP-Triggered Immunity
<b>GP</b> : Production de grain	<b>QTL</b> : Quantitative trait loci
<b>Gr.NUE</b> : NUE calculée sur la base du GP	<b>R</b> : Résistance
<b>GS</b> : Glutamine Synthetase	<b>RLK</b> : Receptor Like Kinase
<b>GWAS</b> : Genome Wide Association	<b>RNS</b> : Reactive nitrogen species
<b>HI</b> : Indice de récolte/Harvest index	<b>ROS</b> : Reactive oxygen species
<b>HR</b> : Réaction Hypersensible	<b>S</b> : Soufre
<b>IAA</b> : Indole-3-acetic acid	<b>SA</b> : Acide Salicylique
<b>JA</b> : Acide Jasmonique	<b>SG_Lf</b> : Stay-Green leaves → nombre de feuilles vertes
<b>K</b> : Potassium	<b>ShDW</b> : Biomasse aérienne
<b>LA1ind/LA_FD</b> : Surface foliaire individuelle de la feuille drapeau	<b>Si</b> : Silice
<b>LYP</b> : LysM domain-containing protein	<b>SPAD</b> : Soil and Plant Analyze Developments
<b>MAPK</b> : Mitogen-activated protein kinase	<b>Till.Eff</b> : Efficience de tallage
<b>N</b> : Azote/Fertilisation Normale engrais retard	<b>TillNB</b> : Nombre de talles
<b>N/2</b> : Fertilisation contraignante engrais retard	<b>U</b> : Unité d'Azote (kg/ha)
<b>N_Rem0</b> : Quantité d'azote remobilisé	
<b>N_up_post</b> : Quantité d'azote prélevé après floraison	
<b>N_up_pre/N_Flo</b> : Quantité d'azote prélevé avant floraison	
<b>N+1</b> : Fertilisation Normale engrais retard + fertilisation liquide	
<b>N0</b> : Traitement sans azote	



**Figure 1 : Production en riz paddy de 1968 à 2018 (Surfaces et rendements)**

*A gauche : Surface de riz cultivée dans le monde, par tranche de 10 ans de 1968 à 2018*

*A droite : Production (barres vertes) et rendement moyen (ligne bleue) de riz dans le monde par tranche de 10 ans de 1968 à 2018*

*Source : FAO 2020*



**Figure 2: Répartition des surfaces rizicoles en Europe**

*Les régions où la riziculture est présente sont représentées en vert (Kraehmer et al. 2017).*

1

# Introduction

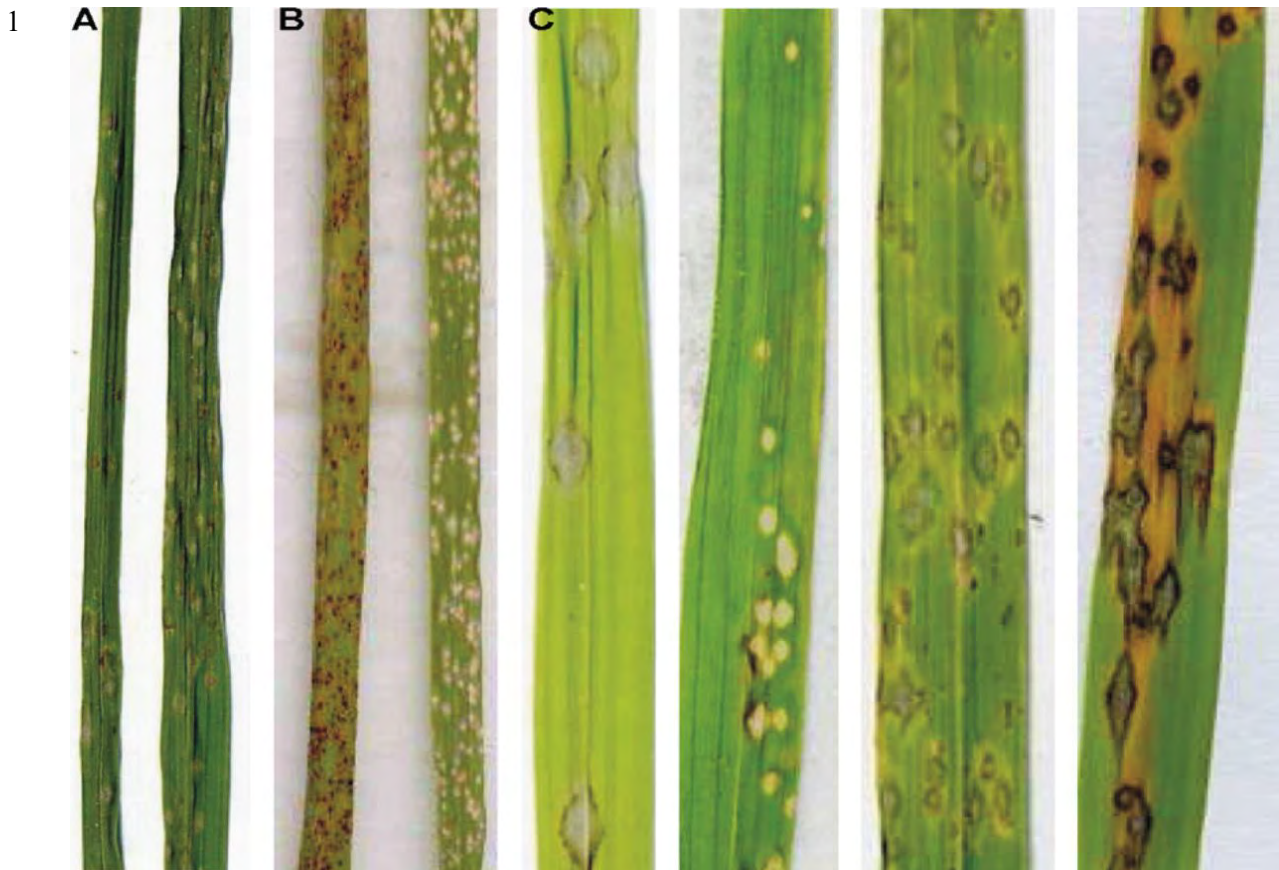
## 2 I. Problématique Générale

### 3 I.A. Le riz dans le monde, en Europe et en Camargue

4 Le riz, *Oryza sativa*, est la troisième céréale la plus produite dans le monde après le maïs et le  
5 blé, avec une production mondiale de 780 millions de tonnes en 2018. La production rizicole mondiale  
6 a connu une croissance extrêmement forte au cours des cinquante dernières années avec une  
7 augmentation de près de 300% entre 1968 et 2018 (FAO, 2020). Cet accroissement de la production  
8 vient principalement de l'amélioration des rendements qui ont doublé pendant cette période (de 2 à 4  
9 t/ha au niveau mondial) associée à une légère augmentation des surfaces cultivées (**Figure 1**). L'Asie  
10 domine l'économie du riz, avec 90% des surface cultivées (Courtois 2007). Les productions chinoise,  
11 indienne, et indonésienne assurent respectivement 27%, 22% et 10% de la production mondiale (FAO,  
12 2020). Les 10% de surfaces rizicoles restantes sont partagées majoritairement entre l'Amérique du Sud  
13 et l'Afrique.

14 À une toute autre échelle on retrouve une activité rizicole dans certains pays d'Europe  
15 méridionale, principalement en Espagne et en Italie avec 105 000 et 220 000 ha cultivés (FAO, 2020)  
16 ce qui représente plus de 75% de la surface rizicole européenne (**Figure 2**). La sous espèce *japonica*  
17 *tempérée* est majoritaire sous ces latitudes, notamment du fait de son adaptation au climat méditerranéen.  
18 (Kraehmer, Thomas, et Vidotto 2017).

19 La France possède un bassin de production bien plus modeste avec seulement 13 000 ha en  
20 2018. La majeure partie de cette surface se situe en Camargue dans le sud-est du pays. Le delta  
21 camarguais se positionne entre les deux bras du Rhône et le littoral. La zone comprend 40% de surfaces  
22 cultivables ; dunes, marais salants et étangs occupant le reste de la surface (J.M Barbier et Mouret 1992).  
23 La culture de riz, bien qu'emblématique de la région, n'est plus majoritaire depuis plusieurs années avec  
24 un déclin de 5000 ha entre 2008 et 2018, principalement dû aux contraintes économiques. Toutefois le  
25 riz reste une culture indispensable à la zone avec l'inondation des parcelles irriguées qui favorise le  
26 dessalage des sols et permet l'implantation d'autres cultures. Enfin la Camargue est également un Parc  
27 Naturel où la culture du riz a su trouver sa place dans les enjeux agroécologiques que ce type de structure  
28 implique (Beau 1975; J.M Barbier et Mouret 1992; Matheve et al 2002).



### Figure 3 Diversité et plasticité de la sensibilité du riz face à la pyriculariose.

(A) La sensibilité des feuilles dépend de l'âge : feuille de 3 semaines (à gauche) et feuille de 2 semaines (à droite) de Nipponbare infectées par l'isolat FR13.

(B) La fertilisation augmente considérablement la sensibilité de Maratelli à la souche IT20 : sans engrais (à gauche), avec engrais (à droite).

(C) Diversité morphologique des symptômes de sensibilité selon l'interaction cultivar/souche. De gauche à droite : Nipponbare/FR13, IR64/PH14 Nipponbare/CL26, IR64/CL26.

Toutes les photos ont été prises 5 jours après l'inoculation.

D'après Hirsch et al. 2008

**I.B. Le pathosystème Riz/*Magnaporthe*****I.B.1. Contexte**

Le riz, comme la plupart des plantes cultivées, est constamment exposé à divers stress biotiques provoqués par des organismes pathogènes (champignons, bactérie, virus, nématodes, insectes...) ou ravageurs qui le parasitent, perturbant sa croissance et sa reproduction. La relation entre les plantes et les agents pathogènes résulte de millions d'années de coévolution où chacune des deux parties a développé des mécanismes pour assurer sa survie. L'objectif de l'agent pathogène est de détourner les ressources de la plante afin d'assurer son cycle, soit en parasitant les cellules de la plante au moins jusqu'à la fin de l'infection (**biotrophes** et **hémibiotrophes**), soit en détruisant directement la cellule (**nécrotrophes**).

Une des principales maladies du riz est la pyriculariose, causée par un ascomycète, *Pyricularia oryzae* (syn. *Magnaporthe oryzae*), qui peut provoquer des pertes de rendements allant jusqu'à 50% (Khush et Jena 2009 in X. Wang et Valent 2009). Cet agent pathogène est présent dans toutes les zones de production du riz, avec une intensification de son développement dans les cultures irriguées à de forts niveaux d'intrants azotés. L'impact de la maladie est relativement moindre dans les zones tempérées et/ou en altitude (Khush et Jena 2009). La pyriculariose peut se manifester sur l'ensemble des organes aériens du riz tout au long de son cycle. Les symptômes sur feuilles se caractérisent par des lésions vert foncé en forme de losange (**Figure 3**, Hirsch et al. 2008, Bastiaans 1991). La maladie provoque une mauvaise circulation des éléments nutritifs et une chute de la photosynthèse, déclenchant *in fine* la mort des cellules (Fernandez et Orth 2018) et provoquant indirectement des chutes de rendements. *M. oryzae* peut également attaquer directement les inflorescences : D'une part la maladie peut toucher la tige au niveau du début de l'inflorescence et d'autre part elle peut toucher directement les grains (Titone et al. 2015, Zhu et al. 2005)

**I.B.2. Biologie de *M. oryzae***

*M. oryzae* est un champignon ascomycète considéré comme hémibiotrophe avec une phase biotrophe au début du cycle infectieux. La première étape de ce cycle est la fixation de la spore à la feuille. Après avoir germé le champignon va développer une structure spécialisée, l'appressorium, lui permettant de pénétrer les tissus de l'hôte par pression physique. Une fois les tissus perforés, dans un premier temps *M. oryzae* colonise le milieu intracellulaire sans laisser de trace visible. Pendant cette phase, le champignon déploie un arsenal moléculaire afin d'atténuer les défenses de la plante et de détourner ses mécanismes physiologiques pour accumuler des nutriments dans la zone infectée (Fernandez et Orth 2018). Quatre à cinq jours après pénétration le champignon rentre dans sa phase nécrotique, détruisant les cellules colonisées et faisant apparaître les lésions. Enfin 6 à 15 jours après pénétration, les fructifications se forment en surface pour générer 2000 à 6000 spores/lésions/jours pendant près de 15 jours. Ces spores seront ensuite dispersées par l'eau de pluie ou le vent pour entamer

1 un nouveau cycle (Yan et Talbot 2016). *M. oryzae* se développe préférentiellement sous une forte  
2 humidité et sous des températures comprises entre 18 et 25°C. Plusieurs jours de pluie suivis de journées  
3 chaudes et ensoleillées réunissent ces conditions et représentent un risque maximal d'infection.

#### 4 *I.B.3. Lutte contre la pyriculariose*

5 De nombreuses méthodes de lutte ont dû être développées afin d'atténuer les pertes. On peut  
6 discerner la lutte chimique visant à attaquer directement le champignon après son implantation, et les  
7 méthodes de contrôle dites d'atténuation consistant à limiter les conditions favorables à son  
8 implantation, soit par prophylaxie soit en utilisant la résistance propre à la plante.

##### 9 *a) Lutte directe*

10 La méthode directe face à *M. oryzae* reste la lutte chimique. Il existe de nombreux fongicides  
11 (pyroquilone, iprobenfose, bénomyle, isoprothiolane, diclocymète, édifenphose, probenazole,  
12 carpropamide et autres). Plus minoritairement, il est possible d'utiliser des extraits végétaux (Aloea vera,  
13 ail, tabac, gingembre etc..) ayant des vertus fongicides (Miah et al. 2017). Certains de ces produits  
14 fongicides peuvent également être appliqués sur les graines avant le semis. Pour ce qui est de la lutte en  
15 plein champ, les impacts environnementaux et sanitaires potentiels qu'induisent ces produits tendent à  
16 faire diminuer les volumes utilisés. De plus comme de nombreux autres agents phytopathogènes, *M.*  
17 *oryzae* est capable d'évoluer très rapidement, rendant inefficaces les produits utilisés depuis longtemps  
18 (Kimura et Fukuchi 2018). Ainsi de nombreux modèles épidémiologiques existent afin d'affiner les  
19 prises de décisions sur les produits, la dose et le moment d'application (Katsantonis et al. 2017). Les  
20 contraintes de la lutte chimique ont également permis l'essor de la lutte biologique via l'utilisation de  
21 micro-organismes ayant un effet antagoniste. Plusieurs micro-organismes antagonistes de *M. oryzae* ont  
22 montré un effet inhibiteur significatif sur le développement du champignon au champ (Yang et al. 2008),  
23 la souche LZ16 de *Staphylococcus sp.* (Yu et al. 2013) ou le cocktail *Trichoderma*  
24 *harzianum*/*Pseudomonas fluorescens* (Jambhulkar et al. 2018).

##### 25 *b) Lutte par atténuation*

26 Les méthodes de contrôle par atténuation ont un impact sur la plante hôte et/ou sur  
27 l'environnement et ainsi réduisent l'infection. Ainsi on peut compter dans le contrôle de *M. oryzae*  
28 diverses techniques visant tout d'abord à réduire les quantités d'inoculum primaire par la destruction  
29 des résidus de la culture précédente et par la sélection de lots de graines sains (Miah et al. 2017). Les  
30 pratiques culturales jouent également un rôle dans la protection du riz, comme par exemple le choix  
31 d'une date de semis adaptée, qui évite de synchroniser le cycle d'un cultivar sensible avec celui de  
32 l'agent pathogène. Il est ainsi recommandé dans les pays tropicaux de planter les variétés de riz sensibles  
33 en début de saison afin que la plante soit suffisamment développée lors de la phase critique du  
34 développement du champignon (Filippi et Prabhu 1997). Les choix concernant l'irrigation et la nutrition  
35 sont également importants. Ainsi des études ont montré que la pratique de l'agriculture de conservation

1 avait un impact positif sur la résilience d'un système rizicole face à la pyriculariose (Dusserre et al.  
2 2017; Sester M. et al. 2014). L'utilisation d'autres espèces/variétés en co-culture avec le riz permettent  
3 également de ralentir la propagation du champignon en cas d'épidémie (Raboin et al. 2012; Boudreau  
4 2013).

### 5 *c) Lutte basée sur la résistance du riz*

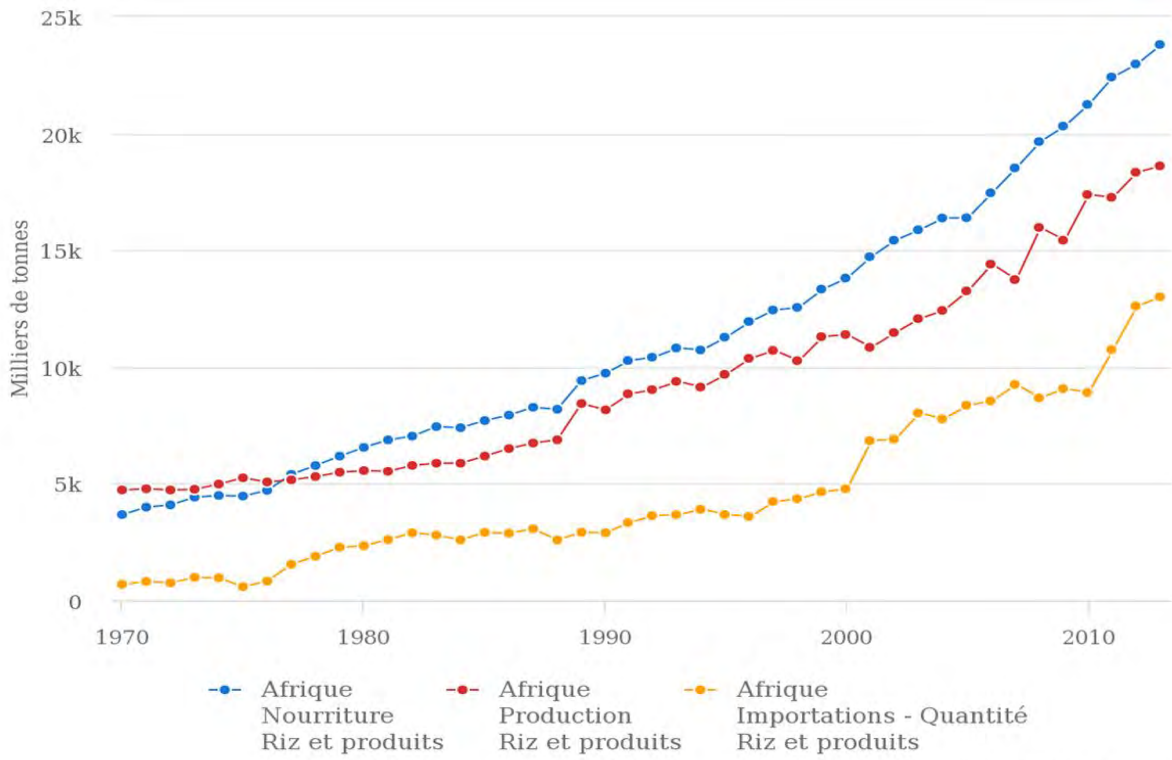
6 La dernière méthode de contrôle consiste en l'utilisation de la résistance naturelle de la plante.  
7 Ainsi à ce jour une centaine de gènes/allèles et 500 « quantitative trait loci » (QTLs) de résistance ont  
8 été découverts chez le riz face à *M. oryzae* (W. Li et al. 2019). Par ailleurs, plusieurs composés tels que  
9 le probenazole (Iwata 2001), le benzothiadiazole (Shimono et al. 2007), l'isotianyl (Ogawa et al., s. d.)  
10 ou des dérivés de chitine (Kaku et al. 2006; Kishimoto et al. 2010) sont utilisés pour induire les défenses  
11 du riz, en amont d'une potentielle attaque de pyriculariose rendant les plantes plus résistantes. La  
12 connaissance des mécanismes génétiques et cellulaires dans les interactions entre le riz et *M. oryzae* a  
13 permis l'élaboration de ces produits ainsi que l'amélioration de la résistance intrinsèque des nouvelles  
14 variétés de riz.

## 15 **I.C. Enjeux Economiques et Agro-Environnementaux**

16 Le riz constitue la base de l'alimentation de nombreux pays du Sud, si bien qu'il est la céréale  
17 non transformée la plus consommée au monde avec 81 kg/personne/an en 2017 (FAO, 2020). La  
18 croissance démographique des pays producteurs de riz implique le besoin d'assumer leur sécurité  
19 alimentaire mais aussi d'assurer une production répondant à la demande croissante des exportations  
20 (FAO, 2020). En effet l'Afrique est le continent qui subit la dynamique démographique la plus  
21 importante. Le riz est devenu une des denrées de base de l'alimentation des populations de ce continent.  
22 Ses besoins dépassent ses capacités de production, ce qui explique l'augmentation des importations  
23 depuis 1970 (**Figure 4**). Au contraire la Chine, premier pays producteur, auto-suffisant et fournissant  
24 28% des exportations mondiales, pourrait continuer à s'auto-alimenter et à fournir du riz au monde  
25 jusqu'en 2030 grâce à l'augmentation des rendements (N. Deng et al. 2019). La qualité nutritive est  
26 également un enjeu de taille. Le riz est une céréale assez pauvre en protéines et vitamines ce qui, ajouté  
27 à sa part prépondérante dans l'alimentation de certains pays, induit de nombreux problèmes de mal  
28 nutrition (Ferrero et Vidotto 2007).



1



Source: FAOSTAT (oct. 15, 2020)

**Figure 4 : Evolution de la consommation, de la production et des importations de riz du continent Africain de 1970 à 2013**

*En bleu : Consommations annuelle ; En rouge : productions annuelle ; En jaune : importations annuelle*

*Toutes les valeurs illustrées représentent le cumul annuel à l'échelle du continent.*

FAO 2020

1 La riziculture camarguaise, à son échelle, fait également face à ses propres enjeux. Elle s'est  
2 implantée dans ce territoire après la seconde guerre mondiale, permettant alors d'atténuer la pénurie de  
3 l'époque en denrées alimentaires. La culture du riz s'est alors développée, accompagnée de grands  
4 travaux pour la faire cohabiter avec les activités déjà présentes sur le territoire, la vigne et les marais  
5 salants. Cet âge d'or de la riziculture camarguaise a pris fin au début des années 60 avec la mise en  
6 application des accords du marché agricole commun dans le cadre la riziculture. Les surfaces et la  
7 production ont été divisées par huit, pour atteindre 4 000 ha et 18 000 t produites en 1980. Ce déclin  
8 provoquera la dégradation des aménagements de drainage et d'apports en eau douce (principalement  
9 financés par l'activité rizicole) impliquant une aggravation des pertes de production mais aussi une  
10 salinisation préoccupante des cours d'eau, marais et étangs. C'est au début des années 1980 qu'a eu lieu  
11 la relance du riz de Camargue avec le soutien logistique et financier du récent Parc Naturel Régional et  
12 l'appui du syndicat des riziculteurs qui a défendu la filière au niveau des instances européennes. C'est  
13 dans ce contexte que s'est développée une recherche française sur le riz avec la création du Centre  
14 Français du Riz avec le soutien de l'INRA et du CIRAD (J.M Barbier et Mouret 1992)

15 Depuis les années 2010, le riz Camarguais, malgré une production fluctuante (de 140 000 à 73  
16 000 t entre 2010 et 2018), tente de se faire une place sur le marché français qui a atteint 500 000 tonnes  
17 vendues sur l'année 2017/2018 (France AgriMer 2019), ceci dans un contexte de diminution de prix du  
18 riz causée par la forte augmentation de la production asiatique des 50 dernières années. Enfin les  
19 performances économiques des exploitations enregistrées en 2012 variaient de -181€ à 1414 € avec une  
20 médiane à 614 €. Cette forte variabilité illustre l'aspect incertain de la production de certains  
21 agriculteurs. Ces derniers subissent d'une part des coûts de production plus élevés que ceux des  
22 concurrents espagnols et italiens, et d'autres part des contraintes environnementales et des aléas  
23 climatiques qui pénalisent des rendements face la concurrence européenne. A ce jour, les riziculteurs  
24 camarguais restent dépendants des aides publiques qui sont également fluctuantes sur leur montant et  
25 sur leurs critères d'attribution (Mouret et Leclerc 2017).

26 La culture du riz doit également s'adapter aux nombreux problèmes environnementaux qu'elle  
27 génère au niveau mondial. En effet, la riziculture et l'industrie qui en découle, sont connues pour être  
28 des sources non négligeables d'émissions de gaz à effet de serre et de consommation d'eau et d'intrants  
29 (Arunrat et Pumijumnong 2017). Le gaz à effet de serre le plus prépondérant dans le cas du riz est le  
30 méthane. Sa production est le fait de la dégradation anaérobie de la matière organique par certaines  
31 bactéries qui sont favorisées dans les parcelles immergées. Ce phénomène est si important que la  
32 riziculture représente plus de 35% des émissions agricoles de méthane (de Miranda et al. 2015).  
33 L'utilisation des intrants azotés en riziculture représentent 16% des applications mondiales (Ladha et al.  
34 2016). Or en condition inondée, l'absorption d'azote par le riz est peu efficace, avec 30-35% des apport  
35 prélevés (L. Zhao et al. 2010). Le reste est soit lessivé sous forme de nitrate ou d'ammonium, soit

1 volatilisé sous forme de  $N_2$  ou d'oxyde de nitrate (Ghosh et Bhat 1998). Ces pertes d'azote entraînent à  
2 la fois un gaspillage énergétique lors de la fabrication des engrais, des émissions de gaz à effet de serre  
3 ( $N_2O$ ), et une pollution des eaux impliquant d'importants phénomènes d'eutrophisation (Vinod et Heuer  
4 2012; Zhou et Hosomi 2008).

5 La riziculture dans le delta camarguais produit des impacts similaires, en particulier  
6 pour la qualité des cours d'eau. Après les années 2000, les doses d'azote étaient de l'ordre de 150 unités  
7 ( $1U = 1 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) et habituellement appliquées sous forme de fumure. Celles-ci étaient divisées en  
8 fertilisation de fond (2/3 avant semis, légèrement enfouis avant inondation) et fertilisation de couverture  
9 (1/3 en phase végétative après inondation). Toutefois les conséquences environnementales dues à la  
10 fertilisation azotée ont induit un changement de pratiques, avec des apports plus fractionnés tout au long  
11 du cycle de la plante, ce qui a permis une diminution des apports totaux. Le fractionnement est valable  
12 aussi bien avec des engrais minéraux (l'urée étant le plus préconisé) qu'avec des engrais organiques  
13 adaptés à l'agriculture biologique. Enfin le développement des pratiques de fertilisations organiques  
14 (enfouissement des pailles, engrais vert, inondation hivernale des parcelles...) soulève de nouvelles  
15 questions sur les émissions de gaz à effet de serres dues à ces pratiques (Mouret et Leclerc 2017, 168-73).

## 16 II. Utilisation de l'azote par le riz

17 L'azote est un élément crucial pour le développement des plantes. Il s'agit d'un des constituants  
18 essentiels des molécules fondamentales du vivant (acides nucléiques, peptides et protéines). La  
19 disponibilité en azote du sol est un facteur clé pour le développement, la croissance et la performance  
20 des cultures (Xu et al. 2012). Seules les formes minérales de l'azote comme l'ammonium et le nitrate  
21 peuvent être prélevées par les racines de la majeure partie des plantes cultivées, avec une préférence  
22 pour le nitrate (Li et al 2017). Ces éléments peuvent être déjà présents dans le sol grâce à la dégradation  
23 de la matière organique, naturellement présente ou amenée sous forme de fumier, de lisier ou autres.  
24 Cependant une quantité supplémentaire est souvent apportée directement en tant qu'engrais minéral.  
25 L'intensification de la fertilisation azotée minérale au cours de la deuxième moitié du XXème siècle a  
26 permis une forte augmentation des rendements de l'ensemble des espèces cultivées, notamment les  
27 céréales (Han et al. 2015). Toutefois les problématiques environnementales décrites précédemment,  
28 ajoutées au fait que les engrais azotés deviennent de plus en plus chers (Robertson et Vitousek 2009)  
29 impliquent de trouver des alternatives à ces méthodes de production. L'amélioration de **l'Efficacité**  
30 **d'Utilisation de l'Azote, ou NUE** (Nitrogen Use Efficiency) pourrait être un des leviers permettant de  
31 réduire les intrants azotés tout en maintenant les rendements.

## II.A. La NUE (Nitrogen Use Efficiency)

### II.A.1. Définitions

La NUE se définit par la capacité de la plante à produire de la biomasse par quantité d'azote disponible. La biomasse considérée peut être soit la biomasse aérienne totale soit la production de grains. La biomasse racinaire n'est pas considérée dans les calculs de la NUE. La NUE se calcule le plus souvent par le rapport entre la biomasse produite et la quantité d'azote disponible (reliquat du sol + fertilisation ; **Eq 1**), Cependant, des travaux récents ont considéré seulement l'azote apporté dans le calcul (Xu, Fan, et Miller 2012; Han et al. 2015) : : cela reste une approximation si le calcul de la NUE ne tient pas compte de l'azote endogène. La valeur de la NUE est très liée aux interactions entre la plante et son environnement. Ainsi la NUE dépend à la fois des pratiques culturales et de la valeur génétique de la plante cultivée. L'étude des deux aspects, agronomique et génétique, a été traitée maintes fois au cours des 35 dernière années sur de nombreux systèmes de cultures (Lammerts van Bueren et Struik 2017). Pour la suite de cette introduction sur la NUE nous nous concentrerons sur l'utilisation de l'azote chez les céréales.

### II.A.2. Composantes

La NUE est le résultat d'une somme de processus variables selon des interactions complexes entre des facteurs génétiques et environnementaux. De ce fait, pour évaluer ce trait complexe il est nécessaire de le décomposer. Ainsi le terme NUE a été redéfini plusieurs fois selon le contexte (Dobermann 2005; Xu, Fan, et Miller 2012; Han et al. 2015; Hawkesford et Griffiths 2019). A titre d'exemple on peut citer « l' **Agronomic NUE** » (**ANUE, Eq 2**) qui représente la capacité de la plante à fabriquer X unité de biomasse supplémentaire par unité d'azote supplémentaire. De manière similaire, dans une approche plus physiologique, on trouve la « **Physiological NUE** » (**Eq 4, PNUE**) qui se calcule comme l'ANUE dans laquelle on rapporte l'augmentation de production à l'augmentation d'azote prélevé par la plante. Cette mesure est donc uniquement dépendante de la capacité de prélèvement. Enfin il est important de noter que la NUE peut se décomposer en deux entités. La première composante représente l'**Efficacité de prélèvement**, (**Eq 3, NUpE pour Nitrogen Uptake Efficiency**), qui représente la capacité de la plante à prélever l'azote disponible. La deuxième composante est l'**Efficacité de conversion de l'azote en biomasse**, (**Eq 5, NUtE, pour Nitrogen UTILIZATION Efficiency**). Le produit des deux composantes donne alors la NUE. Il est intéressant de noter que la NUpE et la NUtE peuvent également être décomposées: De manière temporelle, la NUpE peut être évaluée selon la date de floraison, on parlera alors de **NUpE pre ou post-floral** (Kichey et al. 2007; Gaju et al. 2011), et de manière spatiale, la **NUtE** fait la distinction entre la production de biomasse totale, de grains, ou d'organes végétatifs.

Eq 1

$$NUE = \frac{GY}{N_{sol}}$$

Eq 2

$$ANUE = \frac{GY^N - GY^{N0}}{N_{sol} - N0_{sol}}$$

Eq 4

$$PNUE = \frac{GY^N - GY^{N0}}{N_{plante} - N0_{plante}}$$

Eq 3

$$NUtE = \frac{GY}{N_{plante}}$$

Eq 5

$$NUpE = \frac{N_{plante}}{N_{sol}}$$

Eq 6

$$NRE = \frac{N_{flo} - N_{gr}}{N_{flo}}$$

Avec :

- *NUE* : Nitrogen Use Efficiency
- *GY*: Grain Yield (Rendement)
- *N<sub>sol</sub>* : Quantité d'azote dans le sol
- *ANUE* : Agronomique NUE
- *GY<sup>N</sup>/GY<sup>N0</sup>* : rendement dans la condition fort/faible intrant
- *N0<sub>sol</sub>* : quantité d'azote dans le sol de la condition faible intrant
- *PNUE* : Nitrogen physiological Use Efficiency
- *N/N0<sub>plante</sub>* : quantité d'azote contenue dans les organes aériens de la plante en condition fort/faible intrant
- *NUtE* : Nitrogen Utilization Efficiency
- *NUpE* : Nitrogen Uptake Efficiency
- *NRE* : Nitrogen Remobilization Efficiency
- *N<sub>flo</sub>* : quantité d'azote contenue dans les organes aériens de la plante à floraison
- *N<sup>gr</sup>*: quantité d'azote contenue dans les grains à maturité.

1 La dernière composante relative à l'utilisation de l'azote est l'**Efficacité de Remobilisation (NRE, Eq**  
2 **6)**. La **NRE** définit la part d'azote prélevée avant floraison qui est pendant le remplissage. Par  
3 conséquent elle participe à la concentration en protéines finale et à la sénescence des feuilles (Oorbessy  
4 Gaju et al. 2014; Barraclough, Lopez-Bellido, et Hawkesford 2014; Hawkesford et Griffiths 2019).  
5 Ainsi, l'amélioration de la NUE être la conséquence de l'amélioration spécifique d'une des composantes  
6 décrites ci-dessus. Dans la prochaine section, nous nous focaliserons sur les mécanismes des flux d'azote  
7 dans le cas du riz.

## 8 **II.B. Les flux d'azote chez le riz**

### 9 *II.B.1. Le prélèvement racinaire (Figure 5)*

10 Le riz est capable d'assimiler les deux formes d'azote depuis le sol : le nitrate  $\text{NO}_3^-$  et  
11 l'ammonium  $\text{NH}_4^+$ , la part de chaque forme dépendra principalement du mode de culture (inondée pour  
12 l'ammonium, pluviale pour le nitrate). L'ammonium est prélevé via les Ammonium transporteur  
13 (AMT1) des membranes plasmiques des cellules racinaires (Sonoda et al. 2003). Une fois dans le cytosol  
14 il est complètement assimilé sous forme de Glutamine (Gln) par la Glutamine synthétase du cytosol  
15 (GS1;2) (Funayama et al. 2013; Hirel et Gadal 1980).

16 Les nitrates sont prélevés par les Nitrates transporteurs (NRT). Il en existe deux types selon leur  
17 affinité. Leur activité dépend de la quantité de nitrates disponibles : NRT1 (faible affinité) pour les hauts  
18 niveaux de nitrates et NRT2 (forte affinité) pour les bas niveaux. Chez le riz plus de 80 gènes de type  
19 *NRT1* et 4 *NRT2* ont été identifiés mais seuls quelques *NRT1* ont été caractérisés ( Li, Hu, et Chu 2017).  
20 Une partie des nitrates prélevés est alors réduite en nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) par la NADH-dépendant nitrate  
21 réductase (NADH-NR) et ces nitrites sont alors dirigés vers les plastes de la cellule. Ils sont ensuite à  
22 nouveau réduits en ammonium par la Fd-dépendant Nitrite Réductase (Fd-NiR) et enfin cet ammonium  
23 pourra servir à la synthèse de glutamine par la GS2. L'autre partie des nitrates prélevés est directement  
24 transférée aux organes aériens via le xylème. (Yoneyama et al. 2016).

25 Si la glutamine nouvellement formée peut aussi être transférée directement via le xylème, une  
26 partie peut être transformée en glutamate (Glu) dans les racines. Deux enzymes présentes chez les plastes  
27 permettent cette transformation : la NADH dépendant glutamate synthétase (NADH-GOGAT) et la Fd-  
28 dépendant glutamate synthétase (Fd-GOGAT) (Suzuki, Vidal, et Gadal 1982; Yamaya et al. 1995). C'est  
29 à partir du glutamate qu'est synthétisée une grande partie des acides aminés (AAs) qui seront exportés  
30 vers les organes aériens (Lam et al., 1996).

31 Enfin les racines (notamment les jeunes racines en croissance) peuvent aussi recevoir de la Gln  
32 et des AAs depuis les organes aériens ou de plus vieilles racines via le phloème. Ces éléments servent à  
33 la synthèse des protéines nécessaires à la croissance (Yoneyama et al. 2016).

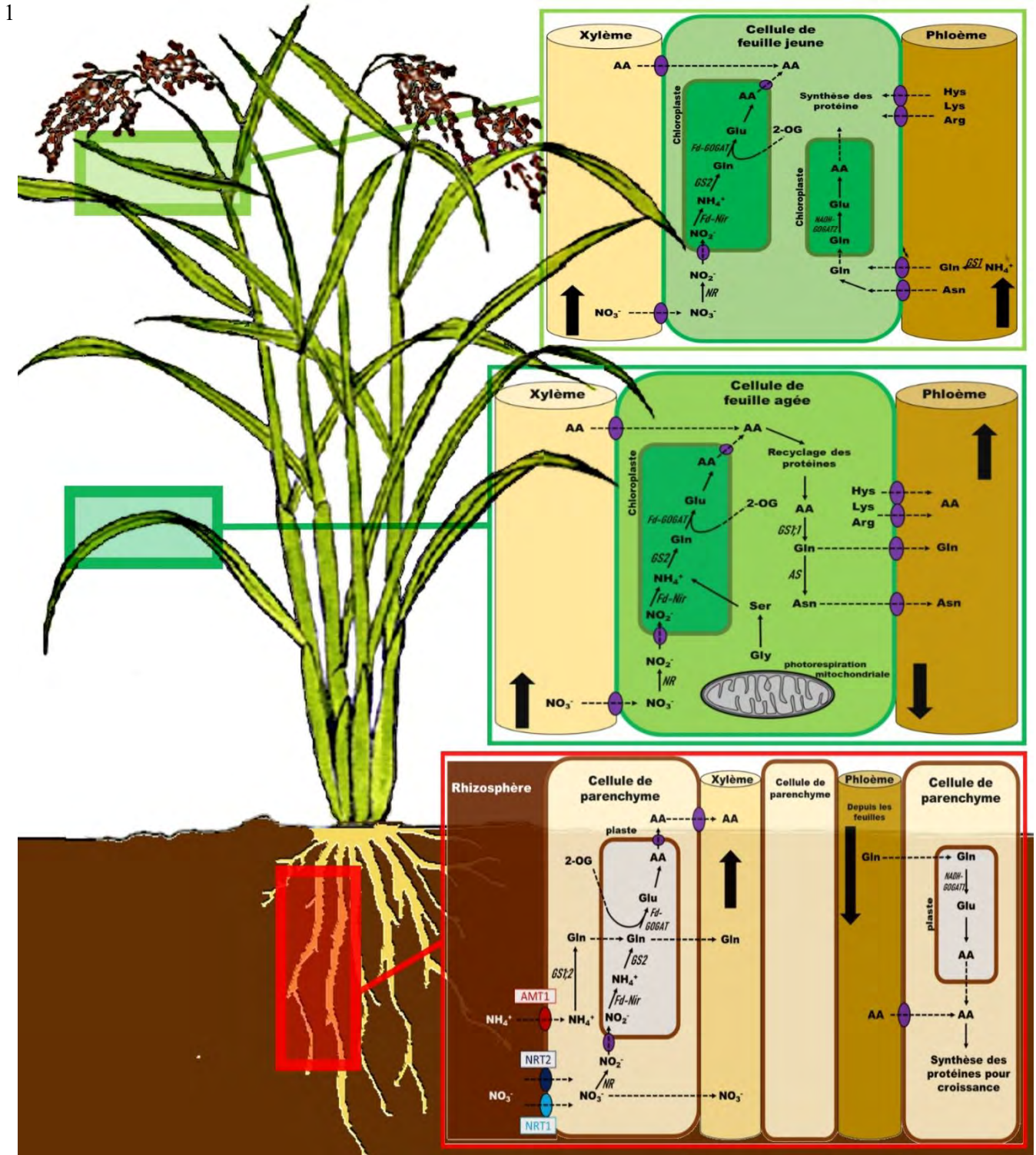


Figure 5 : Prélèvement et utilisation de l'azote chez le riz (d'après Yonemaya 2016)

Cette figure illustre les réactions et les flux majeurs des molécules impliquées dans le prélèvement et l'assimilation de l'azote. Les flèches en pointillées décrivent une translocation d'un compartiment à un autre, les flèches pleines une réaction enzymatique. Le cadre rouge illustre le métabolisme racinaire, le cadre vert foncé le métabolisme des feuilles âgées et en vert clair celui des jeunes feuilles. 2-OG : 2-oxaloglutarate; AA : acides aminés; AMT : Ammonium Transporter; Arg : Arginine; Asn : Asparagine; Fd-GOGAT : Glutamate Synthetase Feredoxine dependante; Fd-Nir : Nitrite Réductase Feredoxine dépendante; Gln : Glutamine; Glu : Glutamate; GS : Glutamine Synthétase; Gly : Glycine; Hys : Hystidine; Lys : Lysine; NADH-GOGAT : Glutamate Synthetase NADH dépendante;  $\text{NH}_4^+$  : Ammonium; NR : Nitrate Réductase; NRT : Nitrate Transporter;  $\text{NO}_3^-$  : Nitrate; Ser : Serine

### *II.B.2. Métabolisme dans les organes aériens*

Les feuilles reçoivent donc les éléments simples des racines ( $\text{NO}_3^-$ , Gln et AA) via le xylème. Une fois dans les cellules, ces éléments subissent des processus similaires à ceux décrits dans le paragraphe précédent. Le  $\text{NO}_3^-$  est donc aussi réduit en  $\text{NH}_4^+$  puis assimilé en glutamine mais le processus est accéléré à la lumière, la réduction en nitrite, puis en Glu, étant facilitée par un apport conséquent d'électrons issus du Photosystème I (Yoneyama et al. 2016).

On peut distinguer deux types d'organes aériens : les organes puits (jeunes feuilles, entre-nœuds en croissance, épillets, grains en maturation) qui importent bien plus d'éléments qu'ils n'en produisent; et les organes sources (feuilles matures, entre-nœuds matures, feuilles sénescents) qui exportent plus d'éléments qu'ils n'en reçoivent. On retrouve dans les feuilles matures le phénomène de **recyclage des protéines (Figure 5)**, c'est-à-dire la dégradation des protéines en AAs pour permettre le transfert de ces derniers vers les organes puits via le phloème (Yoneyama et Takeba 1984). La glutamine est l'AA majoritaire de ces transferts. Elle représente une part conséquente des AAs du phloème, de la feuille drapeau, ultime tissu source, et du dernier entre-nœud (Hayashi et Chino 1985). Cela est peut-être dû à la forte activité de la GS1, liée à la présence des substrats associés :  $\text{NH}_4^+$ , ATP et glutamate (Hayakawa et al. 1993; Tanaka et al. 2009). De plus la NADH-GOGAT2 a une activité importante dans les organes puits : cette activité serait due à l'apport conséquent de glutamine issue du phloème (Yoneyama et al. 2016).

*In fine* les AAs sont transportés vers les panicules par des transporteurs dédiés. Près de la moitié des AAs importés dans les grains sert ainsi à la synthèse de protéines de stockage (gluteline, prolamine) (Shewry et Halford 2002).

### *II.B.3. Mécanismes de régulation des flux d'azote*

Selon Yoneyama et al., 2016, la composition du phloème en AAs provoquerait un signal biochimique qui contrôlerait le prélèvement racinaire d'azote (N). La composition du phloème serait complètement contrôlée pour répondre à la demande en N des organes puits, en pilotant la remobilisation et le prélèvement. Une étude de Yoneyama and Sano, (1978) a suivi l'accumulation de N dans le riz au stade 5 feuilles sur la variété Koshihikari par la méthode de marquage isotopique ( $\text{N}^{15}$ ). Ils proposent le modèle suivant : la moitié de l'azote total requis pour la croissance des nouveaux organes viendrait de la remobilisation des réserves, l'autre moitié du prélèvement par les racines. Quand le seuil de 90% du maximum d'azote cumulable d'une feuille est atteint, l'influx d'azote devient plus faible, et la feuille, maintenant mature, commence aussi à remobiliser l'azote qu'elle contient vers les nouveaux organes. Les flux venant des racines diminueront avec l'âge de la feuille, sauf si une fertilisation complémentaire est apportée, et ce jusqu'à la senescence, où les flux sortants vers les nouveaux organes puits deviennent largement majoritaires. Ces auteurs ont également montré que certains AAs (comme le glutamate, la glutamine, l'aspartate, et l'alanine) sont composés d'azote davantage issu d'un prélèvement récent tandis



1 que d'autres AAs (comme l'arginine, la lysine, la proline, et l'asparagine) sont composés d'azote  
2 remobilisé depuis les organes puits. Toutefois à ce jour la validité de ce modèle au sein d'un plus grand  
3 panel de riz reste inconnue.

#### 4 **II.C. Voies d'amélioration de la NUE et diversité**

5 Le choix du cultivar est fondamental dans les pratiques culturales. Dans le cas de la NUE, la  
6 connaissance des capacités d'utilisation de l'azote d'une variété permet de réduire les apports et  
7 d'optimiser la répartition de ces apports selon ses capacités. Différentes stratégies sont documentées  
8 pour améliorer la NUE : se focaliser sur des gènes clés du métabolisme, cartographier des QTL,  
9 améliorer des caractères secondaires... La plupart de ces stratégies s'articulent autour de deux  
10 composantes clés que sont la NUpE et la NUtE. L'amélioration de ces caractères passe entre autre par  
11 une connaissance de leur variabilité génétique dans les populations de la culture d'intérêt.

##### 12 *II.C.1. Diversité de l'utilisation de l'azote, méthode de cartographie et importance du* 13 *phénotypage*

14 Identifier l'origine génétique d'un caractère quantitatif tel que la NUE se fait en caractérisant la  
15 diversité phénotypique d'une population et en l'associant aux polymorphismes des marqueurs  
16 moléculaires. L'objectif est alors de localiser le(s) QTL(s) ou gène(s) contrôlant le caractère et de leur  
17 attribuer une valeur génétique. Ces loci sont identifiés par des marqueurs avec lesquels il est alors  
18 possible de contrôler leur introgression dans le fond génétique d'une variété élite (sélection assistée par  
19 marqueurs) ou bien d'identifier ces loci dans de nouveaux fonds génétiques exploitables en sélection  
20 (Bonnett, Rebetzke, et Spielmeier 2005). Plusieurs études font référence à des analyses de diversité de  
21 l'utilisation de l'azote chez de nombreuses espèces notamment *Arabidopsis* (H. Li, Hu, et Chu 2017),  
22 le blé (Le Gouis et al. 2000; Dawson et al. 2011; Hawkesford 2017), des espèces potagères (Ospina et  
23 al. 2014; Lammerts van Bueren et Struik 2017) et le riz (D. Wei et al. 2011; Hu et al. 2015; Zhihua  
24 Zhang, Gao, et Chu 2020). Ces études montrent qu'il existe une diversité non négligeable dans  
25 l'utilisation de l'azote, et ce quelle que soit l'espèce.

26 On peut étudier deux grands types de populations : les populations dont on connaît  
27 l'apparentement c'est-à-dire des populations que l'on a créées et dont on connaît la généalogie, et celles  
28 pour lesquelles on ne le connaît pas (mais qui peut être estimé génétiquement). Dans le deuxième cas  
29 on parlera de **génétique d'association**. Ce type d'étude est basée sur des panels de génotypes qui  
30 peuvent être bien adaptés à l'environnement cible du sélectionneur, fournissant des allèles multiples et  
31 une très haute résolution génétique basée sur des événements historiques de recombinaisons. Ce type  
32 d'étude a été appliqué à la NUE dans de nombreux cas, par exemple chez le blé (Cormier et al. 2014;  
33 Monostori et al. 2017) ou le riz (J. Yu et al. 2020). Cette méthode comporte aussi l'avantage de ne pas  
34 avoir à construire la population à étudier. Toutefois elle ne permet la détection que des allèles

1 relativement fréquents (>10%)(Hawkesford et Griffiths 2019). A côté de la génétique d'association, on  
2 trouve donc les populations dont on connaît l'apparentement, comme par exemple les populations **bi-**  
3 **parentales** dont l'ensemble des individus est issu de la recombinaison deux génotypes initiaux, choisis  
4 pour leur fort contraste pour le caractère d'intérêt. De nombreux QTL relatifs à la NUE ont été  
5 découverts grâce à ces populations chez le riz (D. Wei et al. 2011).

6 Ainsi la connaissance de la variabilité génétique est nécessaire à la sélection. Toutefois comme  
7 dit précédemment, la NUE est la somme de nombreux phénomènes et son contrôle s'avère donc  
8 polygénique. De plus, les chercheurs/sélectionneurs se heurtent à la forte variabilité générée par  
9 l'environnement dans la plupart des caractères liés à la NUE (Cho et al. 2007). Une forte interaction  
10 entre le génotype et l'environnement (G×E) sur l'expression des caractéristiques cibles signifie que la  
11 génétique mise en évidence n'est valable que dans un environnement donné (Han et al. 2015). Ces deux  
12 éléments font que la NUE, à l'image du rendement, est un caractère avec une héritabilité basse  
13 (Hawkesford et Griffiths 2019).

#### 14 II.C.1. Amélioration de la NUpE

15 Améliorer la NUpE permet d'augmenter la quantité d'azote prélevée par la plante par rapport à  
16 ce qui lui a été fourni. Ainsi les premiers caractères à améliorer pour augmenter la NUpE ont trait aux  
17 racines, leur architecture et à leur activité. L'architecture racinaire se révèle être un caractère très  
18 variable car extrêmement adaptatif aux contraintes environnementales (Li, Zeng, et Liao 2016). Ainsi  
19 la plasticité de l'architecture de plusieurs cultivars de riz face à des apports de  $\text{NH}_4^+$  a été démontrée  
20 comme déterminante dans le prélèvement de l'azote ainsi que dans l'établissement du rendement  
21 (Ogawa et al. 2014). Comme décrit précédemment la détection de QTLs dépend du phénotype, qui lui-  
22 même est impacté par l'environnement. Ainsi (P.-S. Kim et al. 2015) ont montré que les QTLs impliqués  
23 dans l'architecture racinaire dans une condition élevée de  $\text{NH}_4^+$  ne sont pas les mêmes que dans la  
24 condition de carence en azote. De plus les QTLs découverts co-localisent avec des QTLs de réponse de  
25 la biomasse dans des conditions comparables (Cho et al. 2007; Zhao et al. 2014).

26 La morphologie des racines n'est pas suffisante en elle-même pour assurer un bon prélèvement  
27 et l'activité des protéines permettant le prélèvement ou l'assimilation de l'azote est également  
28 fondamentale (Xu, Fan, et Miller 2012). Ainsi il a été montré de nombreuses fois que des modifications  
29 des gènes *NRT* et *AMT* avaient un impact sur la NUE. Par exemple un polymorphisme de *NRT1.B* entre  
30 les riz *japonica* et *indica* permet d'expliquer que ces derniers soient plus efficaces dans leur absorption  
31 des nitrates. L'introgession de l'allèle *indica* dans un cultivar *japonica* a d'ailleurs amélioré la NUE de  
32 ce dernier (Hu et al. 2015). Les *AMT* ont des activités plus fortes chez certains riz. La sélection en  
33 rizières inondées (milieu anaérobie, favorable à une haute concentration d'ammonium) a provoqué une  
34 réduction de la diversité du gène *OsAMT1;1*.

### Tableau 1 : Listes de gènes utilisés pour améliorer la NUE par des approches transgéniques et impliqués dans le cycle GS-GOGAT

Abréviations : *CaMV 35S*, promoteur du virus de la mosaïque du chou-fleur 35S ; *DW*, poids sec ; *HN*, forte concentration d'azote ; *HS*, solution hydroponique ; *Ibc3*, promoteur de la légumine du soja ; *LN*, faible concentration d'azote ; *MS*, milieu de Murashige et Skoog ; *OsNADH-GOGAT*, promoteur de la glutamate synthase dépendant du NADH ; *TAA*, total des acides aminés ; *T-DNA*, ADN de transfert ; *TN*, teneur totale en azote ; *Ubiquitin*, promoteur de l'ubiquitine du maïs ;  
 ↑, augmentation ; ↓, diminution ; →, pas de changement.

Source : Xu et al. 2012

Gène Source (numéro d'accension)	Familles de gènes	Promoteurs utilisés	Plantes hôtes	Caractéristiques de NUE	
				Condition de culture	Rendement/Biomasse
					Azote prélevé/métabolisme
<i>PsGSI</i> (EC 6.3.1.2)	Glutamine synthétase	<i>CaMV 35S</i>	Tabac	MS	Meilleure croissance, TAA de la feuille ↓
<i>PsGSI</i> (EC 6.3.1.2)	Glutamine synthétase	<i>CaMV 35S</i>	Peuplier	HS	Biomasses des feuilles ↑ (112% under LN and 26% under HN)
<i>PvGSI</i>	Glutamine synthétase	<i>Rubisco small subunit</i>	Blé	Compost de tourbe	Biomasses racines et grains ↑, amélioration de l'accumulation de N surtout dans les grains
<i>MsGSI</i> (EC 6.3.1.2)	Glutamine synthétase	<i>CaMV 35S</i>	Tabac	MS	Biomasses aérienne ↑ 70% et racines DW ↑ 100% sous LN
<i>GmGSI</i>	Glutamine synthétase	<i>CaMV 35S</i>	Lotus	MS	Biomasses →
<i>OsGSI;1</i> (AB037595)	Glutamine synthétase	<i>CaMV 35S</i>	Riz	Champ	rendement ↓ 25%–33%
				HS	TN ↑ sous LN et HN
<i>OsGSI;2</i> (AB180688)	Glutamine synthétase	<i>CaMV 35S</i>	Riz	Champ	Rendement ↓ 7%–25%
				HS	TN ↑ sous LN et HN
<i>OsGSI;2</i> (AB180688)	Glutamine synthétase	<i>Ubiquitin</i>	Riz	Sol (chambre de culture)	Rendement épillet ↑ 29%–35% sous HN
					NUE ↑ 30%–33% sous HN
				Sol	→ →
<i>OsGS2</i> (X14246)	Glutamine synthétase	<i>CaMV 35S</i>	Riz	MS	Protéines solubles et NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> libre →
<i>ZmGSI</i>	Glutamine synthétase	<i>Ubiquitin</i>	Maïs	Sol	Biomasses aériennes →, rendement ↑ 45% sous LN
<i>MsNADH- GOGAT</i>	glutamate synthase NADH-dépendante	<i>CaMV 35S</i>	Tabac	HS	Total C et TN dans les organes aérien ↑, biomasse sèche ↑
<i>OsNADH- GOGAT</i> (AB008845)	glutamate synthase NADH- dépendante	<i>OsNADH- GOGAT</i>	Riz	HS	Remplissage des Grains ↑
<i>MsNADH- GOGAT</i>	glutamate synthase NADH- dépendante	<i>Ibc3</i>	Alfalfa	Pots (vermiculite, solution nutritive)	Biomasse fraîche aérienne ↓ 29%–41%, N content ↓ 37%– 38%, nodule TAA ↓ 50%–70%

1 Il est établi qu'une recherche de diversité au niveau de ce gène chez des riz sauvages serait également  
2 une nouvelle opportunité d'améliorer la NUpE (Ding et al. 2011). Les autres transporteurs peuvent aussi  
3 être impliqués. Par exemple, l'expression du gène *Alanine aminotransferase (AlaAT)* issu de l'orge  
4 augmente significativement la NUpE et le rendement du riz (Shrawat et al. 2008; Beatty et al. 2013;  
5 Selvaraj Michael Gomez et al. 2017).

6 Enfin l'activité de prélèvement est connue pour diminuer avec l'âge de la plante. Ainsi un des  
7 leviers pour améliorer la NUpE serait le maintien de cette activité tout au long du cycle et plus  
8 particulièrement pendant le remplissage des grains (Bogard et al. 2010b).

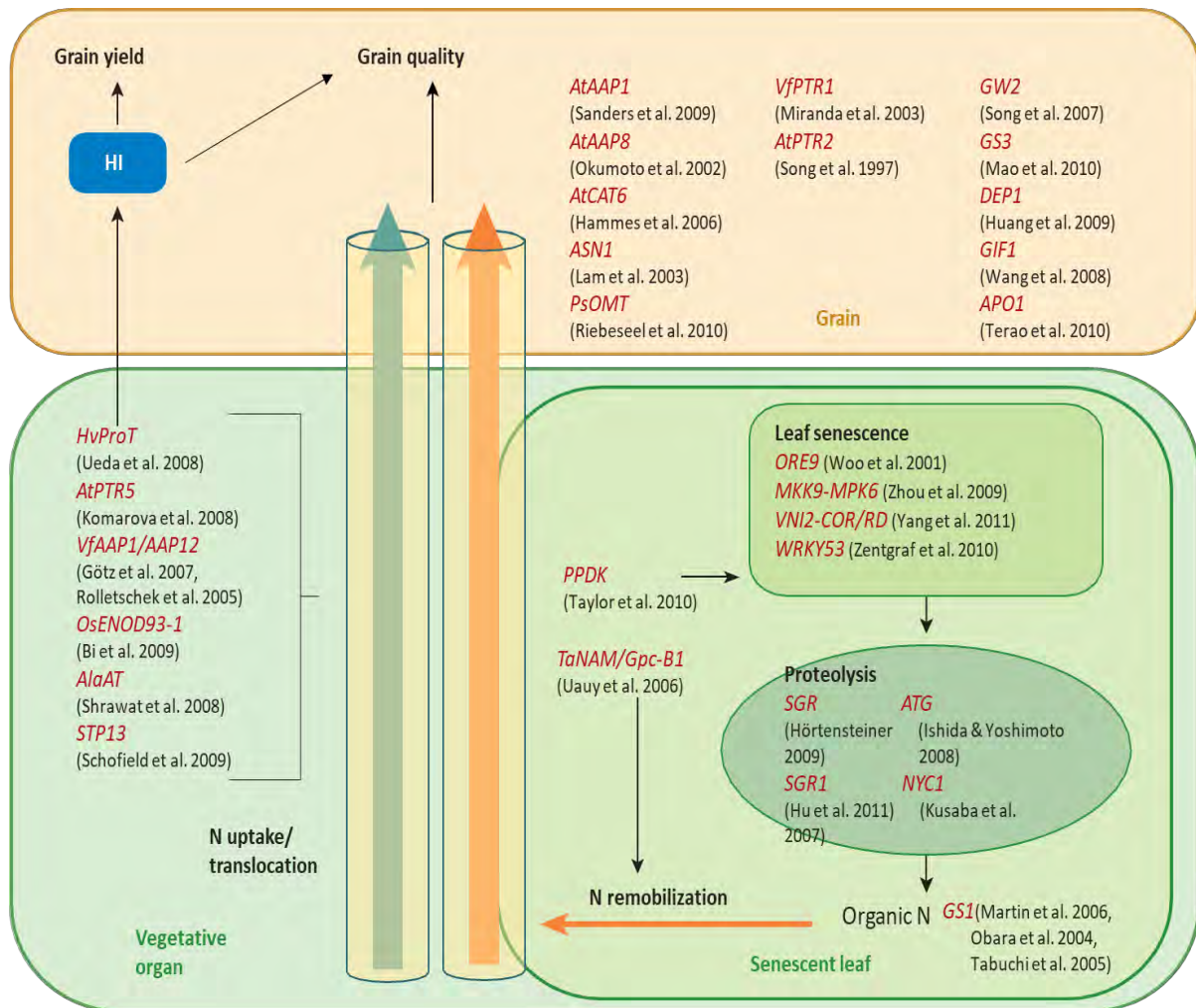
### 9 *II.C.1. Amélioration de la NUtE*

10 Pour que le prélèvement soit efficace, il est nécessaire que l'assimilation de l'azote soit la plus  
11 active possible. L'assimilation est pilotée par le cycle GS/GOGAT. Les gènes impliqués dans ce cycle  
12 ont été identifiés de très nombreuses fois par des approches transgéniques comme impliqués dans la  
13 NUE (**Tableau 1**, Xu et al. 2012). Un certain nombre de QTL pour les caractères agronomiques liés à  
14 la NUE et au rendement ont été cartographiés pour des régions chromosomiques contenant le gène GS2  
15 chez le blé et le riz (Obara, Sato, et Yamaya 2000; Yamaya et al. 2002; Laperche et al. 2007; Fontaine  
16 et al. 2009; D. Wei et al. 2012), ce qui suggère que la région génomique entourant le gène GS2 pourrait  
17 être utile pour la sélection de variétés de riz et de blé ayant une performance agronomique et une NUE  
18 améliorées. La GOGAT est également contenue dans un méta-QTL de la NUE orthologue à plusieurs  
19 céréales cultivées dont le riz, le blé et le maïs, illustrant comment certains traits relatifs à la NUE ont été  
20 conservés au cours de l'évolution et de la domestication (Quraishi et al. 2011).

21 Des gènes impliqués dans d'autres métabolismes peuvent également être utilisés pour améliorer  
22 la NUtE. En effet améliorer la NUtE peut simplement se résumer à améliorer la productivité par unité  
23 d'azote apportée. De nombreux gènes influençant le poids des grains et la remobilisation de l'azote ont  
24 été identifiés dans plusieurs espèces de plantes (**Figure 6**). Par exemple, la surexpression d'un gène  
25 cytosolique codant pour GS1 (*OsGln1-3*) constitutivement dans les feuilles a augmenté le rendement  
26 du grain de maïs de 30 %, sans pour autant augmenter la biomasse végétative (Martin et al. 2006) ce qui  
27 suggère que l'effet de *OsGln1-3* est spécifique à la production de grains. Le gène NAC (*Gpc-B1*),  
28 impliqué dans la sénescence, pourrait être un autre bon candidat pour améliorer la remobilisation de  
29 l'azote des feuilles sources vers les grains, en diminuant la quantité d'azote perdue dans la matière  
30 végétale sèche résiduelle à la récolte (Uauy et al. 2006). L'Asparagine synthétase 1 pourrait aussi jouer  
31 un rôle dans l'amélioration de la remobilisation de l'azote (Masclaux-Daubresse et al. 2010).

32

1



**Figure 6 : Régulation de la remobilisation de l'azote depuis les feuilles sénescentes (d'après Xu et al. 2012)**

Flux vert : Prélèvement depuis le sol via le xylème ; Flux orange : Remobilisation via le phloème. Les gènes régulateurs sont indiqués en rouge.

*AtAAP1*, *AtAAP8*, *AtCAT6*, *ASN1*, et *PsOMT* jouent un rôle dans l'apport d'acides aminés vers les tissus puits et sont importants dans la synthèse des protéines de stockage et le rendement; *VfPTR1* et *AtPTR2* sont importants pendant le développement de l'embryon et le développement des grains; *GW2*, *GS3*, *DEPI*, et *GIF1* sont des QTL majeur pour la taille et le rendement; enfin *APO1* est responsable du nombre de grains par panicule. Une réduction de la production de biomasse a été observée dans les parties aériennes des plantes *35Sp-HvProT*; la surexpression de l'*AtPTR5* a entraîné une croissance accrue des organes aériens et une augmentation de la teneur en N; et la manipulation de *VfAAP1/AAP12*, *OsENOD93-1*, *AlaAT*, et *STP13* peut augmenter à la fois le pourcentage de N et la biomasse de la plante en améliorant son efficacité de prélèvement de N. La *PPDK* et l'*aNAM/Gpc-B1* entre en jeu dans la remobilisation de l'azote pendant la sénescence des feuilles et régulent la croissance des graines et leur teneur en azote; *ORE9*, *MKK9-MPK6*, *VNI2-COR/RD* et *WRKY53* régulent la sénescence des feuilles; *SGR*, *ATG*, *SGR1* et *NYC1* régulent la dégradation de la chlorophylle et des protéines pendant la sénescence; et la *GSI* fonctionne dans l'assimilation de l'azote dans les feuilles en sénescence.

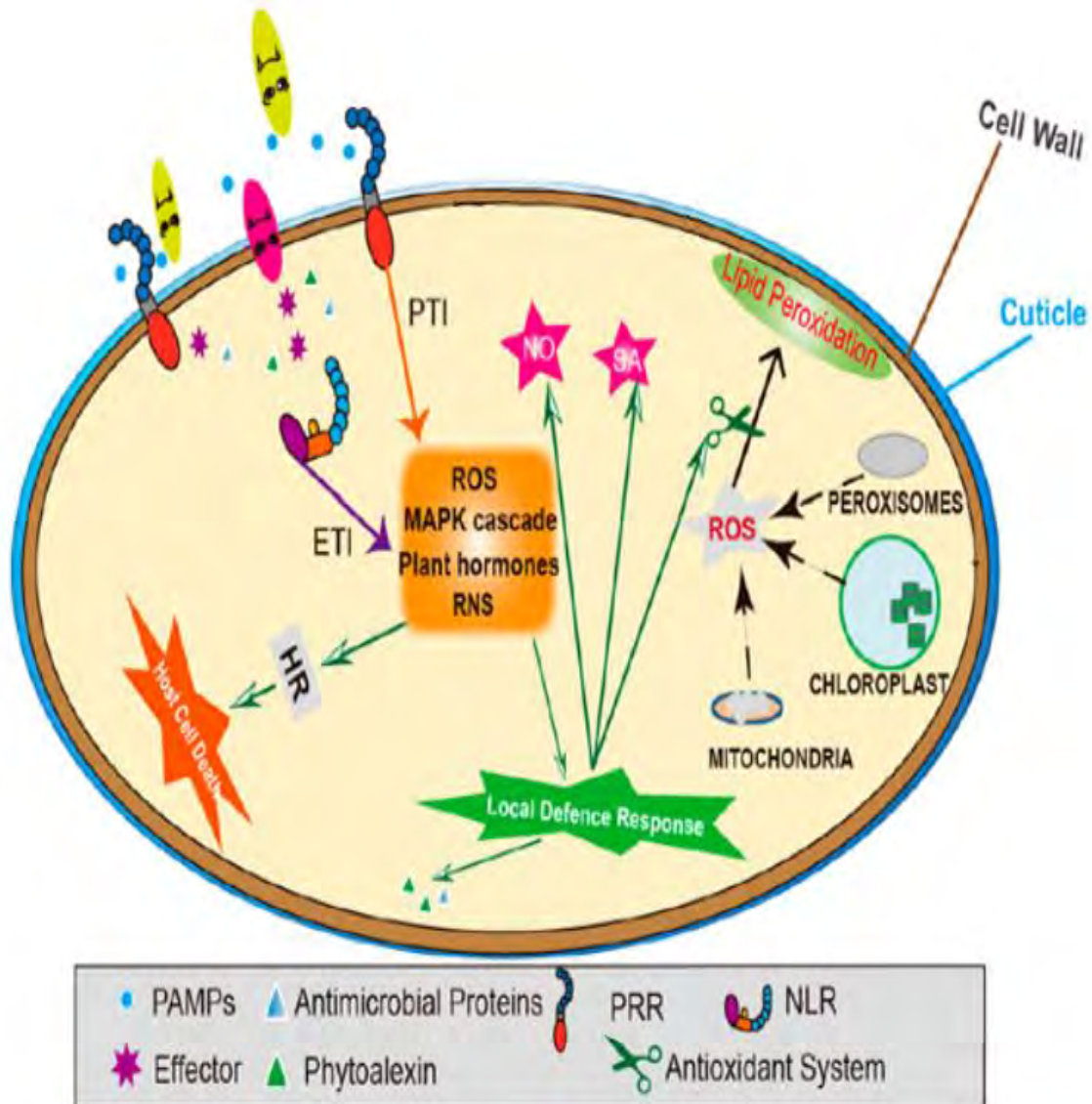
HI indique Harvest Index

Figure et références issues de Xu et al. 2012

1 L'amélioration de la NUtE peut également passer par l'amélioration de caractères morphologiques et  
2 physiologiques au même titre que l'architecture racinaire peut influencer la NUtE. Ainsi il a été montré  
3 que les caractères tels que la surface foliaire de la feuille drapeau, le maintien des feuilles vertes pendant  
4 le remplissage, ou le taux de remobilisation de N impactaient la NUtE chez le blé (Gaju et al. 2011).

5 Ainsi il est possible d'optimiser la fertilisation azotée en ciblant l'amélioration de la NUE et de  
6 ses composantes. Toutefois on peut se demander quelles peuvent être les conséquences d'une utilisation  
7 efficace d'azote. Comme vu plus haut, une utilisation efficace, implique une croissance végétative  
8 importante, qui à son tour entraîne des modifications du micro-climat (Li et al. 2012) et le statut  
9 physiologique de la plante. Or l'existence d'un compromis (ou « trade-off ») entre croissance et  
10 résistance des plantes a été démontrée (Huot et al. 2014; Campos et al. 2016; Karasov et al. 2017).  
11 Cependant, ce concept de compromis reste assez débattu (Kliebenstein 2016). L'existence de ce  
12 compromis modulerait la résistance lorsque les plantes favorisent ou réduisent la production de biomasse  
13 en réponse à l'environnement. Ainsi des conditions telles qu'un apport d'azote induisant une  
14 surproduction réduirait la résistance. A l'inverse, lors d'une attaque d'un agent pathogène, l'activation  
15 des défenses amenant la résistance induirait une réduction de croissance et de reproduction (Karasov et  
16 al. 2017). Un facteur de transcription (IPA1) identifié chez le riz contrôle ce compromis entre croissance  
17 et résistance (J. Wang et al. 2018; Greene et Dong 2018). L'étude de l'impact de telles modifications  
18 physiologiques sur le pathosystème riz/*M. oryzae* est au cœur de ce manuscrit. La partie suivante pose  
19 les bases bibliographiques des connaissances sur la défense des plantes nécessaires aux réflexions autour  
20 de cette problématique.

1



**Figure 7 : Modèle général de l'immunité des plantes face à l'infection d'agents pathogènes.**

Les agents pathogènes sont d'abord freinés par des barrières physiques de la plante (cuticule, cire et paroi lignifiée) puis par des barrières chimiques produites de manière constitutive (phytoalexine et protéines antimicrobiennes). Dans le même temps, les PRR (Pattern recognition receptor) situés au niveau de la membrane reconnaissent les PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern) induisant la PTI, tandis que les NLR (Nod-Like Receptor) reconnaissent les effecteurs produits par l'agent pathogène et induisent l'ETI. Le PTI et l'ETI déclenchent des réactions de défense locales par le biais d'une série de signaux d'activation ou de régulation (ROS, RNS, MAPK et les hormones). Les systèmes antioxydants sont également stimulés pour maintenir l'équilibre redox intracellulaire. Dans certains cas la cascade d'activation peut aboutir à la mort cellulaire de la cellule.

Modifié de Sun et al 2020

### III. Mécanismes de défenses et types de résistance

#### III.A. Généralités sur les mécanismes de défense (Figure 7)

La défense des plantes contre les agents pathogènes peut se diviser selon des mécanismes passifs souvent constitutifs et des mécanismes inductibles. Les mécanismes de défense inductibles déclenchent une réponse immunitaire suite à la reconnaissance de cibles moléculaires précises. On distingue alors une reconnaissance qui aurait plutôt lieu au niveau des membranes cellulaires d'une reconnaissance cytoplasmique.

##### *III.A.1. Les défenses constitutives*

Ces défenses sont les premières rencontrées par l'agent pathogène lors de l'infection. Ce type de défense comprend les barrières physiques (épaisseur de cuticule et paroi des cellules) et chimiques (pH, substances antimicrobiennes). Les molécules antimicrobiennes produites de manière constitutive sont appelées phytoanticipines. Dans le pathosystème Riz/*M. oryzae*, on peut citer l'étude de Vergne et al. (2010) qui décrit un fort niveau de défenses constitutives chez le sous-groupe des japonica tropicaux.

##### *III.A.2. La reconnaissance au niveau de la membrane*

La « PAMP-Triggered Immunity » ou PTI définit la réaction immunitaire de la plante suite à la reconnaissance de motifs moléculaires généraux typiques d'un groupe d'organismes pathogènes : les Pathogen Molecular Patterns (PAMPs, Malinovsky, Fangel, et Willats 2014). Les PAMPs sont des molécules dont les motifs sont fortement conservés chez un organisme pathogène. On peut citer en exemple les lipopolysaccharides et la flagelline des bactéries (Bittel et Robatzek 2007) ou encore la chitine, un des principaux composants de la paroi cellulaire des champignons (Kishimoto et al. 2010).

Les PAMPs sont reconnus par des récepteurs transmembranaires de type "Pattern Recognition Receptors" (PRR) constitués d'un domaine extracellulaire variable, d'un domaine transmembranaire et d'un domaine intracellulaire kinase, ce qui les classe dans les Receptor Like Kinase (RLK). La PTI chez le riz est due entre autres à l'action simultanée de plusieurs protéines : OsCERK1 (chitin elicitor receptor kinase), CeBIP (chitin elicitor binding protein), LYP4 (LysM domain-containing protein) et LYP6 qui participent à la reconnaissance de la chitine (Meng et al. 2019). D'autres PAMPs du riz tel que MSP1 et MoHrip1 ont été identifiés comme déclencheurs de PTI mais les PRR associés restent inconnus (Meng et al. 2019).



**III.A.3. La reconnaissance au niveau du cytoplasme**

Pour favoriser l'infection, les agents pathogènes produisent des effecteurs dont la fonction est d'abord l'inhibition des mécanismes de défense (Jie Zhang et al. 2007), mais aussi le détournement de la machinerie cellulaire (signalisation/mort cellulaire, Kay et al. 2007) et des réponses hormonales (Brooks, Bender, et Kunkel 2005), ainsi que des altérations de la croissance et de la photosynthèse (Truman, Zabala, et Grant 2006). Les plantes ont mis en place un deuxième niveau de défenses inductibles par la reconnaissance des effecteurs libérés dans le cytoplasme, appelé « Effector-Triggered Immunity » ou ETI. Ce système consiste en la reconnaissance des effecteurs par des protéines cytoplasmiques qui sont dans la grande majorité des cas des « Nucleotide-Binding Site Leucine Rich Repeat » ou NLR.

Les gènes de résistance, ou gènes *R*, correspondent très souvent à des gènes NLR. Les effecteurs reconnus vont alors porter le nom de protéines d'avirulence (*Avr*). L'absence d'un des deux gènes (*R* chez la plante, *Avr* chez l'agresseur) ne permet pas le déclenchement de la réaction de défense et autorise le développement de l'agresseur. A ce jour plus de 40 gènes *Avr* ont été identifiés chez *M. oryzae* (Mentlak, Talbot, et Kroj 2011) dont 12 clonés et caractérisés (B. Wang, Ebbole, et Wang 2017) et une centaine de gènes *R* chez le riz (W. Li et al. 2019) dont une trentaine clonés (B. Wang, Ebbole, et Wang 2017).

**III.A.4. Régulation et induction des mécanismes de défense**

Suite à la reconnaissance des PAMPS ou des effecteurs, l'information concernant l'agression est transmise pour déclencher les mécanismes de défenses de la plante. Les premières voies de signalisations incluent des transports de calcium activant les CDPKs (Calcium-Dependent Protein Kinases), la production des formes actives de l'oxygène (« reactive oxygen species » ou ROS), des formes actives de l'azote (« reactive nitrogen species » ou RNS), ainsi que des cascades de phosphorylation par des MAPK (« mitogen-activated protein kinase ») aboutissant à la transcription de facteurs de transcription régulant eux-mêmes l'arsenal de défense (W. Liu et al. 2013). La famille des facteurs de transcription WRKY est une des plus importantes connues et est particulièrement diversifiée chez le riz (Ross, Liu, et Shen 2007).

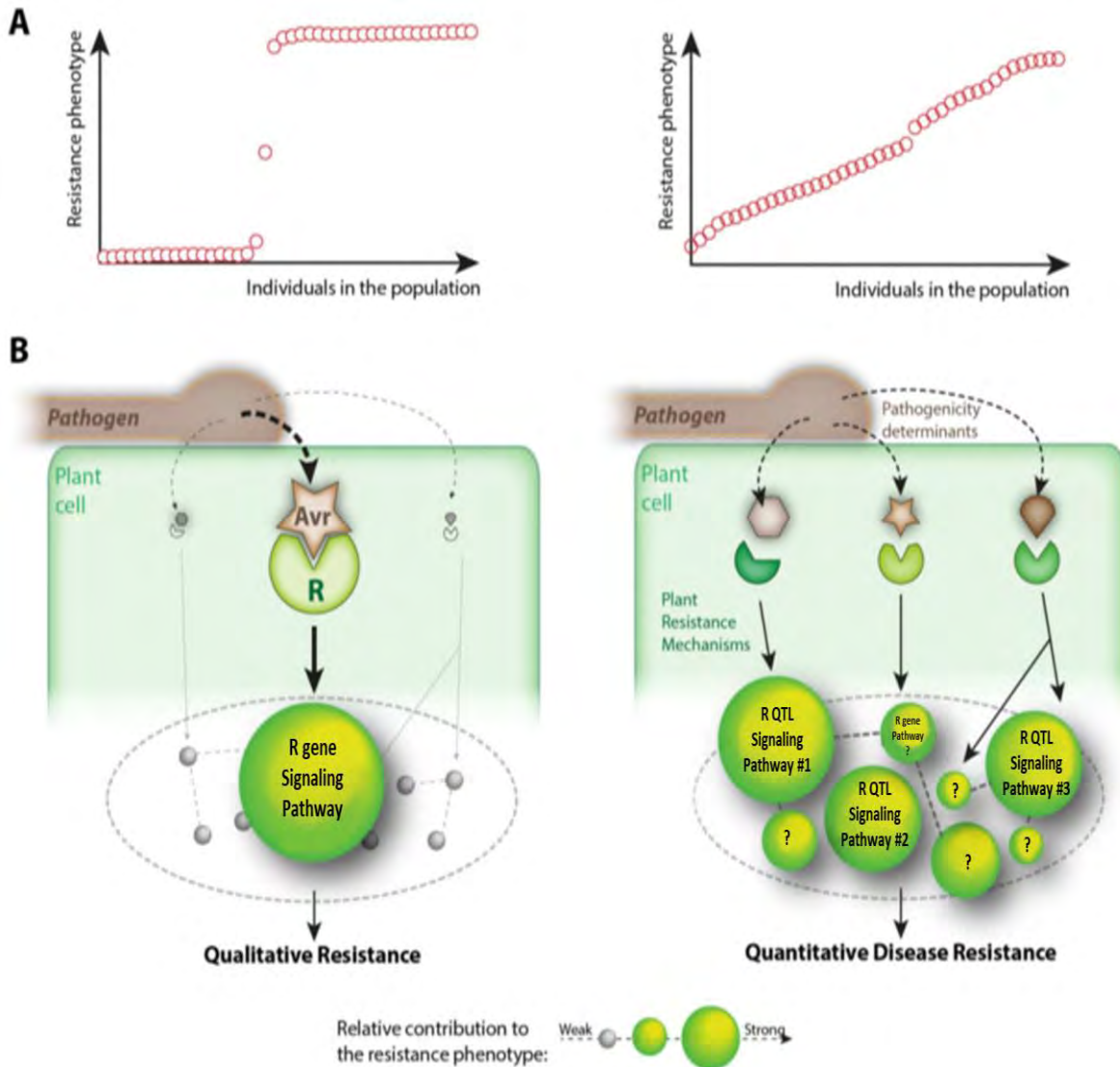
1 Ces voies de signalisation vont donc pouvoir activer d'une part une mort cellulaire programmée,  
2 ou réponse Hypersensible (HR), l'une des réactions les plus efficace grâce à une exécution très rapide.  
3 D'autre part elles vont pouvoir activer des gènes de type *PR* (Pathogenesis Related) correspondant à des  
4 protéines ayant une activité anti microbienne (Mauch-Mani et al. 2017; Kaur et al. 2017; De Kesel et al.  
5 2020; P. Wang et al. 2020). Enfin on retrouve aussi la production de callose créant une barrière physique  
6 ou de phytoalexines qui sont des composés chimiques avec un fort pouvoir anti microbien. (Dodds et  
7 Rathjen 2010). Ces voies de signalisation et les réactions qu'elles engendrent peuvent être communes  
8 aux deux systèmes de reconnaissance (PTI et ETI). En effet les signatures d'expression génique induite  
9 par la PTI et ETI sont largement similaires, ce qui laisse supposer que les réponses sont semblables dans  
10 l'ensemble, mais avec une ampleur variable (Dodds et Rathjen 2010; Liu et al. 2013; Y. Wang et al.  
11 2014).

12 La seconde voie de transmission de l'information est la balance des phytohormones (Poland et  
13 al. 2009; C.-J. Jiang et al. 2010). Ce système permet à la plante hôte d'adapter sa réponse au type  
14 d'agresseurs, biotrophe ou nécrotrophe ( Poland et al. 2009; Jiang et al. 2010; Andolfo et Ercolano  
15 2015). Chez le riz l'acide salicylique (SA) joue un rôle dans la défense basale. De plus celui-ci agit aussi  
16 dans la signalisation suite à la reconnaissance par les gènes *R*. L'acide jasmonique (JA) joue un rôle  
17 important dans les défenses basales du riz contre les infections bactériennes et fongiques et pourrait être  
18 impliqué dans la résistance et modulé par le SA. L'éthylène (ET) peut agir comme un modulateur positif  
19 ou négatif de la résistance aux maladies, selon le type d'agent pathogène et les conditions  
20 environnementales. La signalisation des brassinostéroïdes (BR) et l'acide abscissique (ABA) modulent  
21 les défenses selon les stratégies d'infection/colonisation des agents pathogènes. L'auxine et la  
22 gibbérelline (GA) sont généralement considérées comme des régulateurs négatifs de l'immunité innée  
23 chez le riz (D.-L. Yang, Yang, et He 2013).

### 24 **III.B. Les types de résistance**

25 On entendra ici la résistance au sens phénotypique du terme. Elle peut être qualifiée de partielle ou de  
26 complète selon la réaction symptomatique de la plante face à l'agent pathogène, et ceci sans *a priori* des  
27 mécanismes de défense sous-jacents.

1



**Figure 8 : Illustration théorique de la dualité des résistances qualitative et quantitative du point de vue de la biologie des populations et de la biologie moléculaire.**

*A gauche résistance qualitative et à droite résistance quantitative.*

- (A) *Distribution du phénotype au sein des populations : à gauche le phénotype de résistance aux maladies suit une distribution binaire "sensible ou résistant" ; à droite il suit une distribution continue allant de complètement sensible à complètement résistant.*
- (B) *Point de vue moléculaire : la résistance qualitative résulte de la perception d'une relation gène pour gène entre l'effécteur (Avr) de l'agent pathogène et un gène de résistance de l'hôte (R). La résistance quantitative résulte de l'intégration de plusieurs voies de perception activées simultanément, chacune ayant une contribution relative au phénotype de résistance global.*

*Modifiée d'après Roux et al 2014*

### III.B.1. La résistance complète

La résistance complète est un caractère qualitatif. Elle est décrite comme l'absence quasi-totale de maladie sur la plante hôte. Elle peut être observée lorsque l'agent pathogène est incapable de contourner les défenses constitutives ne provoquant aucun symptôme, mais aussi après une réaction de HR qui ne laisse que très peu de symptômes visibles. Ce dernier type de résistance est notamment issu d'une réaction dite incompatible entre la plante et l'agent pathogène. (Mundt 2014) et implique souvent les gènes *R*. Ce type de résistance montre une forte héritabilité avec une très faible variance. Celui-ci est majoritairement expliqué par la génétique et simple à phénotyper. Toutefois la pression de sélection que les gènes *R* appliquent sur les agents pathogènes et la forte capacité évolutive de ces derniers provoque l'apparition fréquente de variants d'effecteurs non reconnus par la plante, permettant aux agents pathogènes de contourner la résistance mise en place (Fukuoka et Okuno 2019)

### III.B.2. La résistance partielle

La résistance partielle est un caractère quantitatif. Elle se caractérise par un phénotype suivant une distribution continue allant de sensible à résistant dans une population d'hôtes (Corwin et Kliebenstein 2017). Le contrôle de ce type de résistance est dû à l'action d'un réseau de QTL réagissant à plusieurs types de stimuli de l'agent pathogène (Roux et al. 2014, **Figure 8**). Poland et al. (2009) décrivent les mécanismes sous-jacents aux QTL selon plusieurs catégories :

#### (1) Impact sur la morphologie et le développement de la plante.

Il est raisonnable d'imaginer que l'architecture ou les phases de développement des plantes, et donc les gènes associés, ont un impact sur le développement des agents pathogènes. Ainsi il a été montré que la sensibilité de la pomme de terre était corrélée à sa date de floraison face au mildiou (Collins et al. 1999). D'autres exemples existent concernant la densité de stomates pour *Arabidopsis* (Melotto et al. 2006), ou la hauteur de la plante, la surface foliaire ou l'angle d'accroche de feuille dans le système riz/RYMV (Rice yellow mottle virus) (Albar et al. 1998).

#### (2) Réponse de type ETI dont les gènes *R* seraient moins efficaces

De nombreuses études ont mis en évidence que certains QTL de résistance étaient des gènes *R* dont l'efficacité serait réduite. Ainsi plusieurs auteurs prouvent que des variants alléliques de gènes *R* co-localisent avec des QTL de résistance chez le riz (Ballini et al. 2008), le maïs (Xiao et al. 2007) et la pomme de terre (Gebhardt et Valkonen 2001). On peut également citer chez le riz, le cas du QTL *Pi35* utilisé depuis soixante ans comme une source de résistance durable à la pyriculariose (Nguyen et al. 2006) qui a été décrit comme un allèle alternatif du gène *Pish* codant pour un NLR connu pour déclencher une réaction de type HR face à l'isolat Kyu77-07A (Fukuoka et Okuno 2019; Fukuoka et al. 2014). Il s'avère que *Pi35* ne déclenche pas de réaction HR, mais une résistance partielle à plusieurs isolats de *M. oryzae*. Sur le plan évolutif, lors du

1           contournement d'un gène *R* par un agent pathogène, il est assez fréquent d'observer une  
2           conservation d'un effet résiduel sur la résistance. Chez le riz on retrouve un exemple de ce genre  
3           avec le gène *Xa4* impliqué dans la résistance complète face à la bactérie *Xanthomonas oryzae*.  
4           Une mutation de l'*Avr* chez la souche CR6 lui permet de contourner la résistance conférée par  
5           *Xa4*. Li et al. (1999) ont alors montré que ce gène agissait encore comme un QTL de résistance  
6           face à cette souche.

### 7           **(3) Mutation au niveau des récepteurs de PAMPS**

8           L'apparition de nouveaux allèles pour les gènes codant les PRRs provoque une reconnaissance  
9           plus ou moins efficace des PAMPS. L'impact de ces mutations a été mis en évidence chez  
10          *Arabidopsis* avec une mutation du gène *FLS2* (*Flagellin-Sensitive*) qui provoque un effet sur la  
11          sévérité de la colonisation bactérienne (Zipfel et al. 2004). Ce phénomène existe également sur  
12          des allèles apparus spontanément dans une même gamme d'hôtes (*FLS2* polymorphique chez  
13          plusieurs espèces de *Brassica*, Dunning et al. 2007).

### 14          **(4) Transduction des signaux de défense**

15          Des modifications au niveau des signaux de défense peuvent également faire varier la résistance.  
16          Ainsi différents allèles pour des gènes impliqués dans ces régulations peuvent générer différents  
17          niveaux de résistance, comme pour *WRKY33* chez *Arabidopsis* (Zheng et al. 2006). Ces gènes  
18          sont qualifiés de gènes régulateurs des défenses (Defense-regulator genes, DR) et sont connus  
19          pour apporter une résistance partielle et à plus large spectre que les gènes *R*. Ils codent  
20          principalement pour des facteurs de transcription, des kinases et des microARN. Chez le riz, 77  
21          gènes DR ont été identifiés, régulant positivement ou négativement la résistance (W. Li et al.  
22          2019). On peut citer comme exemple *WRKY45*, codant pour le facteur de transcription  
23          WRKY45 qui joue un rôle central dans les voies de signalisation du SA. L'expression optimisée  
24          de ce gène a permis d'obtenir des plantes plus résistantes à *M. oryzae* et *X. oryzae* (Goto et al.  
25          2015). Toujours avec le riz, on peut citer le gène *GH3-2* qui colocalise avec plusieurs QTLs  
26          présents sur le chromosome 1 et connus pour conférer de la résistance contre *M. oryzae* et *X.*  
27          *oryzae*. L'activation du gène *GH3-2* provoque l'augmentation de la production d'indole-3-  
28          acetic acid (IAA)-amido synthetase capable d'inactiver certaines auxines dont l'accumulation  
29          est un facteur favorisant le champignon ou la bactérie. L'action de ce gène combiné à d'autres  
30          aussi présents dans le QTL résulte en une résistance accrue du riz face à ces agresseurs (J. Fu et  
31          al. 2011). De plus il a été montré que l'expression constitutive de certains gènes DR chez le riz  
32          étaient corrélée à la résistance partielle observée après l'attaque de *M. oryzae* (Vergne et al.  
33          2010).

34

**(5) Modulation de la production de composés chimiques**

La sensibilité/résistance d'une plante hôte est aussi le résultat du « combat » chimique qui l'oppose à son agresseur. L'issue de cet affrontement dépend de qui va produire suffisamment de molécules pour tuer les cellules de son adversaire. Les composés toxiques des agents pathogènes sont qualifiés de toxines. La plante hôte peut aussi produire des enzymes détoxifiantes pour s'en protéger, ainsi que des composés antibiotiques comme les phytoalexines. Des études d'analyses QTL associées à des dosages biochimiques ont montré un lien entre le niveau de sensibilité de *Arabidopsis* face à *Botrytis* et le taux d'une phytoalexine : la camalexine (Denby, Kumar, et Kliebenstein 2004). De même plusieurs études suggèrent que la réduction du taux de glutathione occasionne une hausse de sensibilité face à plusieurs agents pathogènes (Parisy et al. 2007; Roetschi et al. 2001). Chez le riz, plusieurs gènes codant pour des membres de la famille des glutathione S-transférase (GST) co-localisent avec des QTLs de résistances à plusieurs maladies.

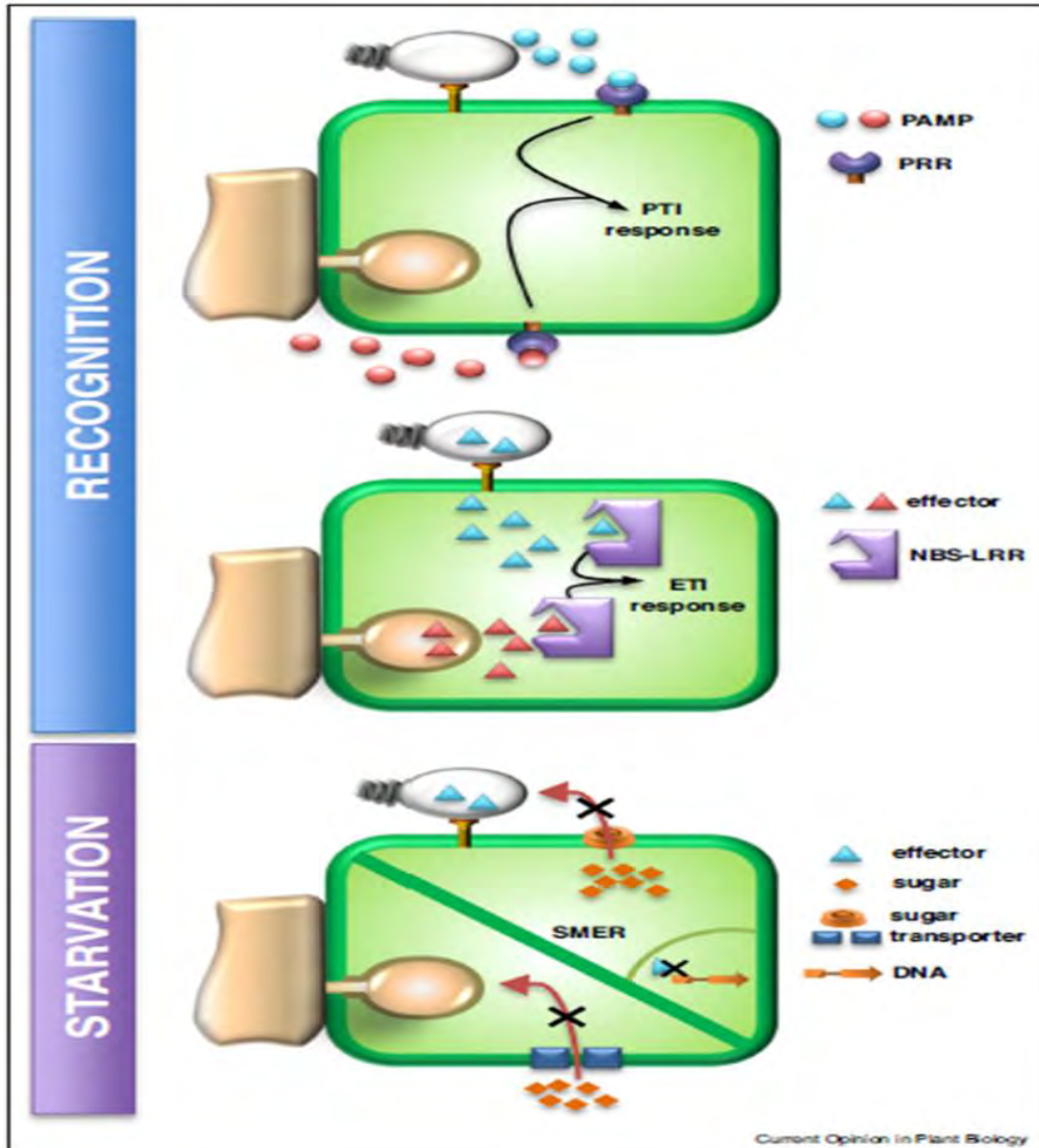
**(6) QTL issus de facteurs de sensibilité**

Une autre catégorie concerne des QTL correspondant à des gènes qui n'ont pas été identifiés comme impliqués dans les systèmes de défenses et dont la forme récessive confère de la résistance. On peut citer pour le riz le QTL *pi21*, utilisé depuis près d'un siècle au Japon et donc considéré comme très durable. Le gène *pi21* code pour une protéine riche en proline pouvant avoir un rôle dans le transport des métaux mais n'ayant aucune similarité avec des gènes de défense connus (Fukuoka et Okuno 2019). La désactivation du gène présent dans le locus *Pi21* provoque une augmentation de la résistance.

**(7) Implication du métabolisme primaire dans les défenses**

Il a été établi que l'infection du riz par *M. oryzae* provoquait de fortes modifications dans les voies métaboliques primaires et secondaires et que ces modifications étaient variables selon le génotype (Parker et al. 2009; Jain et al. 2017). Le mécanisme le plus souvent décrit est celui de l'apport d'énergie et/ou d'éléments nécessaires aux réactions de défense (Bolton 2009; Rojas et al. 2014). Plusieurs agents pathogènes sont capables de produire des effecteurs capables d'induire les gènes SWEET impliqués dans le transport de sucre afin d'optimiser l'apport de ressource à consommer. Des mutations de ces gènes peuvent alors fournir une résistance partielle face à l'agent pathogène, les effecteurs ne pouvant plus les reconnaître (Gupta 2020)

1



**Figure 9 : Illustration du concept de la Starvation Mediated Resistance (SMER)**

L'immunité de l'hôte qui repose sur la reconnaissance des agents pathogènes est divisée en deux couches : l'immunité induite par les PAMP (PTI) et l'immunité induite par les effecteurs (ETI). Indépendamment de ce système immunitaire, des mécanismes cellulaires chez l'hôte empêchent ou réduisent l'accès aux nutriments et conduisent également à une résistance par privation (SMER). Les infections unicellulaires et filamenteuses sont représentées dans chaque cellule hôte. Les cercles représentent les PAMP et les triangles représentent les effecteurs dérivés de l'appareil de sécrétion des bactéries (bleu) ou fongiques (rouge), et les losanges oranges les sucres dont les flux sont régulés par la SMER.

Modifiée d'après Oliva et al. 2017

1 On peut citer comme exemple le cas du riz face à *Xanthomonas* où des variations au niveau des  
2 promoteurs de deux gènes SWEET induisent une résistance (Zaka et al. 2018). Cette  
3 modification du métabolisme des sucres peut également être modulée par la plante. Un modèle  
4 théorique de Oliva et Quibod (2017) décrit le phénomène de *privation*, appelé *Starvation*  
5 *Mediated Resistance* (SMER). Ce modèle décrit le mécanisme de coupure des transporteurs de  
6 sucres (ou autres nutriments) pour empêcher l'agent pathogène d'y avoir accès (**Figure 9**).

## 7 **IV. L'impact de l'environnement sur la résistance**

### 8 **IV.A. Généralités sur les impacts de l'environnement sur les** 9 **interactions plante/agent pathogène**

10 Dans leur environnement, les plantes sont soumises à de nombreuses interactions positives ou  
11 négatives avec les éléments qui les entourent. Ces éléments peuvent être de nature abiotique (sol,  
12 lumière, eau...) ou biotique (champignons, virus, bactéries, plantes voisines...). Plusieurs revues ont  
13 documenté le fait que l'impact des facteurs environnementaux sur la résistance est loin d'être  
14 négligeable (Gutiérrez et al. 2015; Berens et al. 2019; Cohen et Leach 2019; Nobori et Tsuda 2019;  
15 Saijo et Loo 2020).

#### 16 *IV.A.1. Impacts de facteurs biotiques*

##### 17 *a) Cas du microbiome*

18 Le microbiome des plantes inclut l'ensemble des communautés microbiennes qui peuvent vivre,  
19 prospérer et interagir avec les différents tissus de la plante comme les feuilles, les tiges, les fleurs, les  
20 racines et les graines (Orozco-Mosqueda et al. 2018; Haney et Ausubel 2015). Plusieurs études ont fait  
21 la démonstration de l'impact positif du microbiome sur le développement (Ryu et al. 2003), la nutrition  
22 (Tkacz et Poole 2015; Jingying Zhang et al. 2019) et la défense contre les stress abiotiques (Jungwook  
23 Yang, Kloepper, et Ryu 2009) et biotiques (Lee et al. 2012).

24 Dans le cas du riz, plusieurs expériences ont montré l'impact de la composition du microbiome  
25 sur le développement de la pyriculariose. On peut citer par exemple la réduction de 76% des symptômes  
26 observée par W. Wang et al. (2016) entre des plantules dont les semences avaient été inoculées avec  
27 *Streptomyces* par rapport à des semences non inoculées. D'autre part il a été montré que des plants de  
28 riz inoculés avec la cyanobactérie *Calothrix elenkinii* ont une activité des enzymes de défense accrue  
29 par rapport à des plants non inoculés (Priya et al. 2015).



1 On peut également mentionner l'interaction inverse, comme l'impact de *M. oryzae* sur la structure des  
2 communautés du rhizobiome qui diffère entre des riz sauvages et des riz cultivés. Cette modification  
3 des structures est moins impactante chez les riz sauvages qui sont plus résistants (S. Shi et al. 2018).

#### 4 *b) Cas de l'association culturale*

5 La pratique de l'association culturale de plusieurs espèces végétales, ou de plusieurs variétés  
6 d'une même espèce, a un effet, le plus souvent négatif, sur le développement des bioagresseurs. Il a été  
7 reporté que 73% des combinaisons parmi plus de 200 études montraient une réduction de la maladie  
8 (Boudreau 2013). La grande partie de ces études expliquent le phénomène par les modifications  
9 épidémiologiques que la co-culture entraîne (canopée, micro-climat, la dilution de l'inoculum, barrières  
10 d'hôtes...). D'autres études ont montré que des modifications à l'échelle de la plante sont également  
11 provoquées par la co-culture. Ainsi une plante peut stimuler les défenses immunitaires de sa voisine (S.  
12 Zhu et Morel 2019).

#### 13 *IV.A.2. Impacts de facteurs abiotiques*

14 Les études sur les effets combinés d'un stress biotique et d'un stress abiotique sont relativement  
15 récentes. La conclusion générale de ces études est que l'effet de ces interactions sur les plantes est  
16 beaucoup plus complexe qu'un simple effet additif (Kissoudis et al. 2014). Il a d'ailleurs été montré que  
17 le système de signalisation et de défense des plantes face aux stress abiotiques se rapproche de celui mis  
18 en place face aux stress biotiques, comme la signalisation hormonale (Baggs et al. 2020; Bari et Jones  
19 2009) ou la production de ROS (Miller, Shulaev, et Mittler 2008). Les réactions de défenses aux  
20 différents stress sont coûteuses en ressources et en énergie pour la plante. Certaines sont même  
21 antagonistes (Atkinson et Urwin 2012). Ainsi une hypothèse de hiérarchisation des défenses a été  
22 élaborée. La priorisation entre les différentes voies de réponse au stress est supposée équilibrer les coûts  
23 élevés de déclenchement et de maintien des réponses au stress avec la quantité limitée de ressources  
24 dont dispose une plante. Les règles de priorisation de ce système restent toutefois débattues (Wolinska  
25 et Berens 2019).

#### 26 *c) Cas de la sécheresse*

27 Les effets majeurs de la sécheresse sont la perte d'eau des cellules et les bouleversements  
28 osmotiques que cela entraîne. La réponse de la plupart des plantes est de fermer les stomates de leurs  
29 feuilles afin de limiter les pertes d'eau par évapotranspiration, ce qui limite également la photosynthèse.  
30 La signalisation et la régulation de cet réponse ont été bien étudiées, mettant en évidence l'ABA comme  
31 l'hormone principalement impliquée (Prasch et Sonnewald 2015). Des études concernant plusieurs  
32 pathosystèmes ont mis à jour des effets du manque d'eau, tantôt négatifs et tantôt positifs, sur la réaction  
33 de la plante face à l'agent pathogène (Achuo et al. 2006; Choi et al. 2013; Ramegowda et al. 2013)..

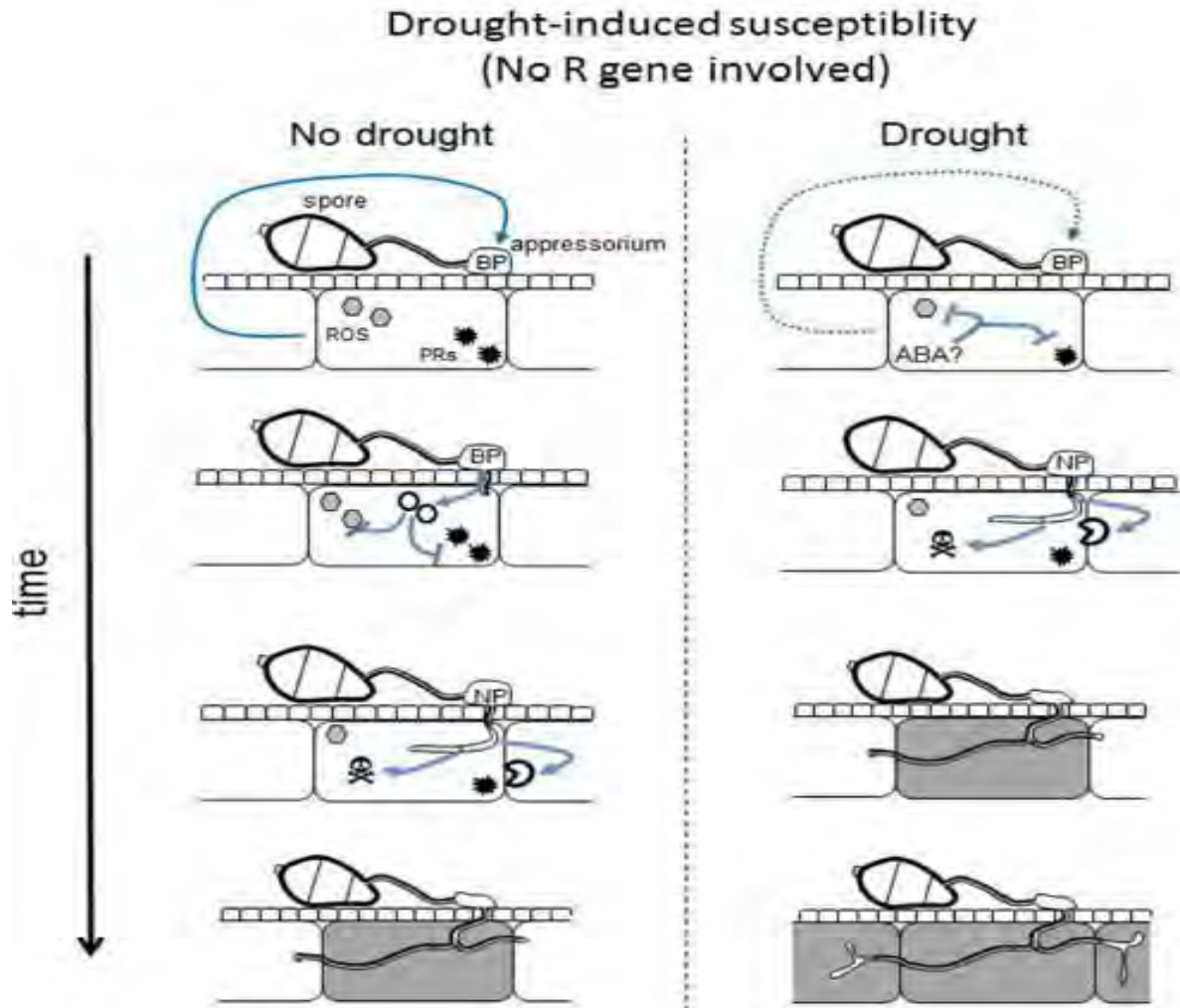
1 Dans le cas de notre pathosystème, l'effet d'un stress hydrique relativement soutenu conduit à une  
2 sensibilité accrue à *M. oryzae* (Bonman 1992; Bocco et al. 2012; Bidzinski et al. 2016) phénomène  
3 appelé Drought-Induced Susceptibility (**DIS**).

4 L'étude transcriptomique Bidzinski et al. (2016) a démontré que certains des gènes de défense  
5 de la variété Nipponbare étaient nettement moins exprimés dans le cas d'une infection par *M. oryzae*  
6 qui avait été précédé d'une période de sécheresse ; même constat pour plusieurs gènes codant des  
7 effecteurs chez le champignon. Dans le cas de la sécheresse, ce stress provoque un dysfonctionnement  
8 au niveau l'ABA, préjudiciable à la mise en place de voies de signalisation de la résistance aux maladies  
9 (De Vleeschauwer, Xu, et Höfte 2014). Le champignon pourrait alors détecter cet état et adapter son  
10 mode de fonctionnement, ne produisant alors pas d'effecteur et passant directement en mode  
11 nécrotrophique (**Figure 10**).

#### 12 *d) Cas de la température*

13 La température joue un rôle prépondérant dans la croissance des plantes. La phénologie de  
14 plusieurs plantes cultivées est d'ailleurs basée sur la somme moyenne des températures ce qui permet  
15 d'estimer les étapes du cycle quand un certain seuil de température est atteint. Ainsi des températures  
16 trop ou trop peu élevées peuvent provoquer des retards de croissance, voire être néfastes pour la plante.  
17 Les conséquences d'une température trop élevée se retrouvent à tous les niveaux : augmentation de la  
18 respiration, baisse de la photosynthèse, perturbation du cycle circadien, dégradation des protéines, pertes  
19 d'intégrité de la membrane, modification des relations source/puit et accélération de la sénescence. Les  
20 voies de signalisation du stress thermique sont complexes et ont été bien étudiées (Penfield 2008;  
21 Franklin 2009; McClung et Davis 2010). Concernant l'impact de la température sur les stress biotiques,  
22 il a été observé que des températures élevées supprimaient les capacités de résistances du tabac face au  
23 Virus de la Mosaïque du Tabac (TMV) (Király et al. 2008) et du poivron face au virus de la maladie  
24 bronzée de la tomate (Moury et al. 1998). Dans le cas du tabac, la cause de la perte de résistance vient  
25 de la modification de la conformation de la protéine R par la chaleur (Y. Zhu, Qian, et Hua 2010).  
26 Toujours dans les infections virales, il a été montré que la résistance de la pomme de terre est modulée  
27 par une température élevée face au « potato virus » M (PVM, Tatarowska et al. 2020) et Y (PVY, Szajko  
28 et al. 2019). Ces pertes de résistance ont également été démontrées dans d'autres pathosystèmes, avec  
29 parfois un effet d'induction de la résistance par la chaleur (Prasch et Sonnewald 2015). Ainsi le riz  
30 montre une augmentation de résistance face à la pyriculariose après un traitement à la chaleur. Une des  
31 hypothèses est que la chaleur peut déclencher l'augmentation de la production de molécules toxiques  
32 par la plante (Aver'yanov, Lapikova, et Djawakhia 1993). Une autre étude montre que la chaleur  
33 provoque des expressions de *Pi54* et de *WRKY45* plus faibles en cas d'infection (Madhusudhan et al.  
34 2019).

1



**Figure 10 : Modèle hypothétique de la sensibilité induite par la sécheresse.**

Sous des conditions non stressantes (à gauche) un signal informe le champignon de l'état général de l'immunité de la plante. Ce signal active le programme de pathogénicité associé à la biotrophie (**BP**) : des effecteurs sont produits (cercles blancs) pour inhiber la réponse immunitaire de la plante, y compris les ROS (hexagones) et les protéines de défense (étoiles noires). Une fois l'immunité inhibée et la biotrophie établie, un programme de nécrotrophie (**NP**) est activé. Cela induit des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire ainsi que d'autres toxines. Le tout entraîne la mort des cellules (cellules grises) et une croissance facilitée des agents pathogènes. Après la réponse à la sécheresse (à droite), certains signaux végétaux comme l'ABA et la production d'activités antioxydantes pourraient inhiber la production de la réponse immunitaire. Le signal végétal inconnu indiquant une forte immunité est plus faible ou n'est plus présent (pointillé). En l'absence de ce signal, le champignon active rapidement son programme nécrotrophe

D'après Bidzinski et al 2016

*e) Cas de la nutrition (hors nutrition azotée)*

Au-delà de l'aspect nutritif qu'apportent les éléments du sol, il a été montré que leur disponibilité pouvait impacter les interactions entre les plantes et les agents pathogènes (Solomon, Tan, et Oliver 2003; Walters et Bingham, s. d.; Dordas 2009). Il est donc nécessaire de comprendre ces interactions afin de mieux appréhender les pratiques culturales dans le choix de la culture et/ou les travaux et apports du sol.

**(1) Le Phosphore (P)**

Le phosphore (P) fait partie des trois macroéléments principaux avec l'azote et le potassium. Cet élément est principalement disponible sous forme d'orthophosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) et rentre dans la composition de plusieurs molécules dont les acides nucléiques, les phosphoprotéines, les phospholipides et l'ATP (Walters et Bingham 2007). L'impact de la fertilisation en phosphate sur les relations plantes/pathogènes est assez variable (Dordas 2009). Toutefois il a été observé que le phosphore, dans la majorité des cas, améliore l'état de santé général de la plante et donc réduit l'impact des maladies. La fertilisation en P peut se faire au sol, mais aussi en application foliaire. Il a été montré que la résistance pouvait être due à un effet direct sur l'agent pathogène (Develash et Sugha 1997). A l'opposé l'impact d'une fertilisation en P sur les mécanismes de défenses des plantes est connu depuis longtemps, le plus souvent en application foliaire. Cet effet sur les défenses a été observé, entre autres, chez le concombre (Gottstein 1989; Orober, Siegrist, et Buchenauer 2002), la vigne (Reuveni et Reuveni 1995), le maïs (Reuveni et Reuveni 1995), l'orge (Mitchell et Walters 2004) et le riz (Manandhar et al. 1998). L'application du P semble avoir des effets assez diversifiés sur les mécanismes de défense : chez le concombre l'apport de foliaire de P a été associé à la mort cellulaire, précédée d'une génération rapide de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène, ainsi qu'à une augmentation des niveaux d'acide salicylique (Orober, Siegrist, et Buchenauer 2002). Chez l'orge l'induction de résistance a été associée à l'augmentation de l'activité d'enzymes impliquées dans les défenses comme la peroxydase (POD) et la phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (Mitchell et Walters 2004). Inversement Campos-Soriano et al. (2020) ont mis en évidence une augmentation de sensibilité à la pyriculariose d'un riz dans un mutant du gène codant pour le microARN miR399 par rapport à son apparenté sauvage suite à l'apport de P. L'hypothèse avancée est qu'il existerait une interférence entre les voies de signalisation du P et celle des défenses.

**(2) Le Potassium (K)**

Le K est le troisième macroélément essentiel. Il se retrouve principalement dans le sol et la plante sous forme d'ions  $K^+$ . Dans le sol, seulement 0.5 à 3% des ions  $K^+$  sont disponibles. Le K est un élément essentiel car il rentre en jeu dans les régulations osmotiques (mouvements des stomates, extension cellulaire) et dans de nombreux mécanismes métaboliques (activation d'enzyme, photosynthèse...) (Walters et Bingham 2007). L'effet antagoniste des apports de K sur le développement des maladies est connu depuis longtemps (Dordas 2009; Walters et Bingham 2007). Par exemple chez le riz il a été montré dès 1976 qu'une carence en K provoque une sensibilité accrue à *Helminthosporium sigmoideum* et que le phénomène s'inverse après un apport de  $K^+$  (Ismunadji 1976). Ces observations ont été confirmées plus récemment chez le riz (Maheshwari et Sharma 2013; Raj et Pannu 2017), le maïs (Zinsou et al. 2020) et par application foliaire chez le haricot (Devi et al. 2020). On attribue ces effets aux fonctions du K dans le métabolisme. Par exemple le K participe à l'épaississement de la paroi et à la fabrication de protéines complexes. Le manque de K provoque une accumulation d'amides simples, éléments nutritifs des agents pathogènes (Dordas 2009). Si on se focalise sur le pathosystème riz/*M. oryzae*, il est intéressant de noter que la protéine OsAKT1 impliquée dans le transport et l'accumulation des ions  $K^+$  dans les cellules du riz peut être ciblée par l'effecteur *AvrPiz-t* de *M. oryzae*, ce qui provoque une réduction du taux de  $K^+$  dans la cellule, et *in fine* réduit la résistance. La suppression du gène *OsAKT1* annule l'effet bénéfique d'un apport de  $K^+$  pour la résistance (X. Shi et al. 2018)

**(3) Le Soufre (S)**

Le soufre est très bien connu pour son effet fongicide de contact, un effet amplement utilisé en agriculture. Il semble que la nutrition de la plante en S ait également un impact sur les agents pathogènes. Le S est un élément essentiel à la fabrication des acides aminés soufrés que sont la cystéine et la méthionine, mais aussi de coenzymes et de certaines catégories d'enzymes via l'ion fer/S. De plus le S est un élément essentiel pour les champignons, et le transfert de S de la plante vers des champignons biotrophes a déjà été montré, même si les mécanismes restent peu connus (Walters et Bingham 2007). De plus il a été montré qu'une fertilisation soufrée favorise une accumulation de cystéine (Schnug 1997) à partir de laquelle de nombreux composés de défense peuvent être fabriqués, notamment les phytoalexines ou le  $H_2S$ . Ainsi Bloem et al. (2004) ont mis en évidence l'augmentation de résistance du colza face à *Pyrenopeziza brassicae* et l'augmentation des taux cystéine et d'activité de L-cysteine desulphhydrase (LCD), une enzyme impliquée dans la production de l' $H_2S$ .

**(4) Le Silicium (Si)**

Le silicium (Si) est l'un des éléments les plus abondants de la lithosphère, et donc la plupart des sols en contiennent des quantités considérables (Epstein 1999). Le riz est l'une des plantes les plus demandeuses en Si, si bien qu'il est fréquent que cet élément soit apporté pour améliorer le rendement (Savant et al. 1997; Seebold et al. 2000; Detmann et al. 2012; Oliveira et al. 2019). Le Si est prélevé par les plantes sous forme d'acide silicique, puis est transféré directement vers les organes aériens pour y être polymérisé et accumulé sous forme de silicate (Ma et Takahashi 2002). Même si des études plus ou moins récentes montrent l'impact de cet élément sur le rendement (Tamai et Ma 2008; Detmann et al. 2012; Meena et al. 2014; Oliveira et al. 2019), le Si a principalement été étudié pour son implication dans les mécanismes de défenses face au stress abiotiques (Chen et al. 2011; Guntzer et al. 2012) et biotiques (Fauteux et al. 2005), et notamment dans la défense du riz face à la pyriculariose (Seebold et al. 2000; Datnoff et Rodrigues 2005; Cai et al. 2008; Oliveira et al. 2019). Le rôle du Si dans la défense du riz est attribué à son impact sur l'activité d'enzymes liées aux défenses telles que des polyphénol oxydases (PPO), les PAL, des chitinases et des POD, impliquées la synthèse de la lignine (Cai et al. 2008). De plus une autre étude a mis en lien la résistance induite par le Si avec l'accumulation de phytoalexines dans les tissus infectés (Rodrigues et al. 2004). Ainsi le Si semble impacter autant les défenses physiques que chimiques du riz.

Les autres éléments (Ca, Fe, Zn etc...) ont également été identifiés pour leur interaction avec différents pathosystèmes (Dordas 2009; Walters et Bingham 2007) mais ne seront pas abordés d'avantage dans ce manuscrit.

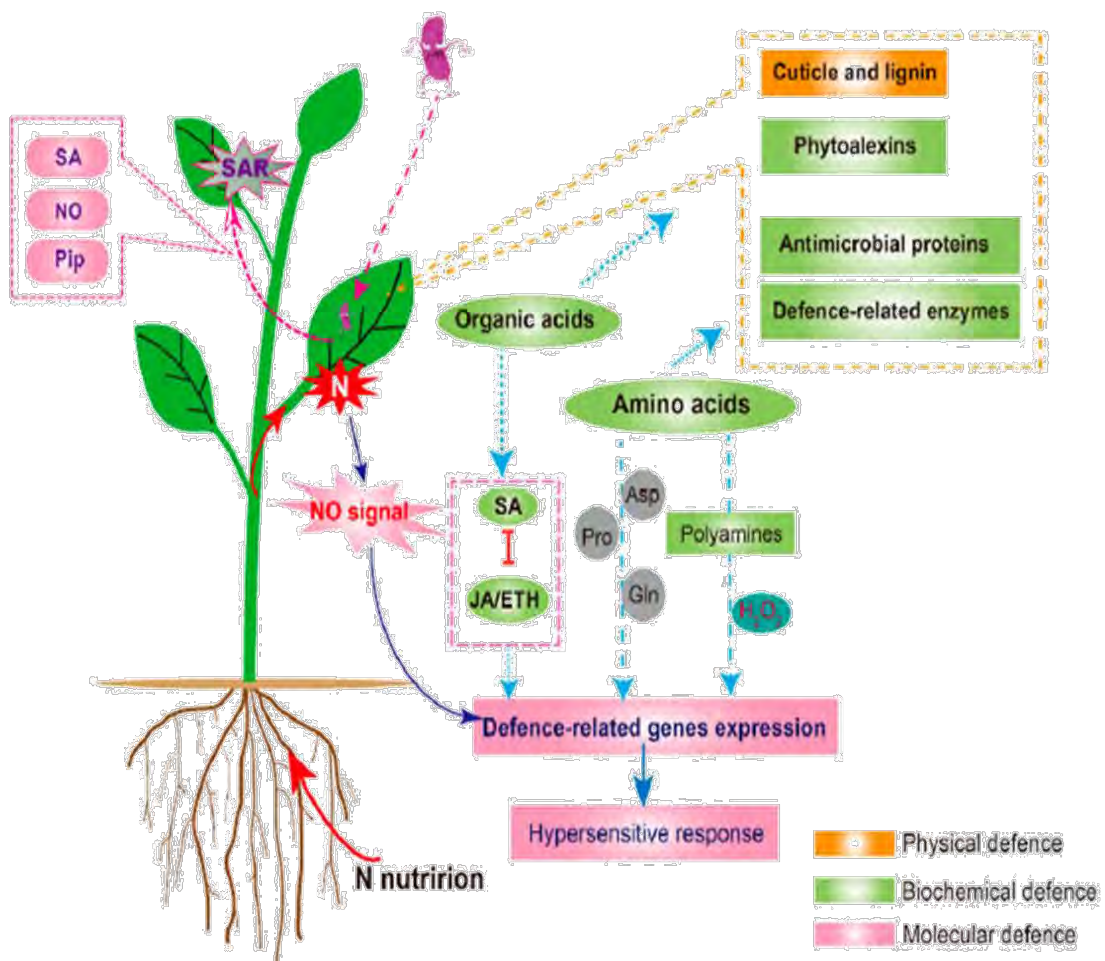
**IV.B. Cas de la Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS)***IV.B.1. Impact de la fertilisation azotée sur la sensibilité des plantes*

En dépit de ses avantages sur la productivité des cultures décrits précédemment, la fertilisation azotée est également connue pour modifier la sensibilité des plantes dans de nombreux pathosystèmes (Walters et Bingham 2007; Dordas 2009; Veresoglou et al. 2013; Fagard et al. 2014; Yuming Sun et Wang 2020).

1 **Tableau 2 : Impact de l'environnement azoté sur la gravité de plusieurs maladies.**

Pathogen or disease		Low N	High N
Obligate parasite	<i>Puccinia graminis</i>	decrease	increase
	<i>Erysiphe graminis</i>	decrease	increase
	<i>Oidium lycopersicum</i>	decrease	increase
	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	decrease	increase
	Tobacco mosaic virus	decrease	increase
	<i>Pseudomonas syringae</i>	decrease	increase
Facultative parasite	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	increase	decrease
	<i>Alternaria solani</i>	increase	decrease
	<i>Fusarium oxysporum</i>	increase	decrease

D'après Dordas et al. 2009



**Figure 11 : Modèle proposé par Sun at al. (2020) sur l'interaction entre la nutrition azotée et les défenses des plantes.**

L'azote est impliqué dans la mise en œuvre des défenses des plantes, avec des effets négatifs définis sur les défenses physiques et le contenu en phytoalexines, et des effets positifs sur les protéines antimicrobiennes. L'azote joue également un rôle de médiateur dans la réponse hypersensible en aval par le biais du métabolisme des acides aminés. En outre, la nutrition azotée régule la balance hormonale (SA; JA, ETH) et l'expression des gènes de défense qui en découlent par le biais du métabolisme des acides organiques ou par l'activité de régulation de l'oxyde nitrique (NO). Le signal NO est un pont important entre la nutrition azotée et la résistance des plantes, qui est étroitement liée aux formes azotées. Le signal NO et le SA modulent aussi la résistance systémique acquise (SAR) par le biais des ROS.

Modifié d'après Sun et al. 2020

1 Les différentes études menées sur cette thématique ne s'accordent pas sur un effet fixe de l'azote  
2 sur les relations plantes-agents pathogènes. Sun et Wang (2020) ont rassemblé 132 études consacrées à  
3 cette interaction menées entre 1944 et 2019 et ont établi que 54% des cas démontrent une augmentation  
4 de sensibilité, pour 37% une augmentation de résistance, et 9% une absence d'effet. Par exemple on  
5 peut noter un effet différent de l'apport d'azote sur la sensibilité de la tomate face à quatre agents  
6 pathogènes différents : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Oidium lycopersicum*, *Pseudomonas*  
7 *syringae* pv *tomato* et *Botrytis cinerea*. Toutefois une tendance semble se dessiner selon le mode  
8 trophique de l'agent pathogène. En effet il semble que l'augmentation de sensibilité soit plus fréquente  
9 dans les systèmes impliquant un agent pathogène biotrophe plutôt que nécrotrophe (**Tableau 2**, Dordas  
10 2009; Sun et Wang 2020). On notera par exemple que Mittelstraß et al. (2006) ont montré que la  
11 sensibilité de la pomme de terre en condition de fertilisation azotée élevée était accentuée face à  
12 *Phytophthora infestans* (biotrophe) et atténuée face à *Alternaria solani* (nécrotrophe). Malgré cela des  
13 contre exemples existent comme chez *A. thaliana* qui devient plus sensible face à *B. cinerea*, un  
14 champignon nécrotrophe, avec l'ajout d'azote. De plus il a été également été montré que l'impact de la  
15 fertilisation sur la sensibilité pouvait dépendre de la forme d'azote appliquée et de la biologie du sol  
16 (Celar 2003), de l'isolat (ex : la tomates face à *B. cinerea*, Lecompte, Abro, et Nicot 2010) ainsi que du  
17 génotype de la plante (ex : Riz face à *M. oryzae*; Ballini, Nguyen, et Morel 2013). Ces résultats suggèrent  
18 que la modification de la sensibilité des plantes par la fertilisation azotée résulte de plusieurs  
19 mécanismes différents.

#### 20 **IV.B.2. Hypothèses sur l'impact de l'azote dans la relation plante/agent pathogène (Figure 11)**

21 Le premier effet constaté est l'effet direct engendré par l'apport d'azote au niveau du sol. En  
22 effet, un apport supplémentaire peut en tout premier lieux favoriser les agents pathogènes racinaires  
23 comme les champignons du genre *Fusarium* que le nitrate peut avantager au détriment d'autres  
24 champignons antagonistes de la rhizosphère (Celar 2003). On peut également citer *Thielaviopsis*  
25 *basicola*, un champignon causant la pourriture noire des racines du tabac, dont la croissance est stoppée  
26 par l'apport important d'ammonium (Harrison et Shew 2001). La fertilisation azotée provoque une  
27 meilleure croissance, un développement foliaire important et *in fine* plus de rendement. Mais cette  
28 croissance accrue provoque une modification de la canopée et du micro climat autour de la plante,  
29 favorisant ainsi le maintien de l'humidité et d'une semi obscurité favorables au développement et à la  
30 dissémination des agents pathogènes (Lemmens et al. 2004). C'est pourquoi les augmentations de  
31 densité au champ provoquées par la fertilisation sont connues pour favoriser le développement des  
32 maladies (Tompkins, Fowler, et Wright 1992; Loyce et al. 2008; Baccar et al. 2011; Sester M. et al.  
33 2014)

34



1 Tableau 3 : Enzymes ou composés liés à la défense et régulés par l'azote.

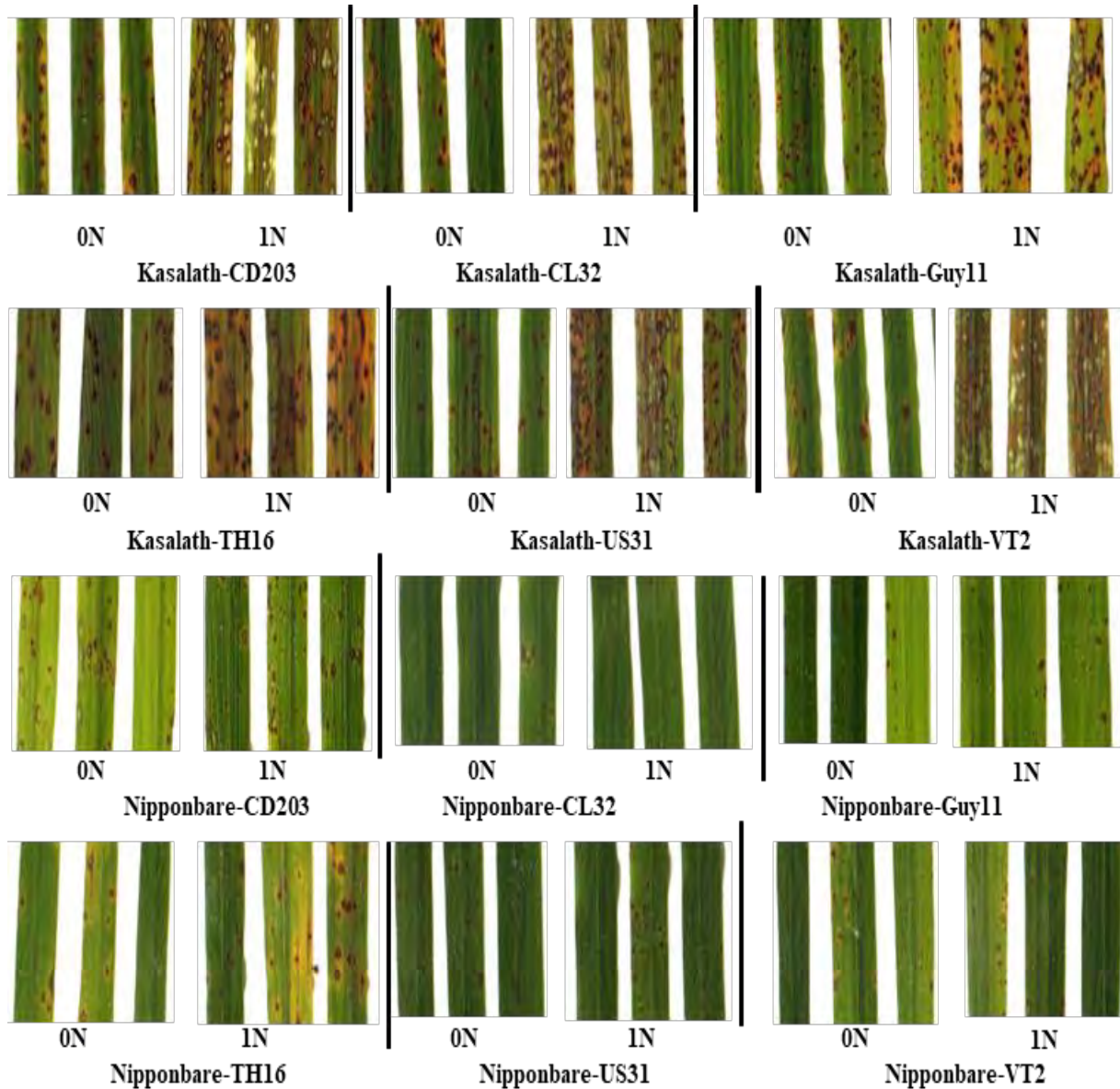
Host	Disease	Pathogen	Defence-Related Enzymes/Compounds
Apple tree	Scab disease	<i>Venturia inaequalis</i>	Procyanidins, Flavonols
Grapevines	Powdery mildew	<i>Uncinula necator</i>	Flavonol glycosides, Cinnamic acid
Medicago truncatula	Root rot	<i>Aphanomyces euteiches</i>	Soluble phenolics, Phenylalanine ammonia lyase
Potato	Early blight	<i>Alternaria solani</i>	Chlorogenic acid, Flavonols, Neochlorogenic acid
	Late blight	<i>Phytophthora infestans</i>	Phenylalanine ammonia lyase, Polyphenol oxidase, chitinase, Flavonols
	Leaf necrosis	potato virus Y	Phenylalanine ammonia lyase
Rice	Rice blast	<i>Magnaporthe grisea</i>	Sulfur-rich thaumatin-like protein
		<i>Magnaporthe oryzae</i>	Phenylalanine ammonia lyase, Superoxide dismutase, Glucanases, Chitosanase, Phenylalanine ammonia lyase,
	Sheath rot	<i>Sarocladium oryzae</i>	Phenols
Tomato	Bacterial speck	<i>Pseudomonas syringae</i>	Superoxide dismutase
	Fusarium wilt	<i>Fusarium oxysporum</i>	Phenols, peroxidase

D'après Sun et al. 2020

1            Au-delà des impacts sur le couvert végétal, l'azote provoque également des changements  
2 physiologiques au sein de la plante, provoquant également des modifications dans les interactions  
3 plantes/ agents pathogènes. En effet il a été montré par (Neumann et al. 2004) qu'un apport tardif d'azote  
4 n'avait pas d'effet sur la canopée du blé d'hiver mais que la surface de lésions de *Puccinia striiformis*  
5 *f.sp. tritici* était plus importante par rapport au contrôle. Ils ont alors conclu que la différence de  
6 sensibilité était dû à l'augmentation de la quantité d'azote dans la feuille. Une autre étude de (Olesen  
7 2003) est arrivée à une conclusion similaire dans le cas du mildiou sur blé. En effet, l'azote, sous forme  
8 minéral et/ou organique, fait partie des éléments dont l'agent pathogène se nourrit. Ainsi plusieurs études  
9 ont montré que certains champignons étaient capables de stimuler l'accumulation de certains acides  
10 aminés, notamment le gamma-aminobutanoic acid (GABA), dans la zone d'infection (Solomon et  
11 Oliver 2002; Bönnighausen et al. 2015). De plus le statut azoté impacte également les mécanismes de  
12 virulence des agents pathogènes. En effet il a été montré que certains gènes codant pour des effecteurs  
13 étaient surexprimés dans un milieu carencé en azote (Snoeiijers et Perez-Garcia 2000), ou dans les tissus  
14 infectés comme le gène *Avr9* du champignon pathogène de la tomate *Cladosporium fulvum* (Pérez-  
15 García et al. 2001). Le phénomène opposé à également été observé, où des gènes d'effecteurs de *M.*  
16 *oryzae* (H. Huang et al. 2017) et de *Cladosporium fulvum* (Thomma et al. 2005) sont surexprimés dans  
17 une condition d'excès d'azote. Ces études suggèrent un rôle du statut azoté du milieu dans l'induction  
18 de la pathogénicité (Yuming Sun et Wang 2020).

19            Enfin l'apport d'azote semble également avoir un effet sur les mécanismes de défenses des  
20 plantes. Au niveau des défenses physiques, il a été montré que le statut azoté de la plante avait un effet  
21 néfaste sur la production et le dépôt de lignine au niveau des parois cellulaires, rendant les plantes plus  
22 sensibles à la pénétration des microorganismes et des insectes (Plavcová et al. 2013; W. Zhang et al.  
23 2017). Il en est de même avec l'épaisseur de la cuticule de l'épiderme, également impactée négativement  
24 par l'azote dans les feuilles de tomate (Jauset et al. 2000) et le fruit de la pêche (Daane et al. 1995).  
25 Concernant les défenses chimiques, plusieurs études ont montré que les concentrations des molécules  
26 de défense peuvent être modifiées par la fertilisation (Yuming Sun et Wang 2020)(**Tableau 3**). Les  
27 hormones de régulation des défenses sont également impactées. A titre d'exemple on peut citer l'effet  
28 négatif de l'apport de N sur l'accumulation de SA, et sur l'expression de certains gènes de défense  
29 (*WRKY33*, *NPRI*) chez *Arabidopsis* (Yaeno et Iba 2008; Maekawa et al. 2012; Verly et al. 2020). De  
30 même la déficience en N impacte la voie de synthèse du JA, augmentant la résistance de la tomate à *B.*  
31 *cinerea* (Scalschi et al. 2015) ; à l'opposé un surplus d'azote modifie aussi cette voie chez *Arabidopsis*,  
32 favorisant le développement de bactéries pathogènes (Farjad et al. 2018). La défense est aussi corrélée  
33 avec le NO, lui-même régulé par la nutrition azotée : le nitrate augmente la production de NO via la  
34 Nitrate Reductase, et inversement l'ammonium inhibe sa production (Modolo et al. 2005).

1



**Figure 12 : Nitrogen Induced Susceptibility de la variété Kasalath et maintien du niveau de sensibilité de Nipponbare face à six souches de *M. oryzae***

*Photo prises 7 jours après inoculations. Inoculation faites le lendemain d'une fertilisation différentielle 0N/1N après 4 semaines de croissance en conditions contrôlées.*

*0N : solution nutritive PK*

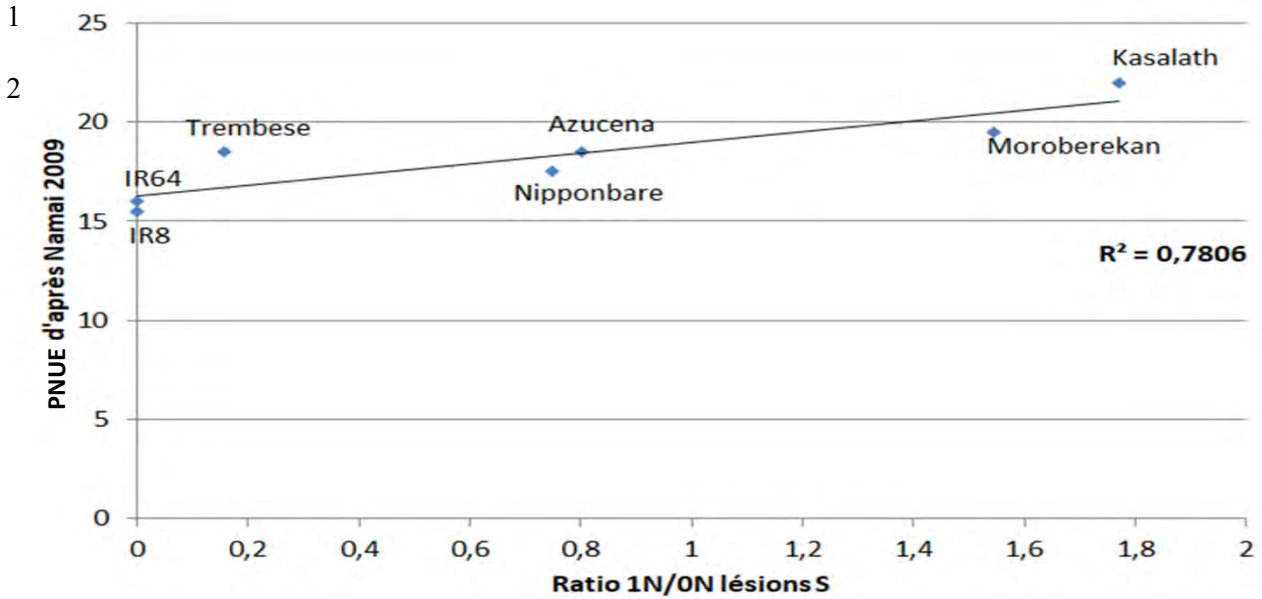
*1N : solution nutritive NPK avec 40mg/L de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$*

1 La production de NO via la NR a été associée à la réaction de HR chez *Arabidopsis* par l'étude d'un  
2 double mutant de la NR chez qui la HR n'était plus présente face à *Pseudomonas syringae pv.*  
3 *maculicola* (Modolo et al. 2006), et plus récemment sur le tabac (Mur et al. 2019). Ces résultats  
4 suggèrent que le signal NO peut être un autre lien entre le métabolisme de l'azote et la résistance des  
5 plantes, en manipulant les réponses immunitaires qui sont en aval du signal NO

#### 6 *IV.B.3. Etat des lieux des connaissances de la NIS chez le riz*

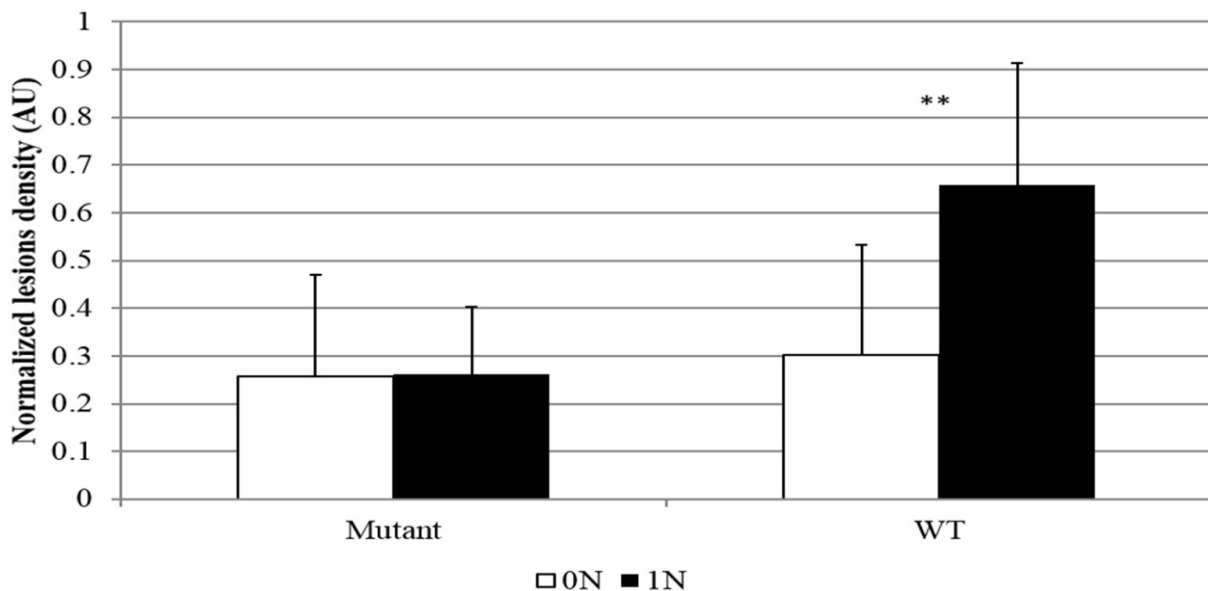
7 L'interaction entre l'azote et la pyriculariose du riz est très étudiée, avec dans la majorité des  
8 cas une augmentation de sensibilité (Otani 1959; Matsuyama 1975; Bonman 1992; Bhaskar, Rao, et  
9 Reddy 2001; Ballini, Nguyen, et Morel 2013; Sester M. et al. 2014; H. Huang et al. 2017; W. Zhang et  
10 al. 2017). L'augmentation de la pyriculariose a été référencée plusieurs fois au champ au cours des  
11 soixante dernières années (Otani 1959; Kürschner 1992; Bonman 1992; Long 2000) et plus récemment  
12 avec des travaux de Sester M. et al. (2014); et Dusserre et al. (2017) où il a été montré que des pratiques  
13 d'agriculture de conservation permettaient de contrôler la pression de pyriculariose par le contrôle de la  
14 nutrition en N. Les phénotypes observés dans chacune de ces études divergent quelque peu.  
15 L'augmentation du nombre et de la taille des lésions a été observé dans la majorité des cas. Toutefois  
16 certaines études ont également observé une augmentation de la capacité du champignon à se propager  
17 (Mukherjee et al. 2005). Une des principales explications du phénomène était l'effet de la croissance  
18 végétative accrue dû à un fort apport précoce d'N, favorisant alors le développement du champignon  
19 par modification du microclimat. La solution retenue à l'époque fut de faire des apports fractionnés dans  
20 le temps afin de limiter la croissance végétative (Kürschner 1992). Ballini, Nguyen, et Morel (2013) ont  
21 décrit un système expérimental en conditions contrôlées permettant l'observation de l'augmentation de  
22 la sensibilité d'un cultivar après un traitement azoté. Le système en question s'affranchit des effets  
23 épidémiologiques et des effets de la fertilisation sur le couvert végétal. Ainsi il met en évidence  
24 l'induction de la sensibilité chez le riz par l'azote à l'échelle d'une plante : ce phénomène a été nommé  
25 **Nitrogen-Induced Susceptibility** ou **NIS**. C'est sous cette appellation que nous décrirons le phénomène  
26 d'augmentation de sensibilité à l'échelle d'une plante dans la suite du manuscrit.

27 Une des premières hypothèses expliquant la NIS chez le riz était que l'apport d'azote provoquait  
28 un amincissement de la paroi cellulaire facilitant la pénétration de l'appressorium de *M. oryzae*.  
29 (Matsuyama 1975; Wilson et Talbot 2009). Cette hypothèse a été reprise par Talukder, McDonald, et  
30 Price (2005). Toutefois bien que l'impact de l'azote sur les parois ait été confirmé récemment (W. Zhang  
31 et al. 2017), l'implication de ce phénomène dans la pénétration de *M. oryzae* a été infirmé par une étude  
32 cytologique réalisée par (H. Huang et al. 2017) où la pénétration de l'appressorium n'est pas modifiée  
33 par la fertilisation azotée alors que les plantes montrent un phénotype de NIS. En revanche cette étude  
34 a mis en évidence l'augmentation de la vitesse de développement du champignon après pénétration,  
35 laissant supposer que la NIS observée est due à une croissance accrue du champignon in *planta*.



**Figure 13: Relation entre les PNUE (Physiological Nitrogen Use Efficiency) et la valeur NIS**

Corrélation entre la NIS et la PNUE issue de la littérature par (Namai et al ; 2009) sur plusieurs cultivars de riz. La valeur NIS est issue du ratio entre le nombre de lésions sensibles de plantes soumises à une fertilisation avec azote (1N) et le nombre de lésions de plantes du même génotype soumises à une fertilisation sans azote (0N). Souches utilisées : GUY11.



**Figure 14 Symptômes de pyriculariose sur des lignées mutantes pour le gène OsGS1-2.**

Les mutants ont été obtenus à partir de la variété Dongjin par insertion d'un élément transposable au niveau du gène OsGS1-2. Les symptômes (causés par la souche de *M. oryzae* GUY11) ont été comptés 5 jours post inoculation sur 8 réplicas. 0N et 1N correspondent aux traitements appliqués sur le riz 1 jour avant inoculation.

\*\* test de Student;  $p < 0.01$ .

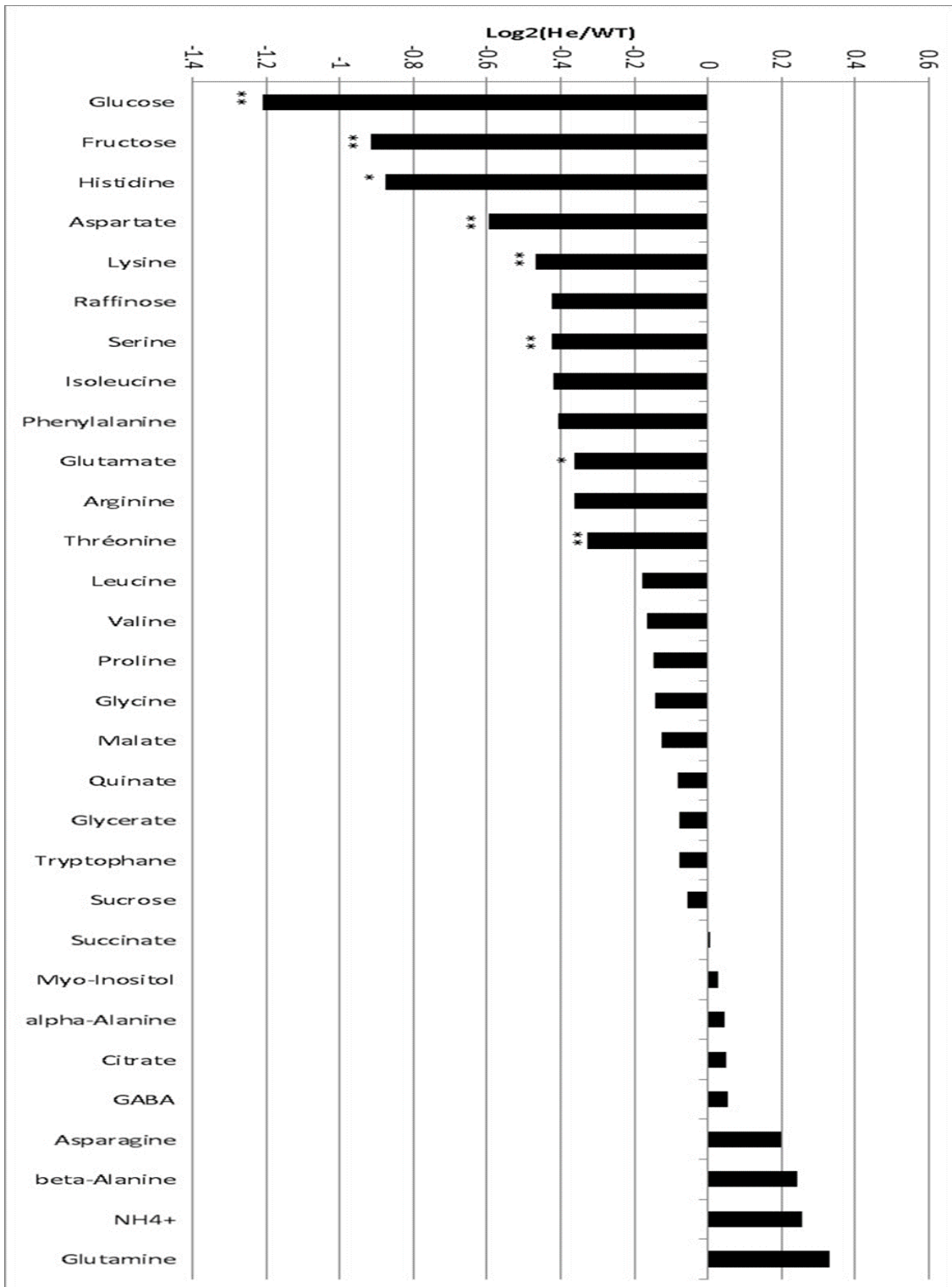
1 Les études récentes sur la NIS chez le riz ont également montré des fluctuations du phénotype selon le  
2 cultivar (Ballini, Nguyen, et Morel 2013;H. Huang et al. 2017). Ballini, Nguyen, et Morel (2013) a mis  
3 en évidence que l'ajout d'azote affecte partiellement l'effet d'un *R*-gène, *Pi1*, sans toutefois conduire à  
4 l'effondrement de la résistance. En revanche deux autres *R*-gènes, *Co39/Pia* et *Pi2*, se sont montrés  
5 robustes face à l'ajout d'azote, les cultivars les possédants sont donc restés complètement résistants.  
6 Enfin le dernier résultat important de cette étude est la mise en évidence d'un QTL appelé *NIS1*, situé  
7 sur le chromosome 1, dont l'allèle dominant issu de la variété Kasalath confère la NIS. H. Huang et al.  
8 (2017) ont également montré que le phénotype d'un cultivar témoin NIS, Kasalath, riz *aus*, est  
9 observable face à six souches différentes de *M. oryzae*. Le cultivar témoin négatif Nipponbare maintient  
10 également son phénotype « No NIS » face à ses souches (**Figure 12**). Cette étude est la seule  
11 actuellement disponible et mettant en évidence une diversité génétique de la réponse NIS. Une analyse  
12 de ce type pour l'ensemble d'une sous-espèce de riz permettrait de mieux connaître les déterminants  
13 génétiques de la NIS et d'apporter des solutions aux sélectionneurs désireux de maintenir des niveaux  
14 faibles de maladies même sous forte fertilisation azotée. De plus leur étude RNAseq menée en condition  
15 de NIS a montré que l'azote a un effet positif sur l'expression de plusieurs gènes relatifs aux défenses,  
16 en dépit d'un phénotype NIS avéré. Ils ont également montré que l'expression de gènes de virulence de  
17 *M. oryzae* était favorisé par l'azote. Cette observation met en lumière la part que l'agent pathogène joue  
18 dans ce système. L'hypothèse issue de ces observations est que la surexpression des gènes de  
19 pathogénicité de *M. oryzae* induit une forte production d'effecteurs qui auraient le potentiel de surpasser  
20 les défenses du riz, pourtant elles aussi induites par la fertilisation azotée.

#### 21 *IV.B.4. Une potentielle relation entre la NIS et la NUE*

22 L'étude de Ballini et al. (2013) a permis de mettre en évidence le locus *NIS1* présent sur le  
23 chromosome 1. Le locus *NIS1* contient plusieurs catégories de gènes potentiellement impliqués dans la  
24 régulation de la résistance, mais aussi deux gènes impliqués dans le métabolisme azoté : *OsNRT2.3a* et  
25 *NADH-GOGAT1*. Nous avons montré dans les **II.B.** et **II.C.** l'implication de l'activité de ces protéines  
26 dans la NUE. Il est intéressant de noter que l'allèle du gène GOGAT de Kasalath, de la sous-espèce *Aus*  
27 (proche des *Indica*), apporte un gain important dans le poids final des grains comparé à des variétés  
28 *japonica* (Yamaya et al. 2002). Lorsque l'on compare les mesures de PNUE (Namai et al, 2009) sur  
29 différentes variétés (**Figure 13**) avec ce que l'on sait de la NIS pour ces variétés (Ballini et al, 2013), on  
30 s'aperçoit qu'une partie des variétés dont les PNUE sont les plus élevées sont également connues pour  
31 avoir une NIS importante.

32

1



**Figure 15 : Métabolome du mutant de riz OsGS1-2**

Variation de la concentration en métabolites entre des plantes mutantes (hétérozygotes) et sauvages (WT). Les prélèvements ont été effectués sur les plantes de 4 semaines sur la dernière feuille formée. Significativité de la variation \* :  $p$ -value < 0.05; \*\* :  $p$ -value < 0.01; \*\*\* :  $p$ -value < 0.001

1 Il a également été démontré que le gène *OsGS1-2* codant pour une isoenzyme de la Glutamine  
2 Synthétase (GS) semblait être important au développement de la NIS. En effet sur la base du différentiel  
3 d'expression de ce gène (Huang et al 2017), ce gène pourrait être un candidat possible expliquant la  
4 NIS. Des lignées mutantes (hétérozygotes seulement) pour ce gène ont pu être obtenues. Il a ensuite été  
5 montré que ces mutants ne présentaient plus de NIS contrairement aux les plantes sauvages de ces  
6 lignées (**Figure 14**). Ces résultats tendent à prouver que la glutamine peut être un métabolite clé dans  
7 les mécanismes de la NIS. Le métabolome de ce mutant a montré qu'il était légèrement appauvri en  
8 certains acides aminés (dont le glutamate et l'aspartate) et en certains sucres (**Figure 15**). Or l'impact  
9 du glutamate et des métabolismes associés a déjà été montré comme important dans plusieurs autres  
10 pathosystème (Seifi et al. 2013). En effet il a été montré qu'une mutation dans le gène *Fd-GOGAT* avait  
11 pour effet un enrichissement des tissus en glutamine et un appauvrissement en glutamate, et ceci associé  
12 à une augmentation de la résistance à *Xanthomonas* (Sun et al. 2017).

13





# Projet de thèse

Pour faire face aux grands enjeux de l'avenir que sont l'accroissement de la population mondiale et le changement climatique, l'agriculture doit plus que jamais revoir ses ambitions, en cessant de suivre uniquement des objectifs de production priorisés avant les années 2000 et en incluant des pratiques durables. Les éléments les plus limitants pour remplir ces objectifs de productions durables sont, entre autres, la nutrition et la protection des cultures. Ces deux facteurs et leur interaction sont au cœur de ce projet de thèse. Ce manuscrit retrace trois ans de travaux pendant lesquels nous nous sommes intéressés à l'effet de la fertilisation azotée sur le riz et sur les conséquences qu'elle provoque lors de l'infection de *Magnaporthe oryzae*. Les nombreuses études présentées dans l'Introduction décrivent la sensibilité induite par l'azote (NIS) dans le cas de l'interaction entre le riz et *M. oryzae*. Plusieurs informations sur la génétique de la NIS et la physiologie des plantes suggèrent qu'il existe un lien entre l'utilisation de l'azote par le riz et la NIS. Ainsi mon projet de doctorat s'est articulé autour de la possible relation entre la NIS et la NUE. De plus les enjeux et contraintes locaux ont orienté mes recherches sur l'étude de ce lien chez la sous-espèce des riz *japonica tempérés* qui sont cultivés dans la région Occitanie (et PACA).

## Hypothèses et démarches mise en place

De par les éléments présentés précédemment, plusieurs hypothèses ont été retenues :

- ✓ **Il existe une diversité d'utilisation de l'azote impactant la NUE.**
- ✓ **La NIS est contrôlée génétiquement, héritable et donc contre-sélectionnable.**
- ✓ **Il existe un « signal » moléculaire provoquant l'augmentation de l'agressivité de *M. oryzae* qui pourrait être un métabolite associé à une composante de la NUE, le principal suspect étant au départ la glutamine.**

Au court de ces trois années de doctorat nous avons testé ces hypothèses via différentes approches. L'ensemble de la démarche est établi dans la **Partie 1** qui détaille également les approches et expériences non développées dans les autres Parties. Dans un premier temps nous avons évalué la diversité d'utilisation de l'azote dans un panel de douze variétés de riz *japonica tempérés* en conditions contrôlées et en plein champs. Cette approche sera abordée dans la **Partie 2** de ce manuscrit (publication soumise à Field Crop Research). Dans un second temps nous avons évalué la NIS phénotypiquement sur un large panel de variétés de riz *japonica tempérés* puis nous avons associé ces phénotypes avec les données génétiques par une étude d'association et constituant la **Partie 3** (Publication soumise à BMC Plant Biology). Enfin la **Partie 4** décrit la recherche du « signal » déclencheur de la NIS. Cette partie met en relation les observations phénotypiques liées à la NUE et à la NIS avec des données transcriptomiques et biochimiques des mêmes génotypes de riz décrits dans les Parties précédentes. La fin de cette Partie est consacrée à la mise en commun et à la discussion de l'ensemble des approches développé dans le manuscrit.



# Partie 1 : Démarche expérimentale : vue globale des expériences menées en champ et en conditions contrôlées

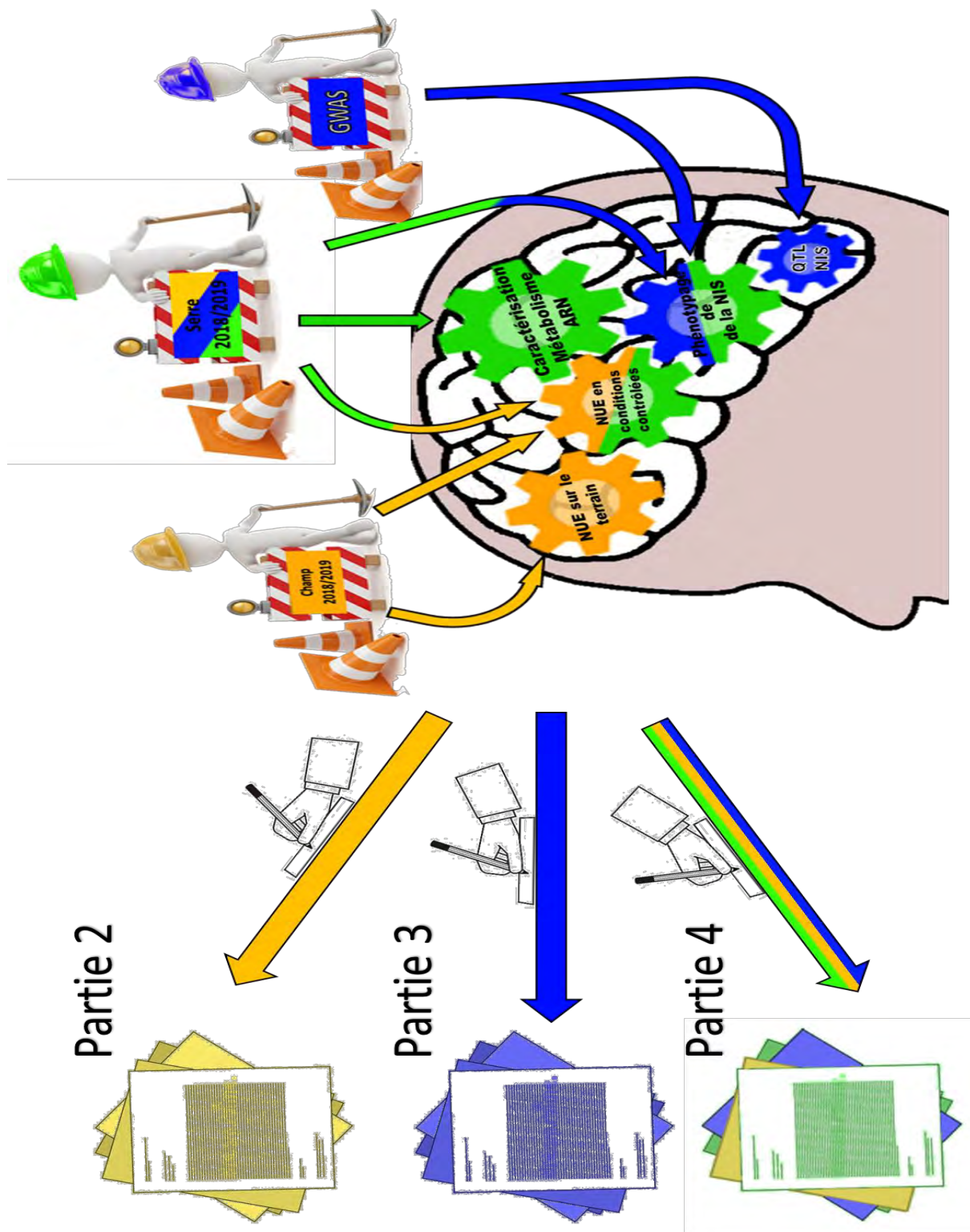
Les hypothèses posées dans ce projet impliquent des expérimentations à toutes les échelles de la plante : de l'ADN à la parcelle cultivée, en passant par la cellule et la plante entière. Cette partie du manuscrit a pour objectif de fournir une vision globale des différentes approches expérimentales choisies pour tester nos hypothèses, posant un cadre aux résultats présentés dans les parties suivantes.

Ainsi pour tester la première hypothèse, des expériences d'évaluation de l'utilisation de l'azote ont été effectuées dans des conditions contrôlées en serres et en champ. C'est à partir d'un criblage de la première expérimentation en champ faite en 2017 que les génotypes inclus dans les autres expérimentations ont été choisis.

En parallèle, pour tester l'hypothèse des déterminants génétiques de la NIS, une étude de Genome Wide Association a été lancée. Ce type d'étude nécessite un phénotypage à haut débit du phénomène (ici la NIS) afin de le mettre en relation avec les données génomiques. Je présenterai ici le plan expérimental mis en place au départ, où il a été nécessaire de trouver un équilibre entre la diversité des génotypes et leurs différents niveaux de sensibilité à plusieurs souches de *M. oryzae*.

Les expérimentations d'évaluation de l'efficacité d'utilisation de l'azote (NUE) en conditions contrôlées ont été conduites dans des serres, en 2018 et 2019, où l'ensemble des conditions climatiques a été contrôlé pour faire des mesures éco-physiologiques afin d'évaluer cette efficacité. Ces évaluations de la NUE, effectuées sur deux années, ont été conduites en même temps et dans le même environnement que des mesures de NIS et des prélèvements dont on a par la suite extrait l'ARN et les métabolites. Cette combinaison d'expériences avait pour objectif de tester la troisième hypothèse énoncée **55**.

L'ensemble de la démarche expérimentale du projet de thèse est décrit dans la **Figure 16**



**Figure 16 : Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale**

Trois expériences majeures ont été effectuées au cours du doctorat : les expérimentations au champ, les expérimentations en serres, et le GWAS en serre. Les résultats de chacune d'entre elles ont fourni les éléments qui ont permis de construire le raisonnement aboutissant aux trois parties qui suivent cette Partie 1.

Les couleurs représentent les grands domaines étudiés : en jaune l'utilisation de l'azote, en bleu la sensibilité à la pyriculariose et en vert les modifications moléculaires.

## I. Démarche de la caractérisation de l'utilisation de l'azote au champ

Dans cette partie je détaille la démarche expérimentale de la caractérisation de la NUE en plein champ, effectuée en Camargue en 2017, 2018 et 2019. Je décris les résultats de 2017 (acquis avant le début de la thèse), nécessaires pour comprendre le choix des génotypes sur lesquels nous avons travaillé par la suite. Les résultats de 2018 et 2019 ont été traités dans la **Partie 2**. La thèse prenant place dans le projet SEPYA, les génotypes non-inscrits au catalogue ont été notés avec la nomenclature SEPYA\_XXX, afin de garantir la confidentialité des génotypes en cours de sélections du CFR.

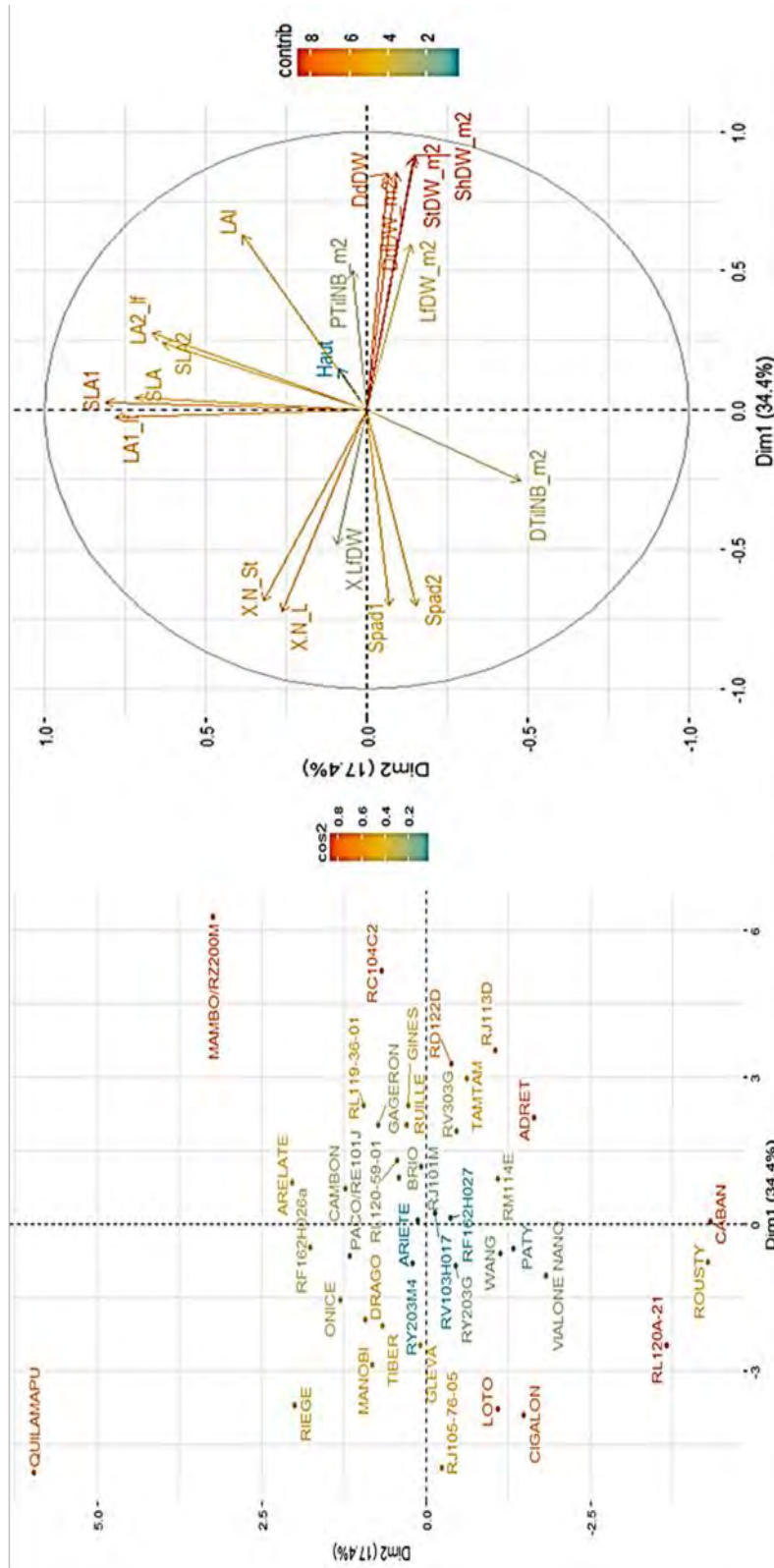
### **I.A. Première expérimentation au champ (été 2017)**

#### *I.A.1. Mise en place de l'essai*

L'essai comprenait 50 génotypes de riz *japonica tempérés* adaptés à la riziculture européenne. Ces 50 variétés avaient été choisies sur la base de leur niveau de sensibilité à la pyriculariose et de manière à représenter une certaine diversité. Le choix s'est porté sur des variétés issues des collections internationales complétées avec des lignées en cours de sélection au CFR. L'essai a été découpé en deux modalités de fertilisation azotées N100 et N150. Ces modalités représentent la quantité d'azote apportée sur l'ensemble du cycle, avec 50 unités (U, équivalent à 1 Kg d'azote/ha) apportées avant le semis commun aux deux modalités, 50U apportées quatre semaines après le semis, également commun aux deux modalités, et enfin 50U supplémentaires uniquement pour la modalité N150, au début de la montaison. Deux micro-parcelle pour chaque génotype ont mises en place pour chaque modalité. Le plan d'expérience était en split-plot (**Annexe 1**). Diverses mesures ont été effectuées au stade tallage, à floraison (étamines sorties sur plus de 50% de la micro parcelle) et à maturité : hauteur de plantes, biomasses des organes aériens, mesures SPAD (« Soil And Plant Analyze Developments », qui évalue la teneur en chlorophylle des feuilles), surfaces foliaires, efficacité de tallage, composantes du rendement. Ajoutée à ces mesures la composition en élément azotés des organes aériens a été déterminé par spectrométrie proche infra-rouge. Grâce à ces mesures j'ai pu établir une estimation de NUE et de ses composantes pour chaque micro-parcelle. Ce protocole, utilisé en 2018 et 2019, est développé dans la **Partie 2**. Ce paragraphe s'attarde sur les traits qui ont permis de sélectionner les variétés utilisées dans les autres expériences.

#### *I.A.2. Criblage de 50 variétés de riz européens pour leur utilisation de l'azote*

La première chose à noter est que six génotypes ont été écartés pour des raisons de mauvaise levée les rendant difficilement comparables aux autres plantes. Ensuite, du fait des limites expérimentales imposant seulement deux répétitions, aucune des moyennes présentées pour cette expérimentation n'a de valeur statistique valable, je ne décrirai donc que des tendances.



**Figure 17 : Diversité morphologique de 50 génotypes de riz soumis à une fertilisation à 150U à floraison**

Les valeurs sont issues de la moyenne des échantillonnages des deux répétitions disponibles pour chaque génotype. Les plantes ont été récoltées à floraison en 2017 sur transec de 20 cm.

Avec **LAI** : Leaf Area Index; **LA** : Surface foliaire; **ShDW** : Masse sèche des tiges; **SDW** : Masse sèche des organes aériens; **LjDW** : Masse sèche des feuilles; **TiINB** : Nombre de talles; **DTINB** : Nombres de talles mortes; **SLA** : Specific leaf area; **SPAD** : Specific leaf area; **Spad1** : mesure de chlorophylle; **Haut** : Hauteur; **X.L.N** : Concentration en azote des feuilles; **X.N.St** : Concentration en azote des tiges;

Signification des suffixes :

**XXDW<sub>m<sup>2</sup></sub>** : mesure sur 1m<sup>2</sup>; **XXDW<sub>plt</sub>** : mesure d'une talle; **XX\_1** : Mesures faites sur la feuille précédente la feuille drapeau. Les couleurs représentent pour la qualité de représentation des individus et la contribution des variables à la projection.

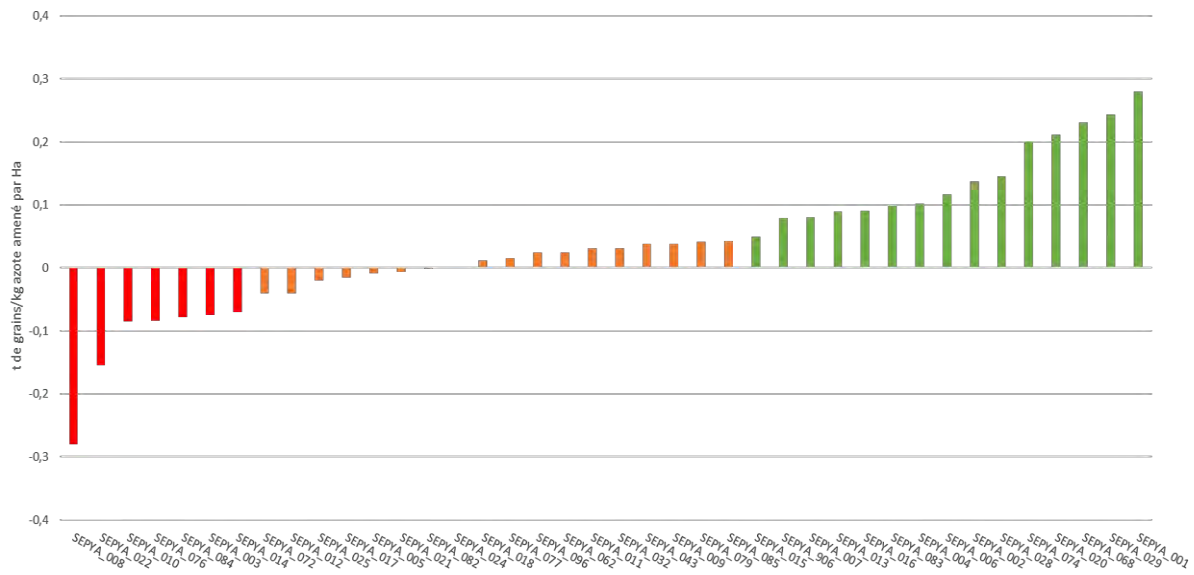
C'est par des Analyses en Composantes Principales (ACP) que j'ai illustré la diversité morphologique dans la condition N150, la condition de croissance a priori favorable (non contraignante), et ceci aux trois stades de mesure. Le stade floraison est montré à titre d'exemple dans la **Figure 17**. Sans entrer dans les détails de ces résultats, ces analyses m'ont permis de vérifier la validité des méthodes d'échantillonnage et de mesures utilisées. En effet pour chaque stade, les projections des variables ont montré des associations attendues : biomasses et surface foliaire, SPAD et concentration en azote, rendement et composantes du rendement. De plus ces ACPs illustrent la diversité morphologique du panel aux trois stades avec à chaque stade des groupes de géotypes discriminés par les projections.

Concernant l'impact de la fertilisation azotée, et donc la différence entre N150 et N100, nous nous sommes concentrés sur l'impact sur le rendement. Ainsi la réduction de 50U supplémentaires a impacté le rendement de plusieurs manières: diminution, stagnation et même augmentation. Ces tendances sont très bien illustrées par des valeurs d'ANUE (NUE Agronomique) variant de -0,3 à 0,3 tonnes de rendements gagnées par kg d'azote apporté (**Figure 18**). Par la suite les composantes de la NUE ont été calculées pour les deux conditions. Une ACP sur la condition N150 a alors permis l'identification de clusters différenciant les géotypes selon leur utilisation de l'azote (**Figure 19**). Ainsi le cluster 3 semblait désigner des plantes avec les plus hauts niveaux d'efficacité de prélèvement post-florale, à l'opposé du cluster 2 comprenant des plantes avec les plus hauts niveaux d'efficacité de prélèvement pré-floral et remobilisation. Le cluster 1 qui montrait des valeurs intermédiaires dans les deux efficacités de prélèvement, était celui avec les plus hauts niveaux de NUE et de NUtE. A ce stade il semblait exister un compromis entre l'Efficacité pré florale et post florale, comme déjà observé chez (Kichey et al. 2007), et que c'était l'équilibre entre les deux qui permettait une haute efficacité d'utilisation globale.

### *1.A.3. Choix de géotypes pour la suite du projet*

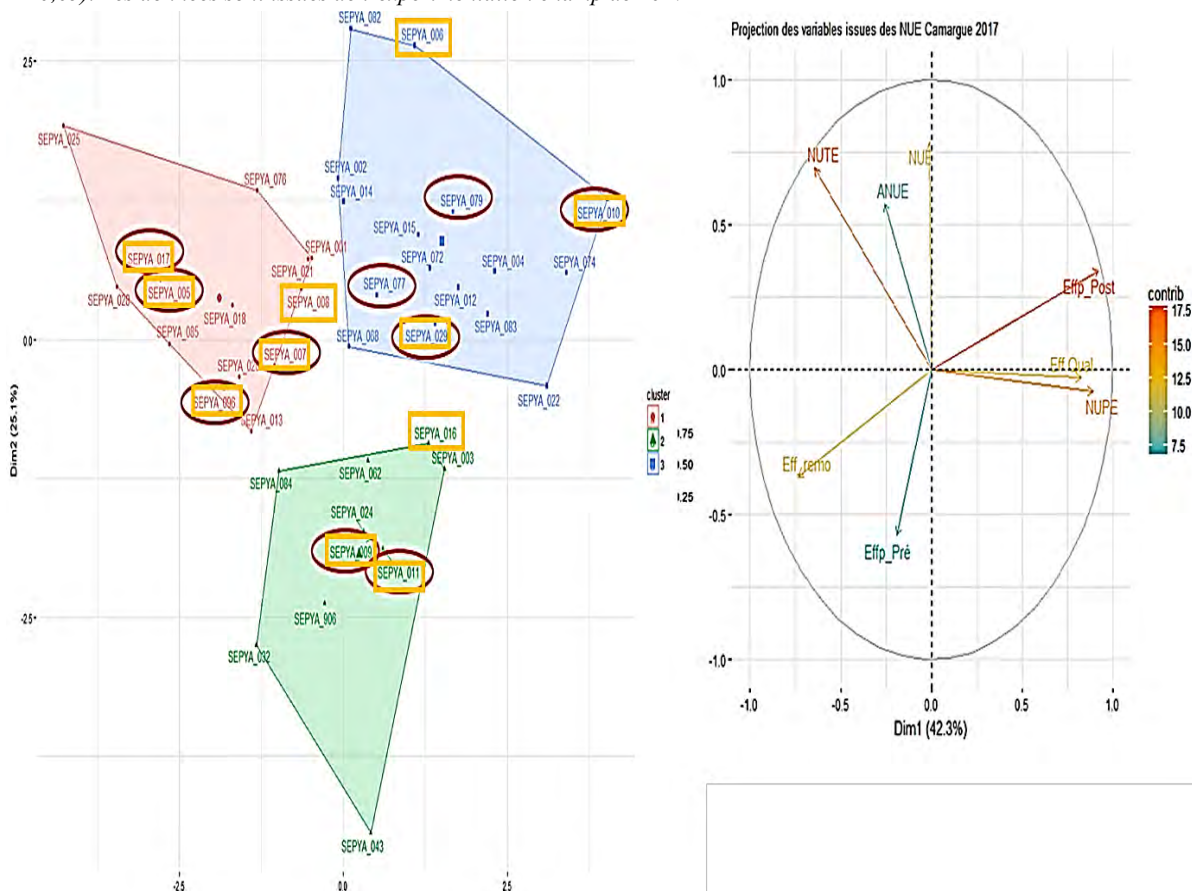
Le choix des variétés à utiliser pour la suite du projet dépendait de nombreux critères. Les deux premiers étaient d'ordre méthodologique : en premier lieu les variétés devaient être contrastées dans l'expérience au champ de 2017 et caractérisées par des phénotypes de NIS différents. Ces phénotypes ont été évalués au laboratoire au printemps 2017. Mais des contraintes techniques ont été rencontrées. En effet certaines variétés étaient encore en phase de sélection et donc les quantités de graines disponibles ne permettaient pas leur utilisation dans une expérience au champ de plus grande ampleur. Enfin la collaboration avec le CFR et une autre équipe de l'UMR BGPI sur ces essais ont également eu un poids dans le choix final. Le **Tableau 4** retrace les différents critères pris en compte et liste les variétés choisies : 10 pour l'expérimentations en conditions contrôlées, et 12 au champ, dont 8 en commun pour les deux expérimentations.





**Figure 18 : Variation de la NUE Agronomique chez 44 génotypes de riz tempérés**

L'ANUE est calculée par la différence de rendements entre deux fertilisations, divisée par le différentiel d'azote apporté. Les barres vertes représentent une augmentation de rendement supérieur à 0,05 t de grains par kg d'azote apporté, les barres rouges une diminution de rendement inférieur à 0,05 t, et les barres oranges les rendements « stables » (compris entre -0,05 et 0,05). Les données sont issues de l'expérimentation champ de 2017



**Figure 19 : Projection des 44 génotypes selon les variables liées à la NUE**

Projection des individus à gauche et des variables à droite. Les couleurs de la projection des variables représentent la qualité de contribution. Chaque point est issu de la projection de la moyenne des deux répétitions de chaque génotype pour les variables étudiées. Le clustering a été fait selon une classification hiérarchique des k-means. Sont entourés en rouge les génotypes utilisés dans les expériences en serre, et encadrés en jaune ceux utilisés au champs.

Cette différence de composition des panels d'expérience vient de la quantité de graines insuffisante pour deux variétés encore en sélection et trop peu avancées dans le processus pour générer des stocks suffisants pour une expérience en champ à grande échelle. Ces variétés sont également mises en évidence dans les clusters décrits plus tôt (**Figure 19**).

### **I.B. Expériences mises en place au champs en 2018 et 2019**

C'est à partir de cette sélection que les deux expérimentations au champ ont été menées en 2018 et 2019. Les plans d'expérience et le protocole sont assez similaires d'une année sur l'autre et seront détaillés dans la **Partie 2**. L'objectif de cette expérimentation était de confirmer les tendances observées en 2017 et donc de caractériser en conditions réelles de culture l'utilisation de l'azote des douze variétés, toujours dans les deux conditions azotées. Toutefois il s'est avéré que la réponse au différentiel d'azote n'a pas été la même d'une année sur l'autre : la cause la plus probable est l'invasion de mauvaises herbes très importante pour la parcelle de 2018. Dans ce contexte j'ai fait le choix de séparer mon analyse en deux parties:

- ✓ La diversité de la NUE entre géotypes dans la condition N150, et la plasticité de cette dernière d'une année sur l'autre. Ce point a été mis sous forme d'article soumis à publication pour la revue *Field Crops Research*.
- ✓ L'impact du différentiel de fertilisation sur cette diversité, décrit à la suite de l'article dans la **Partie 2**.

Les résultats au champ seront également mis en parallèle avec les résultats obtenus en serre décrits la **Partie 3** et la **Partie 4**.

**Tableau 4 : Récapitulatif des géotypes retenus pour le projet avec leurs caractéristiques**

Ce tableau référence les principales informations : le nom et le numéro SEPYA des géotypes ; leur présence dans l'expérience en serre et en champ ; le pays d'inscription ; le niveau des stocks des graines aptes à une expérience au champ ; la date de floraison de 2017 ; l'intérêt du CFR pour ces géotypes ; le phénotype NIS déjà observé (préliminaire) au laboratoire ; les valeurs de NUE. Les dernières colonnes illustrent le classement des efficacités de prélèvement pré florale (EffupPreflo) et post floral (EffupPostflo), de l'efficacité de remobilisation (EffRemo) dans une condition de fertilisation normale (N150) et contrainte (N100).

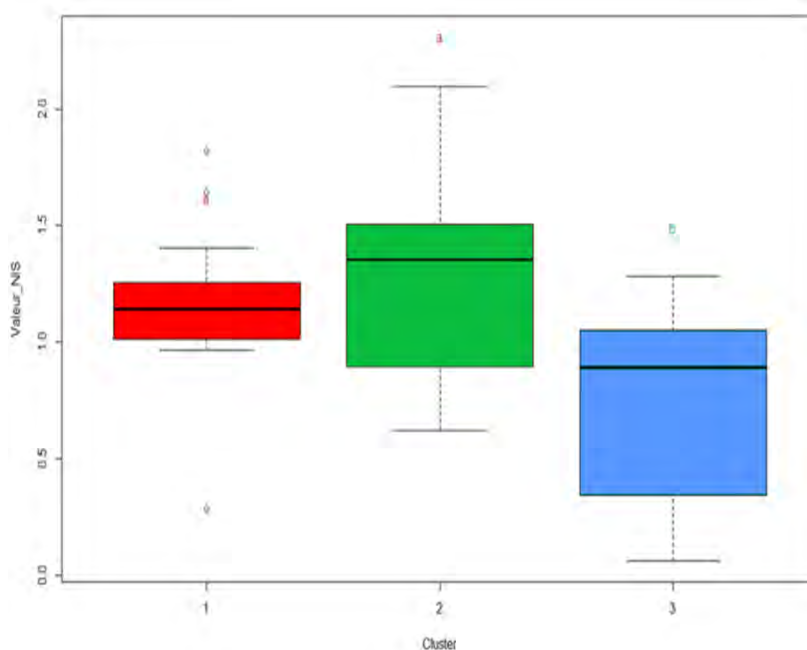
Nom	N° SEPYA	Champs	Serre	Origine	Stock graines	floraison	Choix CFR	BILAN NIS labo	BILAN NIS Camargue 2017	NUE N150	Effup Préflo N150	Effremo N150	Effup Postflo N150	NUE N100	Effup Préflo N100	Effremo N100	Effup Postflo N100
CIGALON	SEPYA_005	YES	YES	France	oui	31-juil.		souche dependant		0,56				0,69			
GAGERON	SEPYA_006	YES		France	oui	24-août	Favorite	NIS		0,46				0,69			
GINES	SEPYA_007	YES	YES	France	oui	18-août		souche dependant		0,40				0,68			
MAMBO	SEPYA_008	YES		France	oui	24-août		No NIS		0,49				0,66			
MANOBI	SEPYA_009	YES	YES	France	oui	11-août	Favorite	No NIS		0,45				0,66			
PACO	SEPYA_010	YES	YES	France	oui	11-août		NIS		0,46				0,66			
PATY	SEPYA_011	YES	YES	France	oui	3-août		No NIS	NIS	0,41				0,64			
	SEPYA_016	YES		France	oui	18-août		souche dependant		0,61				0,51			
BRIO	SEPYA_017	YES	YES	Italy	oui	14-août		No NIS		0,50				0,81			
	SEPYA_024	YES		France	oui	14-août		No NIS		0,53				0,61			
	SEPYA_029	YES	YES	France	oui	14-août		No NIS		0,36				0,57			
	SEPYA_077		YES	France	non	22-août		No NIS pls souches		0,57				0,57			
	SEPYA_079		YES	France	non	7-août		NIS		0,61				0,56			
GLEVA	SEPYA_096	YES	YES	Spain	oui	16-août		No NIS pls souches		0,65				0,67			

## II. Démarche de l'analyse fonctionnelle et sa relation avec les premières approches

Dès le début du projet un lien a pu être établi entre les résultats au champ de 2017 et le phénotypage NIS effectué au laboratoire pour le GWAS. Ainsi j'ai comparé les valeurs de NIS des géotypes communs au GWAS et à l'expérimentation de 2017, en fonction des clusters observés sur la **Figure 19**. De fait, il s'est avéré que le cluster 3, comprenant des géotypes ayant une efficacité de prélèvement post florale élevée et une remobilisation faible, avait une valeur NIS (rapport de du nombre de lésions de feuilles de riz cultivé dans deux conditions azotées) significativement inférieure aux deux autres clusters ( $p\text{-value} = 0.006^{**}$ , **Figure 20**). Ces résultats semblaient indiquer que les variétés caractérisées par une faible remobilisation et/ou un fort prélèvement post-floral était les plus enclines à montrer une NIS élevée. Cette hypothèse a pu également s'étoffer en calculant la corrélation entre les valeurs de remobilisation/d'efficacité post florale et la valeur NIS transformée par la fonction inverse (**Figure 21**). Bien entendu il s'agissait de données prélevées à des moments différents du cycle dans des environnements différents; ainsi ces résultats n'étaient que préliminaires. Pour vérifier cette hypothèse (corrélation inverse entre prélèvement post-floral et NIS), il était nécessaire de mettre en relation des valeurs de NIS et des composants de la NUE qui auraient été établis dans le même environnement. Ceci nous a amené à mettre en place les expérimentations en condition contrôlée de 2018 et 2019. De plus, si une corrélation est possible entre la NIS et la NUE, il semblait pertinent d'essayer d'établir un lien fonctionnel entre les deux phénomènes afin de répondre à la dernière hypothèse décrite page 55.

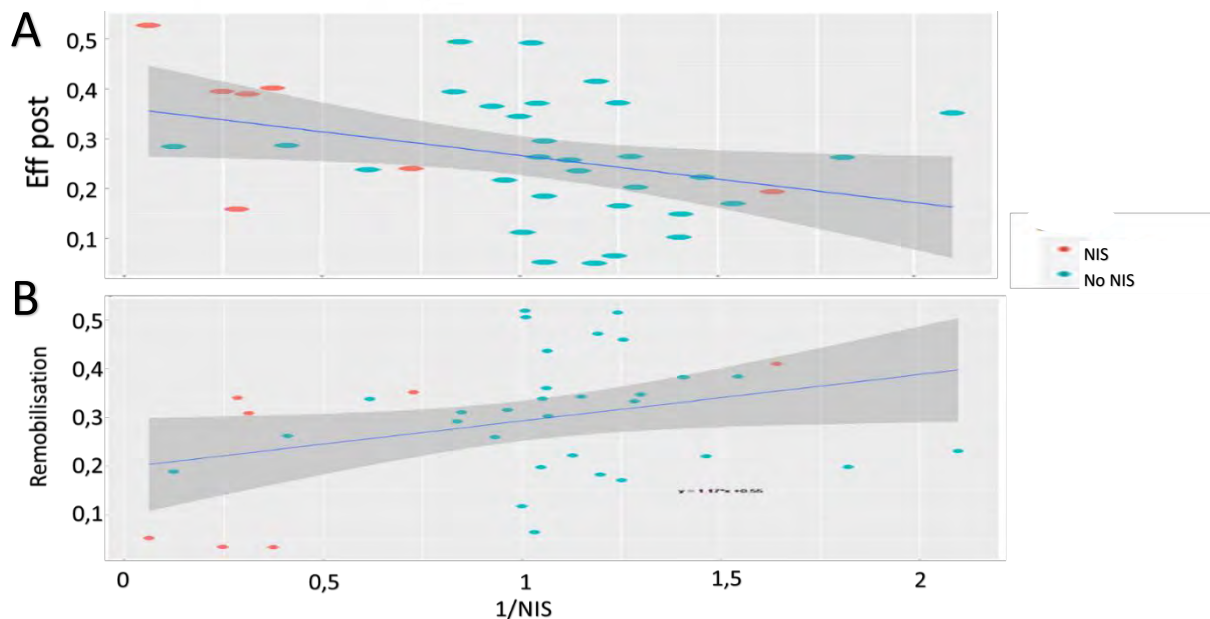
### II.A. Les expériences en serres 2018 et 2019

Les expérimentations en serres ont été mises en place avec les 10 variétés listées dans le **Tableau 4**. En 2018, deux témoins NIS (riz tropicaux) ont été ajoutés aux 10 riz *japonica tempérés* sélectionné afin d'en observer l'utilisation de l'azote. Toutefois bien que faisant partie du plan d'expérience, les résultats peu pertinents (traits morphologiques et utilisation de l'azote nettement supérieurs aux autres riz étudiés et biaisant les comparaisons) de ces témoins NIS ne seront pas abordés, et n'ont pas été utilisés en 2019. Ces expérimentations ont été menées dans les serres expérimentales du campus de Lavalette au CIRAD. L'objectif était de mettre en relation trois entités différentes, à savoir: la NUE, la NIS et l'état physiologique de la plante.



**Figure 20 : Valeur de NIS en fonction des clusters de NUE calculés à partir des résultats de l'expérimentation en Camargue 2017**

NIS évaluée au laboratoire par le ratio de sensibilité entre des plantes soumises à un traitement N1 et des plantes soumises à un traitement N0. Clusters établis selon la projection faites en **Figure 19**. Groupes statistiques établis après une anova de la valeur NIS selon le facteur « cluster » au seuil de 0,05 après correction de Tukey.



**Figure 21 : Corrélation entre l'Efficacité de prélèvement post floral et la remobilisation évaluées en champ et l'inverse de la NIS mesurée au laboratoire**

A Corrélation entre l'inverse de la NIS et l'Efficacité de prélèvement post florale:  $r^2 = -0.35$ ,  $p\text{-value} = 0.03$

B Corrélation entre l'inverse de la NIS et l'Efficacité de remobilisation  $r^2 = 0.33$ ,  $p\text{-value} = 0.04$

NIS évaluée en serre par le ratio de sensibilité entre des plantes soumises à un traitement N1 et des plantes soumises à un traitement N0. L'efficacité post florale est évaluée au champ en 2017 à partir de la quantité d'azote prélevé par les plantes sur  $1\text{ m}^2$  divisé par l'apport d'N fait sur  $1\text{ m}^2$ . La remobilisation est calculée au champ en 2017 par la différence entre la quantité d'N présente dans les tissus à floraison et la quantité d'azote dans les pailles, le tout rapporté à la quantité d'N dans les tissus à floraison.

Chaque point est coloré selon le résultat du t-test sur le nombre de lésions pas unité de surface entre deux conditions de fertilisation

Cette expérience a été divisée en trois grands lots de plantes :

- ✓ Un lot de plantes « *NIS* », destiné à être inoculé par *M. oryzae* avec la souche FR94 après 4 semaines de croissance (début de tallage)
- ✓ Un lot de plantes « *NUE* », divisé à son tour en trois sous lots, chacun destiné à des mesures destructives de morphologie et de dosage d'azote aux trois grandes phases du cycle de la plante : tallage, floraison et maturité.
- ✓ Un lot de plantes ayant subi le même traitement azoté que le lot « *NIS* », mais sur lequel des prélèvements de feuilles ont été faits pour ensuite en extraire l'ARN et les métabolites et faire des mesures d'expression de gènes et de concentrations.

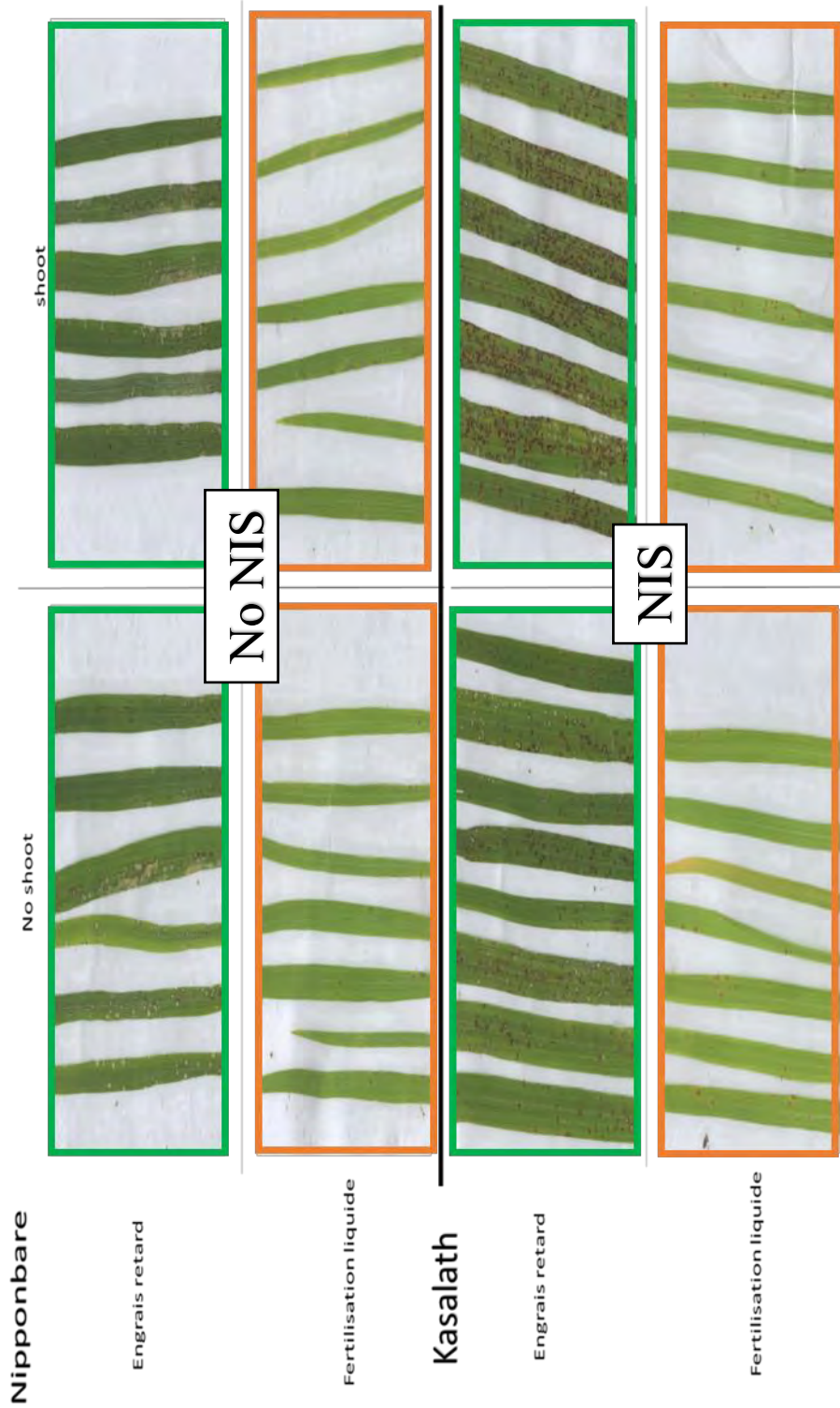
Le protocole exact et les résultats de cette expérience seront retranscrits dans le **Chapitre III** de la Partie 2 pour l'utilisation de l'azote et dans la **Partie 4** pour les données d'expression, des dosages de métabolites, et de NIS.

### **II.B. Evaluation de la NIS de mutants de gènes candidats**

En parallèle de ces expériences sur des génotypes cultivés, nous avons également fait des évaluations de NIS sur trois mutants de riz connus ou potentiellement affectés dans la NUE. Nous avons fait l'expérience sur un mutant (i) du gène *OsGOGAT*, (ii) d'un gène lié à la senescence, *OsNAP*, et (iii) des lignées transformées par l'ajout du gène de l'alanine aminotransférase de l'orge, *HvAlaAT* (Beatty et al. 2013). L'objectif était d'observer si le phénotype NIS variait entre le mutant et le sauvage. Les résultats et le protocole de ces expériences seront présentés dans le **Partie 4**.

### **III. Mise en place des divers protocoles d'inoculation**

L'évaluation de la NIS dans ce projet a été effectuée en suivant le protocole de Ballini et al 2013. Une expérimentation NIS consiste à cultiver deux lots de riz dans la même condition de fertilisation et au bout de quatre semaines, deux fertilisations différentes sont appliquées: la première sans azote, la deuxième avec. Une inoculation avec des spores de *M. oryzae* est effectuée le lendemain de cette fertilisation, par pulvérisation de spores sur les feuilles. Les lésions sont observées après 7 à 10 jours selon l'agressivité de la souche utilisée. C'est sur la différence du nombre de lésions apparues par unité de surface entre les deux conditions azotées que le génotype est caractérisé comme NIS ou non. De ce fait on constate que les résultats de l'expérience dépendent de trois facteurs : le génotype de la plante, la souche et la fertilisation. Dans ce paragraphe je détaille les contraintes techniques auxquelles j'ai été confronté et les méthodes utilisées en réponses.



**Figure 22 : Validation du nouveau protocole NIS avec engrais retard plus un shoot d'azote**

*Validation du phénotype NIS de deux cultivars témoins, Kasalath (+) et Nipponbare (-), dans le nouveau protocole impliquant une croissance de quatre semaines avec une fertilisation à base d'engrais retard avec l'ajout d'une fertilisation différentielle avant inoculation (« shoot »). Les photos encadrées en vert représentent le nouveau protocole, celles encadrées en orange représentent l'ancien protocole impliquant l'apport d'une fertilisation hebdomadaire pendant les trois premières semaines puis une dernière fertilisation différentielle (no shoot vs shoot) en quatrième semaine. L'absence de NIS chez Nipponbare et la présence de NIS chez Kasalath permettent de valider le nouveau protocole.*

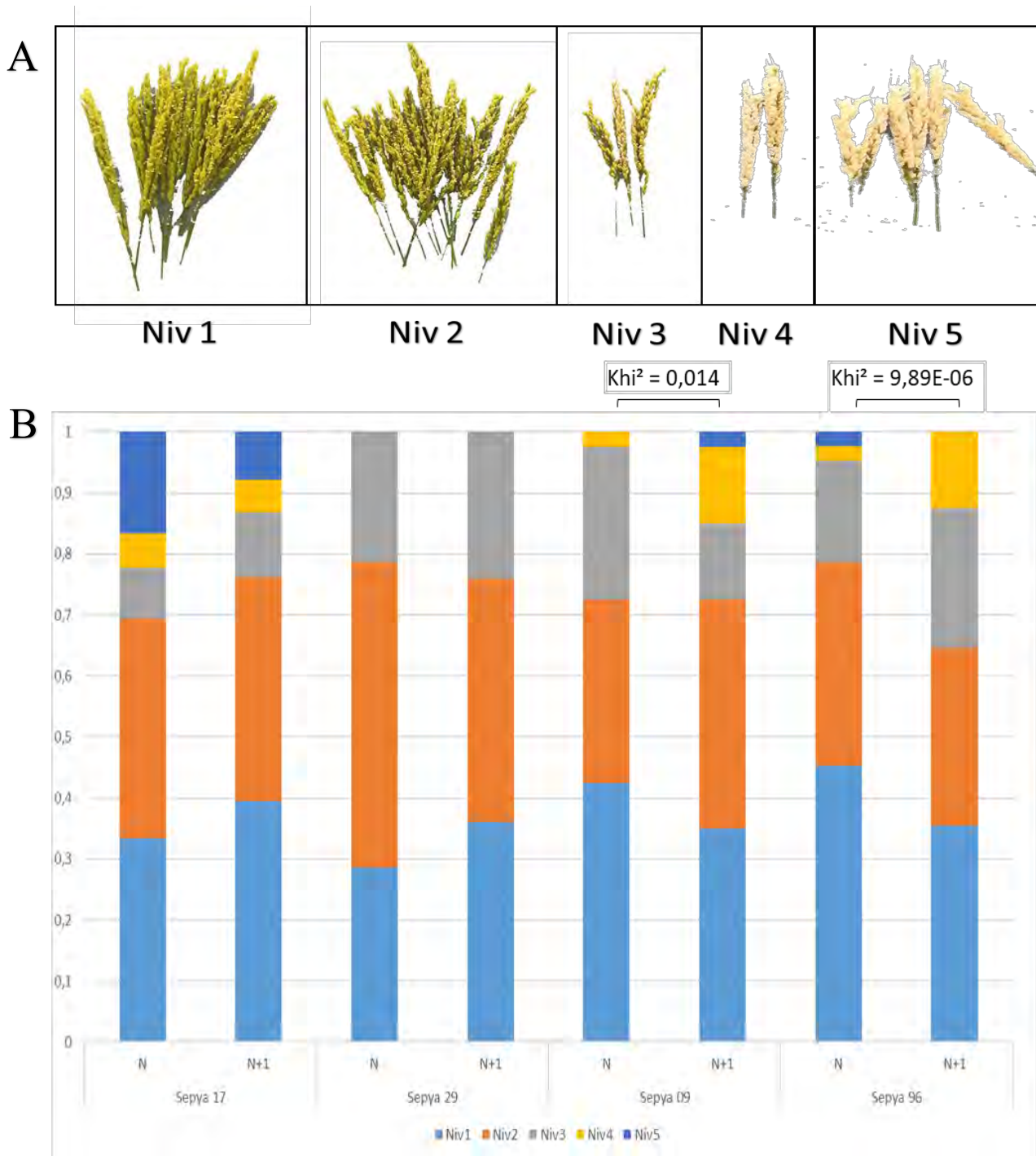
### III.A. Adaptation du protocole de routine NIS

Le changement de la méthode de routine utilisée jusqu'alors au laboratoire en 2018 a été nécessaire. En effet la fertilisation était apportée une fois par semaine par un arrosage d'une solution nutritive commerciale, ceci durant les trois premières semaines de culture. A la quatrième semaine une solution fabriquée au laboratoire était utilisée sous deux formes : azote et sans azote. Or en fin 2017 cette méthodologie a montré des effets secondaires dans la croissance des plants : disparité, plantules peu vigoureuses, feuilles vertes pâles presque jaunes... De ce fait le protocole de routine devait être changé. D'une part on ne pouvait pas évaluer l'impact de ces caractères physiologiques sur la maladie, et d'autre part, il était nécessaire de mener une expérience NIS en parallèle et dans les mêmes conditions d'expériences que celles concernant la NUE. Ainsi un nouveau protocole de fertilisation a été mis en place, basé sur l'utilisation d'engrais retard solide avec un apport d'azote liquide à la quatrième semaine. Ce protocole a été validé par une expérience préliminaire sur deux variétés témoins bien connues (Kasalath et Nipponbare;(Ballini, Nguyen, et Morel 2013; H. Huang et al. 2017) chacun exprimant le phénotype NIS (**Figure 22**). Ce protocole sera abordé plus en détail dans la **Partie 4**.

L'autre contrainte des expériences NIS fut que le campus de Lavalette n'était pas pourvu de matériel permettant l'inoculation de pyriculariose. Si des tentatives d'inoculation ont été faites au cours d'expériences préliminaires sur ce campus, le très faible nombre de lésion obtenu m'a contraint de déplacer les plantes vers le campus de Baillarguet où tout le matériel nécessaire à des expériences de phytopathologies en grands nombres était présent.

Enfin, des tentatives d'inoculation ont été faites à floraison au cours de l'expérience de 2018 pour évaluer la NIS à ce stade, ce qui n'avait jamais été fait. Ces tentatives consistaient en une fertilisation différentielle le lendemain de la floraison, et une inoculation le sur-lendemain, toujours suivi par un déplacement des plantes entre les deux campus. Aucun symptôme NIS sur feuilles n'a été observé pour certaines variétés, ce qui est possiblement dû à une forme de résistance ontogénique acquise par le riz après floraison. En revanche une tendance NIS sur panicule a été mise en évidence sur *Manobi* (Sepya\_009) et *Gleva* (Sepya\_096) (**Figure 23**). Toutefois les lourdes contraintes et la gestion de plantes adultes à inoculer, plus l'hétérogénéité des résultats NIS à ce stade, ont amené le choix de ne pas réitérer cette expérience en 2019.





**Figure 23 : Evaluation de la sensibilité des panicules à la pyriculariose**

*A : Echelle de notation : groupement des panicules selon leurs niveaux de sensibilité à la suite d'une inoculation par *M. oryzae**

*Niv1 : Pas de grain touché, Niv2 : moins de 25% de grains touchés ; Niv3 : entre 25% et 50 % de grains touchés ; Niv4 : entre 50% et 75 % de grains touchés ; Niv5 : plus de 75% de grains touchés.*

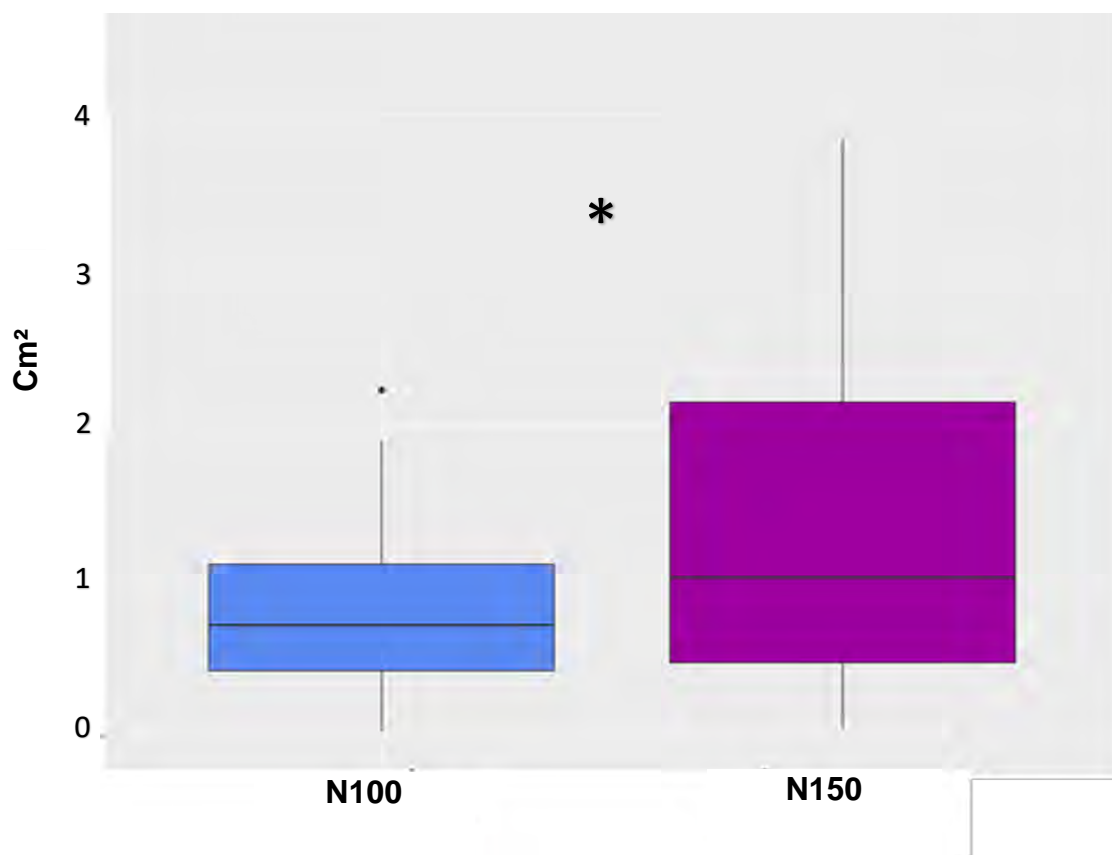
*B : Résultats obtenus sur les variétés qui montraient des symptômes sur les panicules. Le pourcentage de panicules compris dans chaque groupe a été évalué pour chaque niveau d'azote. Un test de khi2 a été fait par variété afin de tester la répartition des panicules dans les groupes pour chaque niveau d'azote.*

### III.B. Inoculation au champ : de fortes contraintes, beaucoup de moyens pour peu de résultats

Il est important de noter que des tentatives d'expérimentation de NIS au champ ont été effectuées en 2017 et 2018, sur les mêmes parcelles où la NUE était mesurée, avec des plans d'expérience similaires et avec une troisième condition azote N200. Le protocole consistait à la mise en place de bandes infestantes entre les micros parcelles composées d'une seule variété considérée comme sensible à la pyriculariose : *Gines* en 2017 et *Paty* en 2018. Au stade tallage, des plants de ces plantes inoculées en condition contrôlées avec des spores de *FR94* ont été repiqués au sein de la bande infestante tous les 2 mètres afin de déclencher une épidémie. L'objectif était d'observer la propagation de la maladie sur ces bandes infestantes, puis sa diffusion dans les micro-parcelles d'étude, selon les fertilisations.

Aucune épidémie ne s'est manifestée en 2017, à l'exception de quelques lésions observées sur *Paty* (d'où son choix en 2018 pour les bandes infestantes). En 2017, bien que les plantes infectées repiquées dans les bandes infestantes aient montré des symptômes, l'épidémie s'est peu propagée au sein de la bande infestante. Plusieurs facteurs ont alors été soulevés pour expliquer cette absence de maladie : la densité de semis trop faible qui, associée avec le Mistral fréquent en Camargue, rendait le micro climat de la parcelle trop peu humide pour favoriser la sporulation ; la variété de la bande infestante trop peu sensible ; et la désynchronisation entre les phases de germination du champignon, les stades plus sensibles de la plante, et la période avec les meilleures conditions environnementales. De plus il n'était pas possible de déterminer si les lésions observées sur certaines variétés étaient dues à l'inoculation ou à un inoculum déjà présent dans l'environnement car les bandes infestantes ne présentaient pas de symptômes.

Le protocole de l'expérience de 2018 a été élaboré en tenant compte des observations de 2017. On a conservé les mêmes modalités que 2017, cependant le cultivar des bandes infestantes fut modifié, en utilisant la variété *Paty*. De plus, les semences de *Paty* utilisées pour la bande provenaient de panicules contaminées par la pyriculariose en 2017. Pour optimiser la source d'inoculum, des plants de riz attaqués par la pyriculariose et prélevés sur des parcelles alentours ont été implantées en plus des plants issus d'inoculations en laboratoire.



**Figure 24 : Impact de la fertilisation sur la taille moyenne d'une lésion de pyriculariose sur le génotype *Paty***

*Des feuilles ont été récoltées au champ en 2018 (douze feuilles pour chaque condition). Ces feuilles sont ensuite scannées au laboratoire et analysées par le logiciel d'analyse d'image LeafTool. Ainsi pour chaque lésion identifiée la surface peut être calculée. Les boxplot indiquent la moyenne de la surface individuelle des lésions observée sur les parcelles soumises à 100 unités d'azote et celles soumises à 150 unités d'azote. Statistiques effectuées par un test de Wilcoxon au seuil de 0,05.*

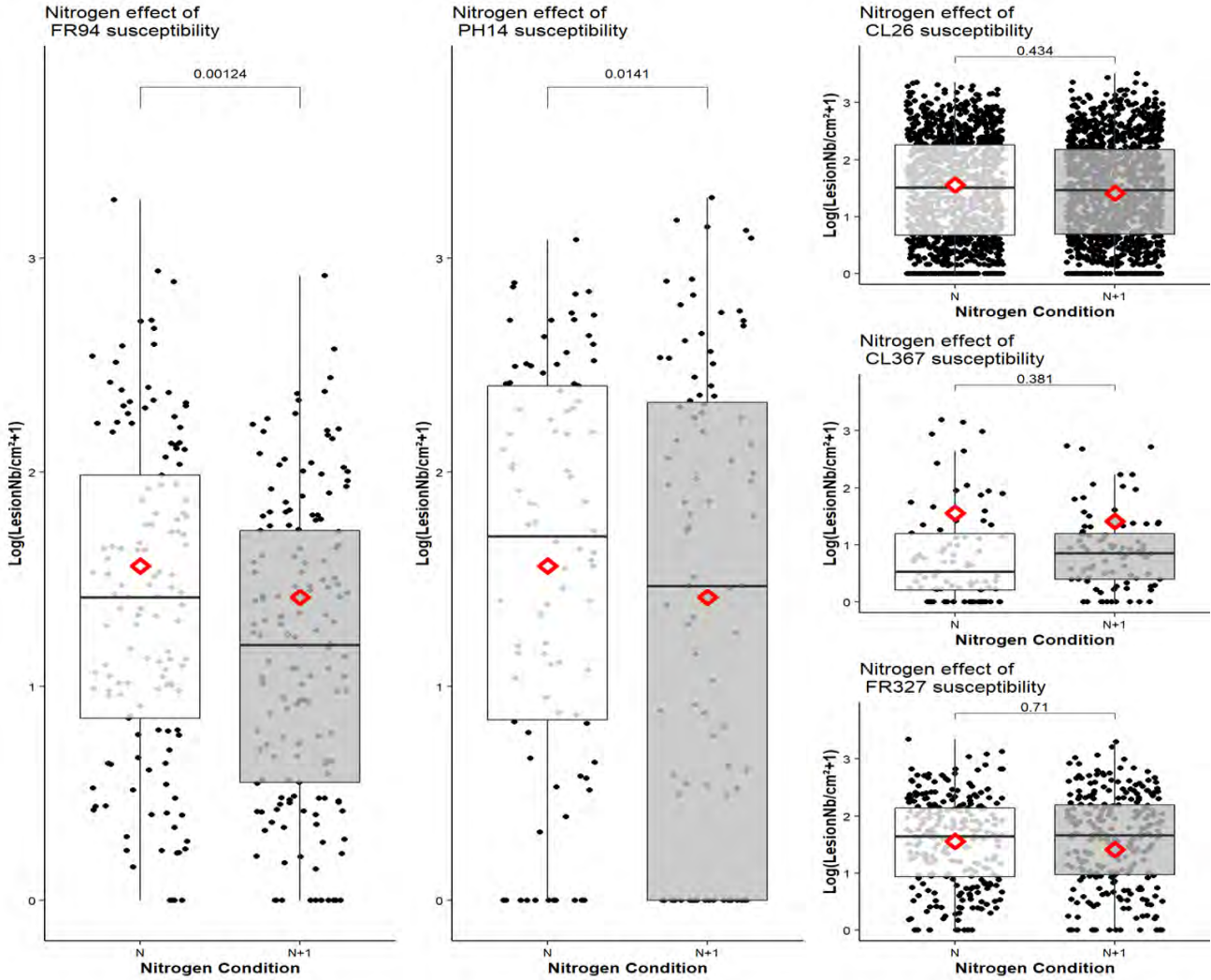
Pour avoir une chance de tomber dans une période propice à la maladie, nous avons ajouté de manière hebdomadaire des plants infectés pendant trois semaines. Enfin un système de brumisation/aspersion a été installé pour optimiser les conditions d'humidité. Ce système consistait en la mise en place d'arroseurs placés à intervalles réguliers dans la parcelle. Ces derniers s'enclenchaient au début de la nuit jusqu'au matin, favorisant les conditions d'humidité propices à la pyriculariose. Toutefois l'ensemble de ces mesures n'a pas non plus permis l'observation d'une épidémie en 2018. Une fois encore, seul *Paty* a montré des lésions. Le nombre de plantes infectées était suffisant pour effectuer des études statistiques sur l'impact de la fertilisation sur ce génotype. Ainsi la fertilisation avait provoqué l'augmentation significative de la surface moyenne des lésions de pyriculariose sur ce génotype (**Figure 24**). De manière anecdotique l'incidence d'une autre maladie a été mesurée : l'helminthosporiose ou « Rice Brown Spot », maladie causée par le champignon *Bipolaris oryzae* (téléomorphe : *Cochliobolus miyabeanus*) et connue pour être favorisée par des conditions de stress abiotiques (Barnwal et al. 2013). Cette maladie était présente sur l'ensemble de la parcelle, mais aucun effet de la fertilisation n'a été observé.

*In fine* les efforts fournis en 2018 n'ont pas donné le résultat attendu, soit une infection au champ. Ainsi les objectifs de phénotypage de la NIS sur le terrain n'ont pas pu être atteints. Et même si 2019 avait été plus propice à la génération de données NIS, le manque de répétitions d'une année sur l'autre aurait rendu ces données peu utiles. C'est pourquoi le choix a été fait de ne pas répéter ces tentatives de propagation de la maladie au champ en 2019.

### III.C. Choix des souches selon les expériences

La souche est également déterminante dans l'évaluation de la NIS. En effet il est nécessaire d'utiliser une souche qui soit virulente sur le ou les génotypes de riz étudiés, en prenant garde à ce que la souche ne soit pas trop agressive non plus. En effet un génotype complètement résistant à une souche donnée ne montrera pas de lésion, un génotype trop sensible en montrera tellement qu'il ne sera plus possible de les discerner et de mesurer l'impact de la fertilisation. Dans les deux cas il n'aurait donc pas été possible d'évaluer la différence entre les deux conditions. C'est sur ce principe que le choix des souches de travail a été fait. Ainsi, le GWAS a été élaboré initialement avec des données issues de plusieurs combinaisons souches-génotypes.

Pour des raisons de sécurité phytosanitaire, il était obligatoire d'utiliser au champ une souche de *M. oryzae* française et la souche utilisée fut *FR94* connue pour être virulente sur une majeure partie des cultivars sensibles utilisés. Pour la suite des expériences majeures d'évaluation de la NIS en serre, c'est la même souche qui a été utilisée, pour pouvoir mettre en relation les expériences en champ et en serre. Ce choix de souche distingue ces expériences des expériences NIS menées par Ballini 2013 et Huang 2017 où la souche utilisée était *GUY11*.



**Figure 25 : Impact de la fertilisation azotée sur le nombre de lésions par cm<sup>2</sup> selon la souche de *M. oryzae* utilisée**

Impact d'un traitement avec un « shoot » d'azote (N+1) et sans « shoot » d'azote (N) sur la sensibilité de riz japonica tempéré face aux souches : FR94, PH14, CL26, CL367, et FR327. La souche FR94 est celle utilisée ensuite pour les expérimentations en serre. Le nombre de lésions a été transformé par la fonction log pour pouvoir effectuer un test paramétrique. P-values issues d'un t-test. Un point noir représente une feuille. Les losanges rouges représentent les moyennes ajustées de chaque modalité.

## IV. Démarche pour l'analyse génétique de la NIS par GWAS

L'étude GWAS a été faite sur 331 génotypes de riz *japonica tempérés* d'origines diverses, à partir de 19 expérimentations espacées sur la période juin-décembre 2017, inoculés avec six souches de *M. oryzae* dans deux conditions azotées. Pour les génotypes sensibles à plusieurs souches, plusieurs valeurs de NIS ont été produites, une pour chaque souche. Dans un premier temps j'ai essayé d'utiliser l'ensemble de ces données pour générer un vecteur « phénotype NIS » pour l'analyse GWAS. Toutefois plusieurs éléments m'ont convaincu d'utiliser seulement les données issues des inoculations avec la souche *CD203*. La première raison est que l'ensemble des données montrait une interaction souche:azote:génotype ( $p$ -value = 0.008345) indiquant que, certains génotypes ne réagissaient pas de la même manière selon la souche, ceci était problématique car il était préférable d'avoir une valeur stable pour chaque génotype. De plus *CD203* était la souche infectant le plus grand nombre de génotypes du panel, avec 159 génotypes parmi les 331, et montrait un effet global NIS propre à cette souche tandis que les autres montraient soit plus de résistance, soit aucun effet global en condition de fertilisation (**Figure 25**), mais toujours avec une interaction génotype:azote. L'étude GWAS produite avec ces génotypes sensibles à *CD203* a été soumise à publication dans la revue *BMC Plant Biology* et constitue majoritairement la **Partie 3**.



## **Partie 2 : Diversité de l'utilisation de l'azote chez des variétés de riz adaptées aux conditions européennes**

Cette partie retrace la caractérisation de l'utilisation de l'azote au champ (dans un panel de douze génotypes de riz), et en conditions contrôlées (dix génotypes). Il se divise en trois chapitres.

Le premier chapitre a été soumis à publication et est consacré à l'étude de la diversité de prélèvement et d'utilisation de l'azote. Cette étude comporte une analyse sur la décomposition de la NUE de douze génotypes au champ, et le lien des composantes avec d'autres traits morphologiques et physiologiques. Pour ce chapitre, nous avons conservé les données acquises sur deux années de culture dans une condition de fertilisation non contraignante. Les résultats majeurs de cette étude sont les suivants :

- La diversité d'utilisation de l'azote des génotypes consiste principalement en un différentiel de prélèvement post floral associé à un différentiel de remobilisation. Ce différentiel se maintient d'une année sur l'autre malgré le fort contraste environnemental entre les deux années. Nous avons également mis en évidence que ces tendances de prélèvement post floral étaient liées à la phénologie des génotypes : les variétés les plus précoces montrent une plus forte quantité d'azote prélevée après floraison. Cet impact de la phénologie se manifeste également dans la capacité d'accumulation de biomasse pré- et post-florale, ainsi que dans la translocation de cette biomasse vers les grains : ainsi l'accumulation de biomasse pré-florale est associée avec une forte translocation et avec une phénologie tardive.
- Une corrélation est observée entre la surface foliaire de la feuille individuelle, le prélèvement post-floral et le caractère « stay-green ». Ainsi les variétés qui prélèvent plus d'azote après floraison sont celles qui ont les plus petites feuilles et qui conservent davantage de feuilles vertes jusqu'à la récolte.
- La production de grains a varié relativement peu d'un génotype à l'autre, mais en revanche les génotypes se sont différenciés dans l'établissement des composantes du rendement, notamment la modulation du nombre de panicules et de leur taille. La compilation de ces différents résultats nous amène à discuter de la capacité de ces génotypes de riz à adapter la taille de leur puits au moyen du tallage et de la production de panicules, en fonction d'une part de leur aptitude intrinsèque à accumuler du carbone et de l'azote et d'autre part des conditions environnementales précoces influençant directement l'élaboration des composantes du rendement de ces génotypes.



Le deuxième chapitre est consacré à l'effet d'une fertilisation réduite sur les mêmes génotypes et dans les mêmes conditions que le chapitre I. Les principaux résultats de ce deuxième chapitre montrent que la fertilisation modérée (i) a eu un impact relativement faible sur les moyennes générales de la plupart des traits mesurés à cause du contraste très fort entre les deux années d'expérimentation et (ii) a atténué la diversité des profils d'utilisation de l'azote observée dans le premier chapitre. Nous supposons alors que l'absence de la 3<sup>e</sup> fertilisation (N100), comparée au traitement N150, est la cause de la perte de diversité de réponse. En effet la principale cause de cette diversité a été dû au prélèvement post-floral, or l'absence de la dernière fertilisation a réduit la quantité d'azote disponible après floraison ne permettant plus une mise en évidence du prélèvement post-floral. Ce chapitre renforce également la capacité des génotypes à devenir plus efficaces dans leur utilisation de l'azote en conditions moins favorables (2018). Ainsi les 50U supplémentaires ne seraient réellement valorisées pour produire du grain que dans un environnement contraint. Dans le cas contraire (N150), l'azote en surplus ne serait pas utilisé dans l'établissement du rendement mais serait soit directement transféré vers les panicules (augmentant le taux d'azote des grains) soit non prélevé. Ce chapitre nous permet in fine d'établir une hypothèse sur une stratégie de fertilisation qui se baserait sur l'estimation du profil d'utilisation de l'azote d'un génotype en fonction des proxy mis en évidence dans le chapitre I.

Le dernier chapitre de cette partie est consacré à la caractérisation de dix génotypes japonica tempérés en conditions contrôlées, dont huit communs avec les essais au champ. Cette expérience a été menée dans des pots en serre expérimentale selon deux modalités de traitement azoté. Les avantages de cette expérience étaient de pouvoir (i) caractériser le prélèvement et l'utilisation des génotypes sans perturbations environnementales, (ii) connaître exactement la quantité d'azote dans le pot donc disponible pour la plante, et (iii) obtenir des données de physiologiques et morphologique obtenues dans les mêmes conditions que celles pathologie et de biochimie analysées dans la **Partie 4**. Il est intéressant de constater que le principal résultat des deux premières parties obtenu au champ, *la diversité d'utilisation de l'azote vient surtout du prélèvement post-floral*, est confirmé en milieu contrôlé. En revanche aucun lien n'a été fait en serre entre la date de floraison des génotypes et leur dynamique d'accumulation de biomasse. De même, nous avons constaté à nouveau que la NUE était dépendante des deux composantes NUpE et NUtE qu'en conditions favorables. En effet, en conditions de contrainte azotée, seule l'efficacité d'utilisation de l'azote est déterminante. Enfin, nous proposerons un modèle décrivant les dynamiques de prélèvement et d'utilisation de l'azote par la plante selon ses caractéristiques morphologiques et physiologiques.

# Chapitre I :Post-anthesis nitrogen uptake in temperate rice, a characteristic of early-maturing genotypes, is associated with stay-green pattern and small individual leaf area

## Authors and affiliation

- Mathias Frontini; Mathias.Frontini@inra.fr; BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France
- Arnaud Boisdard; arnaud.boisdard@centrefrancaisduriz.fr; Centre Français du Riz, Arles, France
- Cyrille Thomas, cyrille.thomas@centrefrancaisduriz.fr, Centre Français du Riz, Arles, France
- Elsa Ballini; elsa.ballini@supagro.fr; 0000-0002-2571-2069, BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France
- Tanguy Lafarge, tanguy.lafarge@cirad.fr ,,

## Highlights

- The diversity of nitrogen uptake is mainly linked to differential post flowering uptake in our panel
- The phenology affect nitrogen post flowering uptake, the accumulation and translocation of biomass
- Cultivars with smaller flag leaves uptakes more nitrogen after flowering and have stayed green leaves
- The yield establishment and so the final nitrogen sink could be early fixed by the production of productive tillers and impacted by early environmental condition.

## Authors' contributions

AB and CT designed and managed field experiments. MF, TL and EB sampled plants and did all measurements. MF conducted all statistical analyses. MF and TL drafted the manuscript. All authors approved the final manuscript.

## Funding and acknowledgements

This work was supported by a PhD grants from INRAE and Region Occitanie. This work was also supported by the SEPYA project from the FSOV program. We are thankful to Anthony, CFR technician, for taking care of the plants. We are thankful to Henri Adreit, Martin Habas, and our interns (Mafalda, Julie, Arthur and Clement) for their help in field sampling. Thanks to Armelle Soutiras for her technical support. We particularly express gratitude to Laurent Bonnal and Elodie Babyl for their NIRS expertise thanks to the major results of this paper could be obtained. We are also thankful to François Bonnot for their support for data analysis.

## 1 Abstract

2 Reducing nitrogen leaching and nitrous oxide emissions towards more sustainability in agriculture  
3 implies to better identify and characterize the different patterns in nitrogen use efficiency by the crops.  
4 This study focused on the pre- and post-floral biomass accumulation and nitrogen uptake and utilization  
5 of twelve temperate japonica rice genotypes grown during two seasons under European conditions and  
6 required fertilization, and the relationship of these dynamics with key morphological traits. The diversity  
7 in nitrogen use of the genotypes under study consisted mainly in significantly different patterns in  
8 nitrogen post-floral uptake and remobilization. These differences were reported for the two seasons  
9 despite the strong contrast in biomass production between the two years. Early-maturing rice genotypes  
10 were those with the highest rate of post-floral nitrogen uptake associated with the lowest pre-floral  
11 biomass accumulation and nitrogen remobilization to the grain. This pattern was not attached to any  
12 significant differences in grain yield and in yield components, but associated with higher grain number.  
13 Post-floral nitrogen uptake in temperate rice was, however, correlated with high tiller efficiency, stay-  
14 green pattern, small individual leaf area, and higher nitrogen content in the straw at maturity. Early-  
15 maturing genotypes appeared more efficient in uptaking nitrogen while late-maturing genotypes  
16 appeared more efficient in utilizing nitrogen through higher rate in remobilization. These different ways  
17 in dealing with the nitrogen resource in temperate rice were discussed with respect to plant sink  
18 regulation like tiller and panicle production and the intrinsic ability of the plant to accumulate carbon  
19 and nitrogen. The interest of post-flowering nitrogen uptake associated with extended plant  
20 photosynthesis through stay-green and higher nitrogen content in the straw was suggested as an avenue  
21 for higher yield potential and more sustainable crop management and soil fertility.

22 **Keywords:** Temperate Rice; Post-floral Nitrogen Uptake, Nitrogen Remobilization, Stay-Green,  
23 Individual Leaf Area, Sink Regulation.

## 24 Abbreviations

25 C: Carbon; DW : Dry Weight ; FiRate : filling rate ; HI : Harvest index ; GP :Grain Production;  
26 GrNB\_Pa : total grain number per panicle ; LA : Leaf Area ; LAind : Individual leaf area ; N : Nitrogen;  
27 NIRS: Near Infra Ref Spectrum; NUE : Nitrogen Use Efficiency; NRE: Nitrogen remobilization  
28 Efficiency; NUpE : Nitrogen Uptake Efficiency; NUtE :Nitrogen Utilization Efficiency; N% : nitrogen  
29 amount ; TilNB :total tiller number ; Till.Eff: Tillering efficiency ; 1000GrDW : Dry Weight of 1000  
30 Grains.

**1 Introduction**

2           Rice (*Oryza sativa* L.) is the third produced cereal crops globally. It is the staple food of many  
3 southern countries, making it the most consumed unprocessed cereal in the world (FAO, 2018). In view  
4 of the population growth observed since 1960, rice production will have to increase up to 850 million  
5 of tonnes in 2030 to meet the demand (Khush 2005). Considering breeding for high yield stays as a  
6 major target for rice breeders, the intensive input of fertilizers has been one principal strategy of modern  
7 agriculture to increase yield. That is why most modern rice varieties have been selected under normal  
8 or high nitrogen (N) conditions to achieve maximum grain yield (Wei et al. 2011). However, the  
9 recovery of applied N is low, with only 33% of the applied N ending up into the grain (Raun et al. 2002).  
10 This is particularly the case in rice grown in flooded conditions where it is able to absorb only 30-35%  
11 of N inputs (Zhao et al. 2010). Therefore, N fertilizers create environmental hazards through (i) nitrate  
12 leaching and run-off leading to pollution of groundwater, rivers and oceans, (ii) nitrous oxide emissions  
13 leading to air pollution with the increase in greenhouse gas concentration, and (iii) algal blooms and fish  
14 deaths associated with denitrification by soil bacteria especially in irrigated rice (Ghosh et Bhat 1998;  
15 de Miranda et al. 2015). This is even more problematic in rice paddies located next to protected areas  
16 like in the Camargue region in the South of France. In addition, the rising price of N fertilizers makes it  
17 a substantial economic cost for rice farmers. Breeding for N-efficient cultivars is one main approach to  
18 reduce non-desirable N fertilizer inputs while maintaining acceptable yields. This ability is called the  
19 Nitrogen Use Efficiency (NUE) commonly determined as the amount of yield (or biomass) by N  
20 available (Xu et al. 2012; Han et al. 2015). Several studies have highlighted genotypic differences in  
21 NUE for many crop including wheat (Le Gouis et al. 2000; Dawson et al. 2011; Hawkesford 2017) and  
22 in rice (Ladha et al. 1998; Wei et al. 2011; Hu et al. 2015; Zhang et al. 2020).

23           The Nitrogen Use Efficiency (NUE) can be decomposed into two components: (1) N-uptake efficiency  
24 (NUpE; ability to uptake N) and (2) N-utilization efficiency (NUtE; ability to convert N uptake in grain  
25 dry matter) (Xu et al. 2012; Han et al. 2015). The NUpE is usually decomposed according to the date of  
26 flowering, as pre-flowering NUpE and post-flowering NUpE (Kichey et al. 2007; O. Gaju et al. 2011).  
27 Another additional trait related to NUE is the N remobilization efficiency (NRE) which directly impacts  
28 NUtE. Indeed, circulation of N in the vegetative and reproductive organs is central in determining grain  
29 yield in rice (Guindo et al. 1992) and wheat (Gaju et al. 2014). These N fluxes are regulated by the  
30 source-sink relationships in-between plant organs. During the vegetative phase, the leaves are the main  
31 sink for N, the sink force depending on leaf age. During grain filling, N is remobilized through leaf  
32 senescence in the developing seeds mainly as amino acids to contribute to the nutritional value of the  
33 rice grain (Yoneyama et al. 2016). In fact, productivity of rice is usually correlated with NUpE,

1 especially post-flowering NUpE (HongTing et al. 2012; Li et al. 2014), suggesting that increasing N  
2 uptake after flowering is central to increase rice yields (Qiao et al. 2012).

3 The post-flowering N remobilization carries two main dilemma. On one hand, remobilizing N from the  
4 stems reduces tiller vigor and the ability of the tiller to support a large panicle. On the other hand,  
5 remobilizing N from the tiller leaves reduces the duration of plant photosynthesis and the ability of the  
6 plant to capture carbon (C) to fill the grain. Indeed, C is a major component of grain yield, assimilated  
7 by photosynthesis and stored in the straw before flowering, then remobilized to the grain after flowering.  
8 At the same time, N is a key element in the photosynthesis system, being the central component of the  
9 Rubisco (Imai et al. 2008). The “stay-green” phenotype has been described as one maintaining its leaves  
10 green for an extended period during grain filling and so being beneficial to the productivity by preserving  
11 photosynthesis and C assimilation (Cock et Yoshida 1972) but detrimental to remobilization  
12 (Hörtensteiner 2009; Foulkes et al, 2009). In contrast, an earlier leaf senescence is often associated with  
13 a good remobilization, and that of the flag leaf is a good indicator (Uauy et al. 2006). And remobilization  
14 can be also associated with high yield, with also high N content in the grain being essential for its  
15 nutritional value and milling quality (amount of protein) especially for wheat (Fuertes-Mendizábal et al.  
16 2012; Barraclough, et al. 2014). The major part of remobilized N within the grain at maturity, commonly  
17 reported in the literature, suggests that (i) N remobilization for grain filling is a substitute for post-  
18 flowering N uptake, and (ii) leaf senescence is rapid and C assimilation during grain filling limited.  
19 During grain filling, the increase in C assimilation and the expression of the stay-green trait would be  
20 favored favored if post-flowering N uptake is greater.

21 The selection for post-flowering N uptake appears then as a promising avenue to improve overall N  
22 uptake efficiency, reduce mineral N residues, and increase rice yields as it shall come with higher C  
23 assimilation through extended plant photosynthesis. Whether this trait is associated with higher or lower  
24 NRE in temperate rice will be addressed in the present study. In fact, the genotypic diversity of NUE  
25 components has been well studied in many environments for wheat (Kichey et al. 2007; O. Gaju et al.  
26 2011; Bogard et al. 2011; Gaju et al. 2014; Taulemesse et al. 2015), however, it has been poorly studied  
27 at the field level for rice, especially in non-tropical areas like in the Mediterranean basin. The main  
28 objectives of this paper are to (i) quantify if a diversity in pre- and post-flowering N uptake exists within  
29 a set of twelve contrasted European genotypes grown in the South of France, and (ii) evaluate whether  
30 remobilization and post-flowering N uptake can be combined to improve plant NUE, and (iii) identify  
31 phenotypic markers associated with NUE and agronomic performances.

## Methods

### Site description and Crop Management

Two field experiments have been conducted at the experimental station of the French Rice Center (Centre Français du Riz, CFR), Fourques, France (Mas d'Adrien; 43°42'16.8"N 4°33'31.7"E) from May to October 2018 and 2019. The experimental plan was a randomized complete block design (RCBD), with four replications in 2018 and five replications in 2019. The experiment included twelve *japonica* temperate rice cultivars adapted to European conditions with variable precocity (Supplemental 1/**Annexe 2**). Sowing was carried out on May 9<sup>th</sup> 2018 and May 7<sup>th</sup> 2019 at a rate of 500 grains/m<sup>2</sup> in 2018 and 600 grains/m<sup>2</sup> in 2019, set up with the 8-row seed drill in elementary plots of 10 m<sup>2</sup> (1.65 x 6 m), then watered the following day.

Each year was conducted on a different field. In 2018, the soil was described as 16% of sand, 22% of clay and 62% of silt with pH of 8.3, 1.3% of organic matter and 1.23 g.kg<sup>-2</sup> of N, and the previous crop was maize. In 2019, it was 21% of sand, 22% of clay and 57% of silt with pH of 8.5, 1.9% of organic matter and 0.92 g.kg<sup>-2</sup> of N, and the previous crop was durum wheat. Weather data have been collected by a local meteorological station (43.704 ° N, 4.561 ° E, and altitude: 3 meters). It is an automatic CIMEL 516i type station, equipped with sensors for temperature, humidity, insolation, radiation, and wind, providing data on hourly time or daily time.

Nitrogen fertilization was common to the whole experiment area for both trials with three applications of 50 units of nitrogen. The first one was done during April before sowing with an application of 14-18-18-19 NPKS fertilizer. Then 50 units were applied manually on June 23<sup>th</sup> 2018 and on June 26<sup>th</sup> 2019 at the tillering stage (110 kg/ha of urea granules). The last fertilization (110 kg/ha of urea granules) was carried out manually on July 19<sup>th</sup> 2018 and the July 20<sup>th</sup> 2019 at heading stage.

### Sampling and Measures

Emergence evaluation has been done one month after each sowing. This evaluation was carried out by counting the number of plants on a 1 meter transect.

Flowering stage was reached when the stamens were visible on more than 50% of the plot. Maturity stage was determined when 80% of grains were yellow-colored.

For each stage, all plants on a 20 cm transect in a randomized location were sampled and placed in a plastic bag containing water and brought to the laboratory.

1 **Tableau 5:List of traits measured**

Stage	Trait mesured	Unit	description
Flowering	TillNb	No unit	Number of tills
	LA1.Indiv	cm <sup>2</sup>	Mean of Area of 10 Flag Leaves
	LA2.Indiv	cm <sup>2</sup>	Mean of Area of 10 Leaves under the Flag Leaves
	%N.St	%ofN per g	Amount of total nitrogen contained in 1g of stems dry weight
	%N.Lf	%ofN per g	Amount of total nitrogen contained in 1g of leaves dry weight
	LA	cm <sup>2</sup>	Leaf area
	StDW	g/m <sup>2</sup>	stems dry weight (including juvenile panicles)
	LfDW	g/m <sup>2</sup>	leaves blade dry weight
	ShDW	g/m <sup>2</sup>	Sum of stems and leaves dry weight
Maturity	SG_Lf	No unit	Number of leaves stayed green
	%N.Str	%ofN per g	Amount of total nitrogen contained in 1g of straws dry weight
	%N.Gr	%ofN per g	Amount of total nitrogen contained in 1g of grains dry weight
	StrDw	g/m <sup>2</sup>	Dry weight of straw.
	GP	g/m <sup>2</sup>	Dry weight of total filled grains.
	FiRate	%	Percent of filled grain. Obtained dividing DW of filled grains by the total DW of grains sampled.
	GrNB_Pa	No unit	Number of grains by panicle. Obtained dividing total grains number by the number of panicles
	PaNb	No unit	Number of panicles by m <sup>2</sup> .
	Till.Eff	%	Rate of productive tills rappedorted to the TillNb
	GrNB	No unit	GrNB/Pa*PaNb
	1000GrDW	g	Dry weight of 1000 filled grains.

1 At flowering, total tiller number per sample (**Flo.TilNB**) was determined and plant height from the plant  
2 base to the highest ligule was calculated. For each sample, plants were separated into green leaf blades,  
3 dead leaf blades, and stems (sheaths, internodes and nodes, and panicles when present). The individual  
4 leaf area (**LA**) of 10 flag leaves (**LA1ind**) and of the 10 leaves of the same tillers located just below the  
5 flag leaves (being also the second youngest leaves of the tiller after the flag leaves) (**LA2ind**) were  
6 measured right after being detached from the plant with a leaf area meter (LI-3100C Area Meter, Li-  
7 Cor, Lincoln, NE, USA). The area of all the remaining green leaves were also measured with a leaf area  
8 meter as soon as they were detached to avoid the leaves to dehydrate and roll. Samples of flag leaves,  
9 second youngest leaves, remaining green leaves, dead leaves, and stems, were then placed in paper bags  
10 and dried within 72 h in an oven at 60°C before weighing. Plant organs were then weighted  
11 independently and shoot dry matter was calculated as the sum of the dry matters of leaf blades, stems,  
12 and dead leaves. Values were multiplied by 25 to obtain data at a square meter basis.

13 At maturity, total tiller (including dead tillers) and panicle numbers per sample were determined  
14 and plant height from the plant base to the highest ligule was calculated. For each sample, plants were  
15 separated into green leaf blades, dead leaf blades, stems (sheaths, internodes and nodes), and panicles.  
16 Tillering efficiency (**Till.Eff**) was calculated as the ratio of panicle number divided by tiller number  
17 counted at flowering. Samples of green leaves, dead leaves, stems, and panicles, were then placed in  
18 paper bags and dried within 72 h in an oven at 60°C before weighing.

19 Dried grains were separated from the rachis, and filled and unfilled grains were separated with respect  
20 to a flow rate of 4 m<sup>3</sup>/s using a Seedburo blower (KL-1205, Seedburo, Chicago, IL, USA). The weight  
21 of total filled (Grain Production, **GP**) and unfilled grains, and 50 filled and unfilled grains and, by  
22 computation, the number of filled and unfilled grains per panicle, were determined. The 1000 filled  
23 grain dry weight (**1000GrDW**) and the total grain number per panicle (**GrNB\_Pa**) were calculated. The  
24 filling rate (**FiRate**) was computed as the ratio of filled grain number to the total grain number. Harvest  
25 index (**HI**) was computed as filled grain dry matter divided by shoot dry matter.

26 The dried plant organs described above were then crushed with a sieve of 1mm. The nitrogen  
27 amount (**N%**) of the resulting shred was measured by Near InfraRed Spectrometry (NIRS). NIRS  
28 analysis was done on dried and ground samples, on a NIRSystem5000 spectrometer (wavelengths 1100–  
29 2500 nm). All samples were scanned twice and the spectra were averaged. The calibration equation was  
30 issued from a CIRAD database built with 2000 samples of various plants, enriched with the computing  
31 of NIRS measurements and the chemical measurements of N with the Kjeldahl method conducted on 34  
32 of our samples. Each concentration of N used in this study was a prediction calculated from this  
33 calibration. Validation of the results showed a good precision of the predictions, with R<sup>2</sup> and SECV of  
34 respectively 1.1 and 0.93. The **Tableau 5** summaries all trait measured.



**Traits Calculation**

Several traits have been calculated from the measurements described previously:

The Harvest Index (HI) is the ratio of Grain Production divided by total biomass:

$$\text{Eq 7} \quad HI = \frac{GP}{GP + \text{StrDw}}$$

The amount of total N uptaken up to flowering ( $N_{uptake}^{flo}$ ) and up to maturity ( $N_{uptake}^{Tot}$ ) have been calculated by computing the NIRS results with the dry matter of plant organs.

$$\text{Eq 8} \quad N_{uptake}^{pre\ flo} = \text{StDW} \times \%N.St + \text{LfDW} \times \%N.Lf$$

$$\text{Eq 9} \quad N_{uptake}^{Tot} = \text{StrDW} \times \%N.Str + GP \times \%N.Gr$$

The amount of N uptaken between flowering and maturity have been established by the calculation below

$$\text{Eq 10} \quad N_{uptake}^{post\ flo} = N_{uptake}^{Tot} - N_{uptake}^{flo}$$

The Nitrogen Remobilized was estimated by the difference between the total amount of N measured at flowering and the amount of N measured in the straw at maturity. This calculation assumes that most of the  $N_{uptake}^{post\ flo}$  is transferred directly into the grains, the rest being negligible.

$$\text{Eq 11} \quad NRemo = N_{uptake}^{pre\ flo} - \text{StrDW} \times \%N.Str$$

The post-flowering dry biomass accumulation were calculated as:

$$\text{Eq 12} \quad \text{postDW}_{accumulation} = GP + \text{StrDw} - (\text{StDW} + \text{LfDW})$$

The translocation of dry matter from the vegetative organs to the grains have been calculated as:

$$\text{Eq 13} \quad DW_{translocation} = (\text{StDW} + \text{LfDW}) - \text{StrDw}$$

The Nitrogen Utilisation Efficiency (NUtE) was the amount of dried biomass produced by the amount of N uptaken. Two kind of NUtE have been calculated, one as the total of dried aboveground biomass produced at flowering, and the other as the total of dried grain weight at maturity. Both were calculated as:

$$\text{Eq 14} \quad \text{Flor. NUtE} = \frac{\text{ShDW}}{N_{uptake}^{Tot}}$$

$$\text{Eq 15} \quad \text{Gr. NUtE} = \frac{GP}{N_{uptake}^{Tot}}$$

**1 Statistical analysis**

2 The principal component analysis, clustering analysis and plotting have been done with *FactoMineR*  
3 and *FactoExtra* packages following the method described by Husson et al (2010). We used the genotype  
4 as a supplemental qualitative variable. Clustering have been done to classify genotypes. It was calculated  
5 with the barycenter coordinate of each genotype. A complete Pearson correlation matrix have been  
6 calculated for all traits and tests for the significances of this correlation have been done with *base R*  
7 software and plotted with *Corrplot* package.

8 The genotypic diversity have been established following the linear model below:

$$9 Y_n = \mu + \lambda_n + \alpha_i + \lambda_k(\alpha_i) + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_n$$

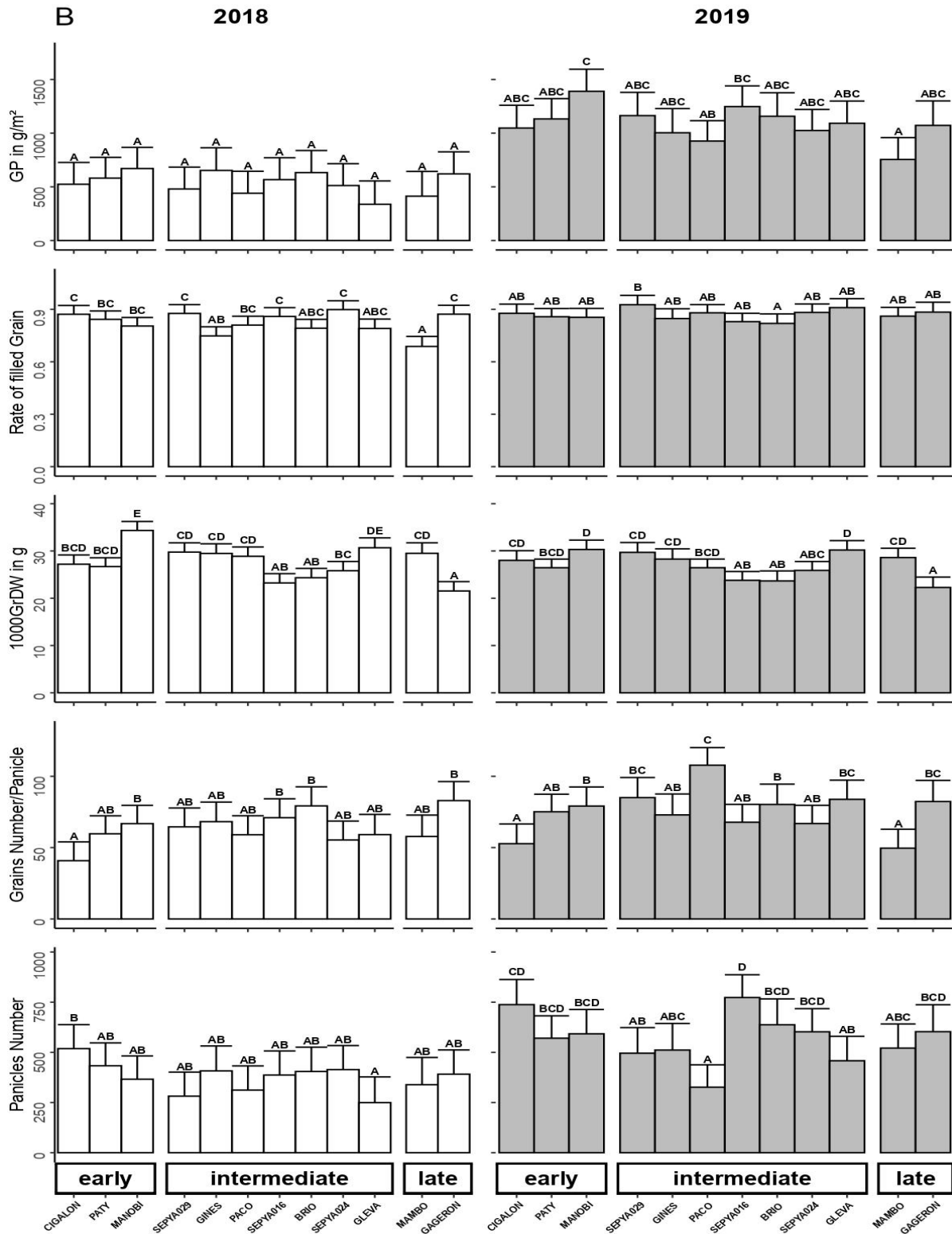
10 With  $Y$  as the trait observed,  $\mu$  as the theoretical mean,  $\lambda_n$  the level of emergency;  $\alpha_i$  the fixed years  
11 effect,  $\lambda_k$  the bloc effect nested with year effect  $\alpha_i$ ;  $\beta_j$  the genotype fixed effect;  $(\alpha\beta)_{ij}$  the year:cultivar  
12 interaction effect; and  $\varepsilon_n$  as residuals. Factors effects on each variable have been calculated by ANOVA,  
13 with the R software. Models have been run with the *lme4* package, and adjusted means calculation and  
14 posthoc analysis have be done with the *emmeans* package.

1

A

	Emergency Df=1	Year Df=1	Genotype Df=11	Year:bloc Df=8	Year:Genotype Df=11
<i>GP in g/m<sup>2</sup></i>	1.7e-05 ***	4.2e-19 ***	3.6e-03 **	8.6e-03 **	0.29 N.S
<i>Rate of filled Grain</i>	1.8e-09 ***	5.4e-03 **	7e-07 ***	0.36 N.S	6.2e-04 ***
<i>1000GrDW in g</i>	1.5e-06 ***	0.46 N.S	1.5e-21 ***	0.74 N.S	0.15 N.S
<i>Grains Number/Panicle</i>	0.25 N.S	1.4e-03 **	7.6e-09 ***	6.5e-03 **	4e-04 ***
<i>Panicles Number</i>	1.4e-02 *	2.4e-09 ***	3.3e-07 ***	4.5e-03 **	0.16 N.S

B



## Figure 26 Genotypic diversity of Grain Production and its components

A. Anova summary table of the effect of Emergency, Year, Genotype and Year:Genotype on the Grain Production (GP), the Rate of filled grains, the 1000 grains dry weight (1000GrDW), the number of grain by panicles and the panicles numbers.

N.S  $P > 0.1$ ; . $P < 0.1$ ; \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$  and \*\*\* $P < 0.001$  Df: Degree of freedom

B. Adjusted Mean and standard errors of GP and its components of each genotypes in 2018 and 2019. Letters group have been established by year with post hoc test done a the linear model described in M&M with a Tukey adjustment. Two bare plots showing same letter indicated no significant ( $P < 0.05$ ) difference between. Groups of phenology depend of the date of flowering correspond to the mean date of both years as :

Early:  $< 95$  days

Intermediate:  $< 100$  days

Late:  $> 100$  days

1

## Results

2

### The contrast in crop phenology and yield components highlights the large genotypic diversity under study, but with substantial compensation effect between yield components

3

4

Genotype diversity across the 12 temperate japonica rice genotypes under study was peaked through anthesis time that ranged over three weeks. The phenology was consistent across years even though anthesis occurred in average three days later in 2019 than in 2018 with some differences respective of the genotypes: the highest change in phenology was seven days reported with *Paty* and *Mambo* (Supplemental 2/**Annexe 3**) while it was unchanged with *Sepya024* and *Gageron*. These two growing periods were characterized with substantial differences in climate conditions and soil fertility. Climate conditions were more favorable in 2019 than in 2018, with global radiation cumulated over the whole crop cycle of 349 vs 318 kJoules  $\text{cm}^{-1}$  and maximum vapor pressure deficit averaged over the crop cycle of 2.6 vs. 2.9 kPa. Air temperature was similar across growing periods whereas air was dryer in 2018 than in 2019. Meanwhile, soil fertility was higher in 2018 than in 2019, with a soil nitrogen release potential measured at time of sowing of 34 unit  $\text{ha}^{-1}$  in 2018, but only 18 unit  $\text{ha}^{-1}$  in 2019. The phenology data were then averaged over the two years and used to cluster the 12 genotypes within three maturity groups, early (days post sowing  $< 95$ ), intermediate ( $95 < \text{days post sowing} < 100$ ), and late (days post sowing  $> 100$ ). The largest group, the intermediate one, comprised seven genotypes.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

Grain production measured from the sampling area was correlated with grain yield collected by mechanical harvesting from the whole plot over both years (Supplemental 3/**Annexe 4**). Grain production was subjected to a global Year effect with a mean value in 2019 almost twice as high as that in 2018, that was 1086 and 564  $\text{g m}^{-2}$  respectively, which highlighted the differences in growing conditions across years reported earlier. A same tendency was, however, reported across genotypes (no Year:Genotype interaction) although values were not significantly different in 2018 (**Figure 26A**): grain production was appreciably higher with the early maturity group.

19

20

21

22

23

24

25

1 Highest values were that of *Manobi* in the early group, *Sepya016* and *Brio* (and *Gines* in 2018) in the  
2 intermediate group, and *Gageron* in the late group. In 2019, the year of favorable conditions, highest  
3 grain production was reported with *Manobi* (1390 g m<sup>-2</sup>) and *Sepya016* (1253 g m<sup>-2</sup>), one early and one  
4 intermediate genotypes (**Figure 26 B**). A Year effect was also observed for yield components except for  
5 grain size (1000GrDW) (**Figure 26 A**). The largest Year effect was reported for panicle number that  
6 increased significantly from 389 to 569 m<sup>-2</sup> from 2018 to 2019, this component being also the first of  
7 the yield components to be established and fixed during plant development. The second largest Year  
8 effect was reported for panicle size (grain number per panicle, that increased appreciably from 64 to 75  
9 from 2018 to 2019), which is the second of the yield components to be fixed during plant development.

10 Considering most of the plant plasticity across both years was accounted by panicle number and panicle  
11 size, the changes in grain size and fertility rate (rate of filled grain) were less impacted by years (**Figure**  
12 **26 B**). The fertility rate raised significantly from 83% to 87% while grain size, quite stable respective  
13 of the genotypes, was maintained at around 27 g for both years (no Year effect).

14 Genotypic diversity across the 12 genotypes was also peaked through the range of variation in  
15 yield components for which maturity group was not a determinant factor: a Genotype effect was reported  
16 for each of the four yield components (**Figure 26 A**). In particular in 2019, panicle number across  
17 genotypes varied from 300 to 750 panicles m<sup>-2</sup>, panicle size from 50 to 100 grains per panicle, grain size  
18 from 22 to 30 g, and fertility rate from 0,8 to 0,9. No Year:Genotype interaction was reported for panicle  
19 number and grain size: *Cigalon*, *Brio*, *Sepya016* and *Gageron* were characterized with large panicle  
20 number while *Manobi*, *Gleva*, *Sepya029* and *Mambo* were characterized with large grain size (it is  
21 noteworthy that each set represents the three maturity groups). The absence of Year:Genotype  
22 interaction for panicle number while one was reported for panicle size highlighted that the increase in  
23 panicle number with year was strong with all genotypes whereas the plasticity in panicle size with year  
24 was not that high for some of the genotypes. The genotypic diversity also exhibited a large compensation  
25 effect (**Figure 26 B**): in 2019 as an example, the genotypes characterized with the highest panicle  
26 numbers (*Cigalon*, *Brio*, *Sepya016* and *Gageron*) were also those with the lowest panicle size (*Cigalon*),  
27 the lowest grain size (*Brio* and *Gageron*), or intermediate panicle size and grain size (*Sepya016*). At the  
28 same time, the genotypes with the largest grain size (*Manobi*, *Gleva*, *Sepya029* and *Mambo*) were also  
29 those with the lowest panicle number (*Gleva*), the lowest panicle size (*Mambo*), or intermediate panicle  
30 number and panicle size (*Manobi* and *Sepya029*). Also, the genotype with the largest panicle size (*Paco*)  
31 was that with the lowest panicle number. In fact, similar performance in grain production was reached  
32 through different combinations in yield components, as observed in 2019 where the genotypes with the  
33 largest grain production *Manobi* and *Sepya016* were characterized with the highest grain size (*Manobi*)  
34 or the highest panicle number (*Sepya016*) (**Figure 26 B**).

1        **Early genotypes are characterized with the lowest biomass remobilization to the grain and the**  
2        **highest biomass accumulation during grain filling**

3        Genotype diversity in biomass accumulation and harvest index, in comparison to that in yield  
4 components, seemed follow crop phenology (**Tableau 6**). This was valid for variables like values of  
5 harvest index and pre-flowering biomass, and estimates of pre-flowering biomass remobilized to the  
6 grain and post-flowering biomass accumulated. Indeed, short-cycle genotypes, those that obviously  
7 accumulated the lowest quantity of pre-flowering biomass (less than 450 g in 2018 and around 1050 g  
8 in 2019), were also those with the lowest biomass remobilization, the highest post-flowering biomass  
9 accumulation (up to 770 g in 2018 and 1550 g in 2019) and the highest harvest index (between 56 and  
10 60%, except for *Cigalon* in 2019) (**Tableau 6**).

11        In other terms, short-cycle genotypes were able to accumulate more biomass during the post-flowering  
12 phase than during the pre-flowering phase. In addition, short-cycle genotypes were able to accumulate  
13 more biomass than intermediate-cycle genotypes during the same amount of time, i.e. the grain-filling  
14 phase that lasted 48 and 50 days in 2018 and 2019, and 46 and 55 days in 2018 and 2019, for the short-  
15 and intermediate-cycle genotypes, respectively. In contrast, the differences in pre-flowering biomass  
16 accumulation between short- and intermediate-cycle genotypes were mainly associated with the  
17 differences in the duration of the pre-flowering phase, 86 and 95 days in 2018 and 2019, and 91 and 98  
18 days in 2018 and 2019, respectively. As observed with grain production and yield components, a strong  
19 Year effect was reported at flowering for biomass accumulation and biomass partitioning data. Indeed,  
20 pre-flowering shoot biomass varied between 357 and 694 g in 2018 and between 1022 and 1511 g in  
21 2019, while biomass partitioning between leaf and stem (leaf ratio) at flowering varied between 16 and  
22 23% in 2018 and 20 and 26% in 2019 (**Tableau 6**). The Year effect, which was strong in the case of  
23 pre-flowering biomass accumulation (differences were from double to triple), was only observed with  
24 four genotypes (*Cigalon*, *Sepya029*, *Paco*, and *Brio*) in the case of harvest index harvest, which varied  
25 similarly in each year, between 48 and 61% in 2018, and 47 and 60% in 2019 (**Tableau 6**). Meanwhile,  
26 the two varieties with the highest grain production, *Manobi* and *Sepya016* (**Figure 26**), were also  
27 characterized with high mean harvest index, 57 and 59% respectively, while the lowest grain production  
28 and lowest mean harvest index (48%) were reported with *Mambo* (**Tableau 6**). It is noteworthy here  
29 that grain production and harvest index were correlated ( $r^2=0.43$  in 2018 and  $r^2=0.46$  in 2019,  
30 Supplemental 4/**Annexe 5**) even though grain production, to the difference of harvest index, was only  
31 slightly associated with maturity groups (**Figure 26**). Indeed, in the case of *Manobi*, high grain  
32 production (**Figure 26**) was associated with the highest post-flowering biomass accumulation (to  
33 compensate the low pre-flowering biomass accumulation, **Tableau 6**), while, in the case of *Sepya016*,  
34 it was associated with a high pre-flowering biomass accumulation and remobilization (that may have  
35 down-regulated post-flowering biomass accumulation).

**Tableau 6 : Biomasses productions and partitioning among two years for each genotypes**

Adjusted means (EMM) and standard errors (SE) of the Accumulation of Dry Weight before flowering (Pre-DW Accumulation) and after flowering (postDW Accumulation), the Dry Weight translocation to the grains (DW\_Translocation) and the Harvest Index for each genotypes in both years. Scales colors have been established by column to highlight genotypic diversity. N.S.P>0.1; .P<0.1; \*P<0.05; \*\*P<0.01 and \*\*\*P<0.001 Df: Degree of freedom

Cultivar	Pre_DW Accumulation (g)			Post_DW Accumulation (g)			DW_Translocation (g)			Harvest Index				
	2018	2019	2018	2018	2019	2018	2018	2019	2018	2018	2018	2018		
	EMM	SE	EMM	EMM	SE	EMM	EMM	SE	EMM	SE	EMM	SE	EMM	SE
CIGALON	356,63	81,99	1049,76	86,15	533,91	163,64	935,52	171,95	4,97	107,64	104,11	113,10	59%	52%
PATY	424,28	78,32	1021,96	76,55	539,13	156,32	943,25	152,78	43,01	102,82	193,87	100,50	60%	58%
MANOBI	421,45	79,61	1072,48	88,04	776,23	158,90	1552,03	175,73	-94,40	104,52	-6,44	115,59	56%	58%
SEPYA029	557,13	82,29	1511,45	87,85	448,30	164,24	561,38	175,34	36,53	108,04	592,85	115,34	49%	56%
GINES	586,25	85,40	1133,77	91,38	674,23	170,44	782,49	182,39	-25,66	112,12	209,32	119,98	52%	52%
PACO	471,46	82,79	1388,77	76,65	494,28	165,25	269,97	153,00	-45,74	108,70	660,76	100,64	47%	56%
SEPYA016	683,11	82,48	1384,33	78,00	254,27	164,63	823,14	155,68	315,41	108,29	425,46	102,41	60%	57%
BRIO	624,12	83,17	1405,98	88,82	484,12	165,99	725,52	177,28	148,61	109,19	421,76	116,61	57%	54%
SEPYA024	633,47	82,29	1325,79	79,27	318,78	164,25	672,46	158,22	197,57	108,04	351,66	104,08	54%	51%
GLEVA	555,74	87,96	1340,08	83,74	149,67	175,57	471,54	167,15	204,55	115,49	614,97	109,95	52%	60%
MAMBO	577,16	93,25	1279,82	82,65	320,01	186,11	313,67	164,97	114,73	122,42	442,50	108,51	50%	47%
GAGERON	694,16	83,00	1401,10	92,46	463,36	165,66	554,04	184,54	157,69	108,97	505,63	121,39	54%	54%
mean	548,75	81,99	1276,27	86,15	454,69	163,64	717,08	171,95	88,10	107,64	376,37	113,10	54%	55%
Emergency, Df=1	5.06e-16	***			0.99	N.S			4.14e-05	***			0.0538	.
Year Df=1	4.88e-35	***			0.0146	*			7.88e-11	***			0.985	N.S
Cultivar Df=11	2.35e-08	***			1.21e-05	***			1.15e-05	***			1.32e-09	***
Year:bloc, Df=8	0.27	N.S			0.00973	**			0.167	N.S			0.0491	*
Year:Cultivar Df=11	0.188	N.S			0.0704	.			0.0219	*			4.81e-07	***

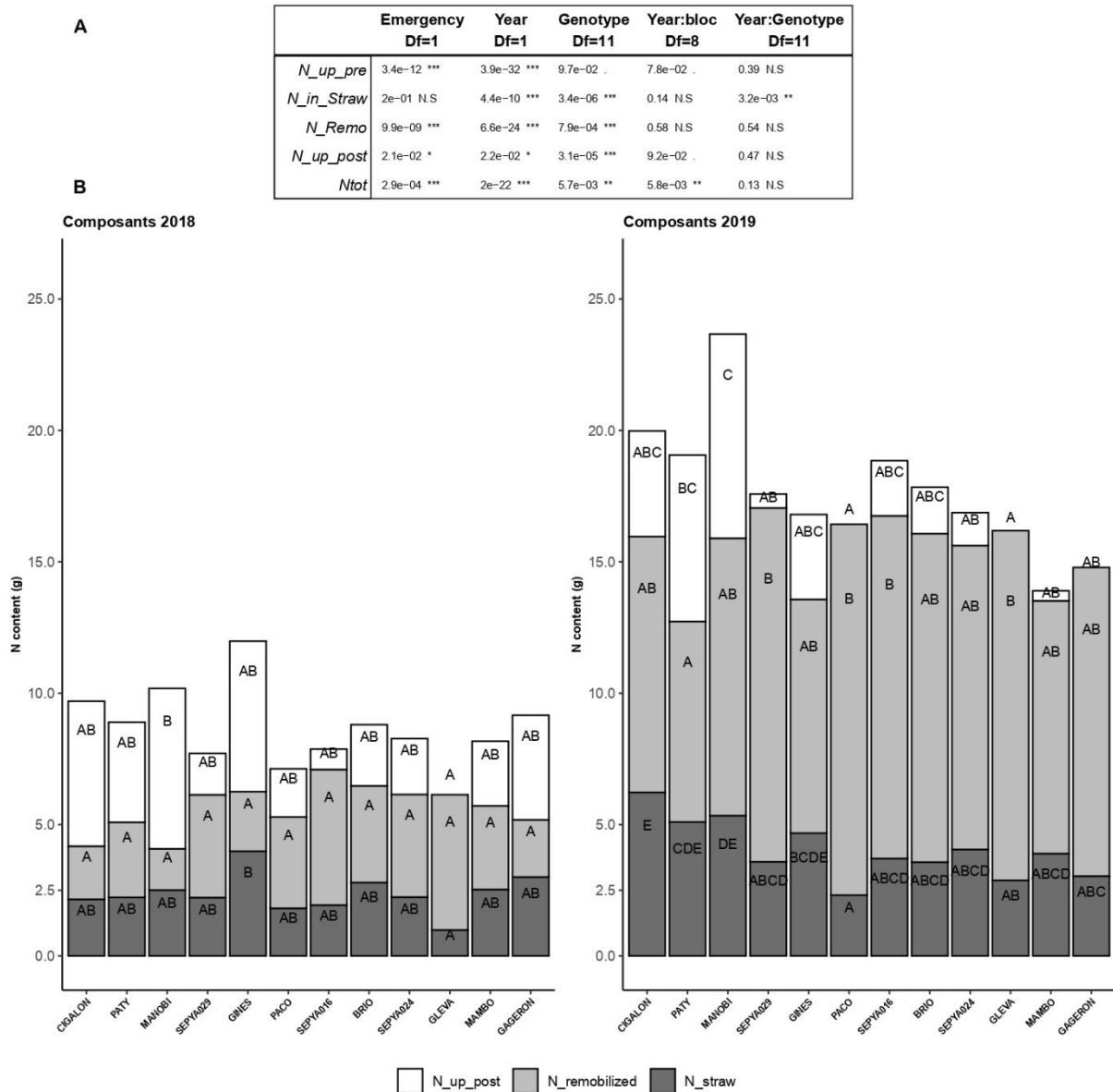
1        **Pre- and post-flowering N uptake are solid discriminants across genotypes, with early**  
2        **genotypes expressing a tendentious ability to uptake N during grain filling**

3        Plant N uptake was significantly higher by 50% in 2019 than in 2018 (**Figure 27**), as was the  
4        difference in grain production (**Figure 26**) and biomass accumulation (**Tableau 6**), but with the absence  
5        of Year:Genotype interaction for these three variables. When N uptake is described by pre- and post-  
6        flowering uptake, and pre-flowering N uptake is partitioned between straw N at maturity and N  
7        remobilized to the grain (**Figure 27**), it is confirmed that the genotype-based patterns of N and biomass  
8        accumulation and remobilization (**Tableau 6** and **Figure 27**) were similar. In addition, most of the  
9        genotypic variation between 2018 and 2019 was mainly accounted by the pre-flowering N uptake, in  
10       comparison to the post-flowering N uptake, with a Year:Genotype interaction reported for the part of N  
11       that was maintained in the straw at maturity. Interestingly, post-flowering N uptake was significantly  
12       lower, and pre-flowering N uptake significantly higher, in favorable growth conditions (2019, **Figure**  
13       **27**). As a result, post-flowering N uptake appears as up-regulated under stressing conditions (2018).

14       Post-flowering N uptake in each year was the highest variable component across genotypes,  
15       with differences more contrasted in 2019 under favorable conditions (**Figure 27**). The analogy observed  
16       earlier for biomass and N accumulation indicates that the diversity in N uptake tends to be also associated  
17       with maturity groups, with post-flowering N uptake appreciably higher for earlier genotypes. Globally,  
18       some genotypes like *Paco* and mainly *Gleva* seemed to have a poor ability to uptake post-flowering N.  
19       They were significantly different from genotypes like *Cigalon*, *Manobi*, *Paty* and *Gines* that uptook an  
20       average of 5 g N m<sup>-2</sup> after flowering. Values of the other genotypes were intermediate, between 0.8 g to  
21       4.7 g N m<sup>-2</sup>. In contrast, genotypes like *Gleva* and *Sepya016* were characterized with the highest N  
22       remobilization values of more than 9 g N m<sup>-2</sup>, corresponding to 85% and 76% of their respective pre-  
23       flowering N uptake (**Figure 27**). To the difference of *Manobi*, for which high grain production was  
24       associated with high post-flowering N uptake, high grain production of *Sepya016* was associated with  
25       high N remobilization. However, *Sepya016* exhibited also high post-flowering N uptake despite being  
26       part of the intermediate group. Interestingly, post-flowering N uptake was correlated with straw N rate  
27       at maturity ( $r^2=0.47$ , Supplemental 4/**Annexe 5**). Namely under favorable conditions (2019), the straw  
28       N content at maturity was maximal with four genotypes, *Manobi*, *Paty*, *Gines* and *Cigalon*, with more  
29       than 3.5 g N, which were also the genotypes with the highest post-flowering N uptake (**Figure 27**). At  
30       the same time, straw N content (and post-flowering N uptake) was minimal with *Gleva* and *Paco* at 2.1  
31       g N. The remobilized N, and so the pre-flowering N uptake, was the predominant N part whatever the  
32       year and the genotype, which highlights the importance of the pre-flowering phase in accumulating N  
33       materials lately transferred to the grain. The post-flowering N uptake, however, was the most  
34       discriminant part across genotypes and was, in that sense, correlated with the grain production itself  
35       ( $r^2=0.57$  in 2018 and  $r^2=0.77$  in 2019 Supplemental 4/**Annexe 5**).



1



**Figure 27 Diversity of Nitrogen uptake and remobilization of twelve genotypes in two contrasted years**

A. Anova summary table of the effect of Emergency, Year, Genotype and Year:Genotype on the quantity of nitrogen uptake before and after flowering (respectively *N\_up\_pre* and *N\_up\_pos*), the sum of both (*Ntot*), and the quantity of nitrogen remobilized to grain (*N\_Remo*) and stayed in straws (*N\_in\_Straw*)

N.S  $P > 0.1$ ; .  $P < 0.1$ ; \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$  Df: Degree of freedom

B. *N\_in\_Straw* (dark grey), *N\_Remo* (light grey) and *N\_up\_post* (white) adjusted mean of each genotypes in 2018 and 2019. Graphics are plotted on the 0:25 Y scale to illustrate uptaking dynamics but involved the hide of negative values for Paco, Gleva and Gageron probably caused by senescence, Letters group have been established by year with post hoc test done a the linear model described in M&M with a Tukey adjustment. Two bare plots showing same letter indicated no significant ( $P < 0.05$ ) difference between. Groups of phenology depend of the date of flowering correspond to the mean date of both years as :

Early: < 95 days

Intermediate: < 100 days

Late: > 100 days

### Early genotypes are less efficient to accumulate biomass per N quantity uptaken

The biomass-based Nitrogen Utilization Efficiency (biomass NUtE), calculated as the quantity of biomass produced per N element uptaken, was significantly impacted by the year of study (it was higher in unfavorable conditions like in 2018), with a p-value  $< 5.98e^{-09}$  (Figure 28). In average, 98 and 84 g biomass  $g^{-1}$  N was produced in 2018 and 2019, respectively (data not shown). The grain-based Nitrogen Utilization Efficiency (grain NUtE), which was lower than the biomass NUtE, was not significantly affected by the year, with mean values of 62.6 and 63.3 g grain  $g^{-1}$  N in 2018 and 2019, respectively (data not shown). The Year effect on biomass NUTE was supported by a significant reduction from 2018 to 2019 reported with *Cigalon*, *Manobi*, *Sepya016*, *Sepya024* and *Gageron* (Figure 28). A significant reduction in grain NUtE with year was only reported with *Cigalon* and *Gleva* as 10 g grain  $g^{-1}$  N from 2018 to 2019, respectively.

Variation in biomass and grain NUtE across genotypes was significant with values ranging from 95 to 130 g biomass  $g^{-1}$  N in 2018 and from 65 to 95 g biomass  $g^{-1}$  N in 2019, and from 53 to 70 g grain  $g^{-1}$  N for both 2018 and 2019 (Figure 28). In the case of grain NUtE in 2019, values were lower than 60 g grains  $g^{-1}$  N with *Mambo*, *Gines* and *Cigalon*, and higher than 65 g grain  $g^{-1}$  N with *Gleva*, *Brio*, *Manobi*, *Sepya016* and *Gageron*. As expected, the variation in biomass NUtE across genotypes was associated with maturity groups, with lower values for early genotypes (Figure 28), and the profile of grain NUtE across genotypes was close to that of grain production (Figure 26).

### Smaller individual leaf area characterizes early genotypes, those with stay-green pattern and higher post-flowering N uptake

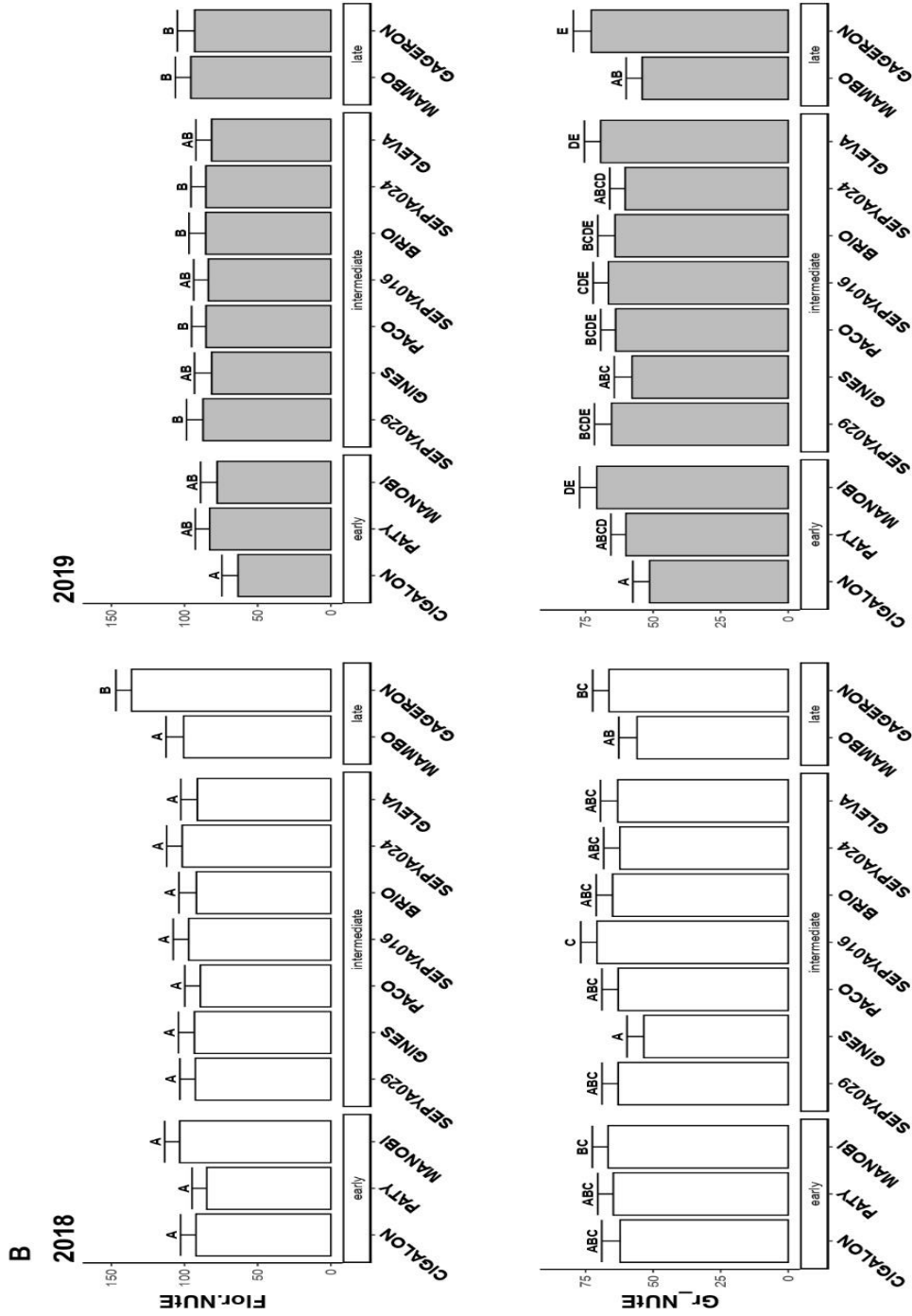
The main plant traits of this study were evaluated through a PCA analysis run over the two years. It revealed three first dimensions representing 61.5 % of the total information (Figure 29). In the same time, four clusters have been determined by the Ward method calculation defining the coordinates of the barycenter of each genotype for the three first dimensions. This optimum number of clusters has been established based on the position of the knee-point of the curve representing *Total within sum of square vs. Number of clusters* (Supplemental 5/Annexe 6). Cluster 1 included *Cigalon*, *Paty* and *Manobi*, cluster 2 *Gines* and *Mambo*, cluster 3 *Gleva*, *Paco* and *Sepya029*, and cluster 4 *Sepya016*, *Brio*, *Sepya024*, and *Gageron*. This PCA analysis was combined with a correlation table (Supplemental 4/Annexe 5) that was run for each year independently to remove the Year effect from the inter-traits correlations. The first dimension (Dim 1), representing 28.8 % of the global information, concerns variables mainly related to the pre-flowering phase.

**96 Figure 28 :**  
**Diversity of Nitrogen Utilization for biomass production at flowering and grain production**

Anova summary table of the effect of Emergency, Year, Genotype and Year:Genotype on the Nitrogen Use Efficiency to make grains (Gr.NUTE) and to make vegetative biomass at flowering (Flor.NUTE)

	Emergency	Year	Genotype	Year:Genotype
Gr.NUTE	3.6e-03 **	0.11 N.S	3.4e-09 ***	4e-02 *
Flor.NUTE	0.6 N.S	6e-09 ***	1.1e-08 ***	3.9e-04 ***
	Df=1	Df=1	Df=11	Df=8

A

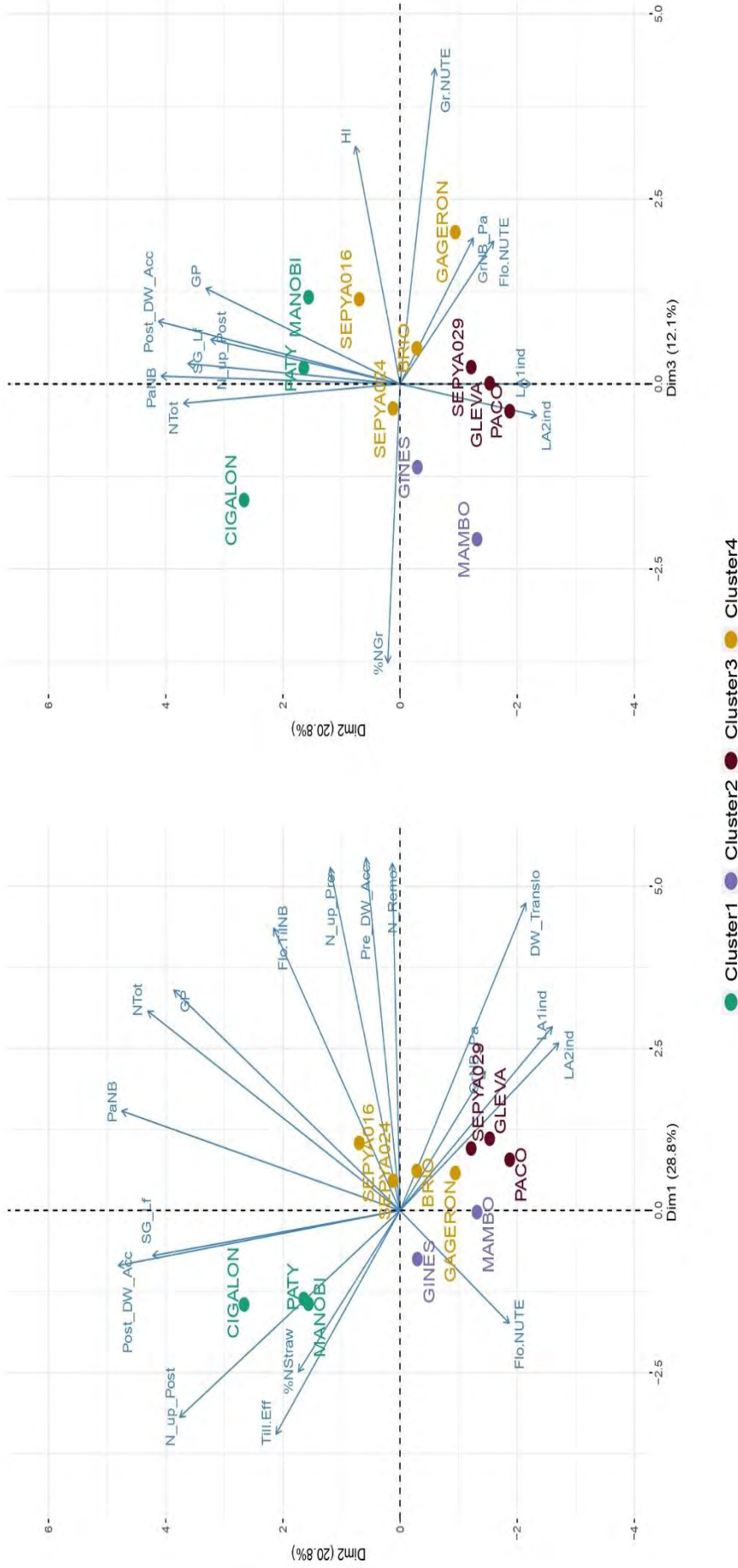


N.S  $P > 0.1$ ; \*  $P < 0.05$ ;  
 \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$  Df:  
 Degree of freedom

Flor.NUTE (on the top) and  
 Gr.NUTE (on the bottom) in  
 2018 (white) and 2019 (light  
 grey) adjusted mean of each  
 genotypes. Both are expressed in  
 g of biomass produced by g of N  
 uptake. Letters group have been  
 established by year with post hoc  
 test done a the linear model  
 described in M&M with a Tukey  
 adjustment. Two bare plots  
 showing same letter indicated no  
 significant ( $P < 0.05$ ) difference

1 This includes pre-flowering N uptake that was correlated with pre-flowering biomass accumulated ( $r^2 =$   
2 0.81 in 2018 and 0.78 in 2019), biomass remobilized ( $r^2 = 0.63$  in 2018 and 0.54 in 2019), N remobilized  
3 ( $r^2 = 0.87$  in 2018 and 2019) and tiller number at flowering ( $r^2 = 0.53$  in 2018, 0.40 in 2019), and  
4 negatively correlated with tillering efficiency ( $r^2 = 0.23$  in 2019). This indicates that genotypes that  
5 favored pre-flowering biomass accumulation and N uptake were those characterized with the highest  
6 rate of N remobilization. It is noteworthy that Dim 1 did not discriminate any of the four clusters (**Figure**  
7 **29**). The second Dim (Dim 2), representing 20.8 % of the global information, discriminates individuals  
8 based on variables mainly related to the post-flowering phase. This includes post-flowering N uptake  
9 correlated with post-flowering biomass accumulation ( $r^2 = 0.9$  in 2018 and 0.89 in 2019) and stay-green  
10 leaf number at maturity ( $r^2 = 0.42$  in 2018 and 0.57 in 2019).

11 In addition, Dim 2 reveals interesting negative correlations between individual leaf area of the  
12 flag leaf (LA1) and of the second youngest leaf after the flag leaf (LA2) with post-flowering traits.  
13 Indeed, LA1 and LA2 were negatively correlated with post-flowering biomass accumulation ( $r^2 = 0.42$   
14 and 0.44 in 2019) and N uptake ( $r^2 = 0.47$  and 0.46 in 2019), stay-green leaf number ( $r^2 = 0.53$  and 0.55  
15 in 2018, 0.37 and 0.45 in 2019) and, at a lower extent, harvest index ( $r^2 = 0.61$  and 0.51 in 2018)  
16 (Supplemental 4/**Annexe 5**). In the same line, they were correlated with pre-flowering traits, like  
17 biomass accumulation ( $r^2 = 0.37$  and 0.53 in 2018, 0.56 and 0.47 in 2019) and N uptake ( $r^2 = 0.36$  and  
18 0.39 in 2018) and N remobilization ( $r^2 = 0.47$  and 0.42 in 2019) (**Figure 29** and Supplemental 4/**Annexe**  
19 **5**). Also, tillering efficiency was correlated with post-flowering traits like biomass accumulation ( $r^2 =$   
20 0.71 in 2019) and N uptake ( $r^2 = 0.69$  in 2019) and stay-green leaf number ( $r^2 = 0.38$  in 2018, 0.35 in  
21 2019). In the same time, tillering efficiency was negatively correlated with pre-flowering biomass  
22 accumulation ( $r^2 = 0.40$  in 2018) and N uptake ( $r^2 = 0.41$  in 2018) and N remobilization ( $r^2 = 0.44$  in  
23 2018, 0.40 in 2019) (**Figure 29** and Supplemental 4/**Annexe 5**). This dimension identifies cluster 1 as a  
24 group of varieties particularly efficient in accumulating post-flowering biomass and uptaking post-  
25 flowering N, in opposition to cluster 3. The fact that some genotypes stood out with Dim 2, which was  
26 based on post-flowering variables, confirms that the post-flowering phase was highly genotype-  
27 discriminant in contrast to the pre-flowering phase. The third Dim (Dim 3), representing 12.1 % of the  
28 global information, generates a discrimination of cluster 4 in opposition to cluster 2, particularly with  
29 *Gageron*, and to a lesser extent with *Sepya016*, based on variables related to efficiencies like biomass  
30 and grain NUtE and harvest index (**Figure 29**). Meanwhile, Dim 3 also reveals cluster 2 for high N  
31 content in grains in opposition to clusters 3 and 4.



**Figure 29** Principal Component Analysis of Physiological Traits

On the left projection on the plan Dim1/Dim2, on the right on the plan Dim3/Dim4. PCA have been calculate with the pool of two years, with the following variables:

DW\_Translo : Dry weigh translocation; FiRate: Rate of filled grains ; Flo.LA : Leaves area at flowering; Flo.NUTE : Nitrogen Utilisation Efficiency of biomass production at flowering  
 Flo.TilNB : Number of tills at flowering; Gr.NUTE : Nitrogen Utilisation Efficiency of GP; Grains production; GrNB\_Pa : Number of grain by panicles; HI : Harvest index; LA1ind : Mean of individual leaf area of flag leaf; LA2ind : Mean of individual leaf area of the flag above the flag leaf; N\_Remo : Nitrogen remobilized; N\_up\_Pre : Nitrogen uptake pre flowering; N\_up\_Post : Nitrogen uptake post flowering; NTot : Total of Nitrogen uptake; PaNB : Number of panicles; Post\_DW\_Acc: Post flowering dry weight accumulation ; Pre\_DW\_Acc : Pre flowering DW accumulation; SG\_Lf : Number of leaves stayed green; Till.Eff: Tilling Efficiency; %NStraw : Nitrogen concentration in straws; %NGr : Nitrogen concentration in grains; 1000GrDW : 1000 grains dry weight.

Only well projected ( $\cos^2 > 0.2$ ) variables are visible on the projection. Genotype points correspond to the barycenter of each genotype (not shown but used in calculation). Clustering calculation have been done on the coordinates of each barycenter on the three first dimension of the PCA.

1        **Early genotypes seems to develop larger sink size**

2            Grain production was correlated with total N uptake ( $r^2 = 0.89$  in 2018,  $0.81$  in 2019), post-  
3 flowering biomass accumulation ( $r^2 = 0.78$  in 2018,  $0.79$  in 2019) and N uptake ( $0.77$  in 2018,  $0.57$  in  
4 2019), and stay-green leaf number ( $r^2 = 0.52$  in 2019), but not with pre-flowering N uptake (**Figure 29**  
5 and Supplemental 4/**Annexe 5**). Similarly, panicle number, that was discriminated by Dim 2, was  
6 correlated also with post-flowering biomass accumulation ( $r^2 = 0.58$  in 2018,  $0.68$  in 2019) and N uptake  
7 ( $r^2 = 0.64$  in 2018,  $0.5$  in 2019), and with stay-green leaf number ( $r^2 = 0.52$  in 2019). It was also  
8 correlated with grain production ( $r^2 = 0.63$  in 2018 and 2019) and with total N content in the plant ( $N_{tot}$ ,  
9  $r^2 = 0.56$  in 2018,  $0.73$  in 2019) while it was anti-correlated with panicle size ( $r^2 = -0.51$  in 2018,  $-0.57$   
10 in 2019). In contrast to panicle size, panicle number which is fixed early during plant development  
11 appears as an early marker of sink size and was anti-correlated with LAind1 ( $r^2 = -0.34$ ) and LAind2 ( $r^2$   
12  $= -0.41$ ) in 2019. Interestingly, tillering efficiency was positively correlated with post-flowering traits  
13 while negatively correlated with pre-flowering traits. Meanwhile, pre- and post-flowering N uptake were  
14 oppositely correlated with each other ( $r^2 = 0.55$  in 2018,  $0.44$  in 2019) (Supplemental 4/**Annexe 5**). This  
15 indicates that an individual genotype favored either pre- or post-flowering N uptake, but not both.

16            A proxy like tiller number at flowering appears as a good discriminant for Dim 1 (which  
17 highlights varieties that favored pre-flowering biomass accumulation and N uptake) while a proxy like  
18 stay-green leaf number at maturity appears as a good discriminant for Dim 2 (which highlights varieties  
19 that favored post-flowering biomass accumulation and N uptake). Moreover, individual leaf area  
20 (LAind1 and LAind2) is revealed as a useful proxy for pre-flowering biomass accumulation and N  
21 uptake (positive), post-flowering biomass accumulation, and N uptake (negative).

## **Discussion**

In this study, we described the diversity of nitrogen use and biomass production of twelve japonica temperate cultivar grown during two contrasted seasons. Measurements describing a dynamic trait, like the N remobilization or the DW translocation are evaluated from data related to traits measured on different samples and at different times. This implies some bias for data of the same treatment as they were collected from different plant samples at flowering and maturity. This implies also some approximations, including the loss of dead leaves before flowering and between flowering and maturity. However, it is reasonable to make the hypothesis that losses of dead leaves were associated with minimal losses of dry matter and were equivalent across treatments. That is why these biases are considered here as negligible within the subsequent comparative analysis. The difference in post-flowering N uptake between early and late genotypes could be due to the unique date of the last N application, whatever the genotype, resulting in differences across genotypes in the duration between this application and the start of grain filling. However, despite the gaps in plant phenology between genotypes, pre-flowering N uptake was not different across genotypes. What is more, plant N content was not correlated with flowering dates. Furthermore, diversity in post-flowering biomass accumulation within intermediate genotypes was large despite the same phenology. Indeed, differences in post-flowering N uptake were not the consequence of the contrast in flowering time but rather the expression of contrasted plant growth pattern. .

The genotype diversity in uptaking N efficiently along the whole cycle was expressed in this study during grain filling only where post-flowering N uptake was significantly contrasted across genotypes whereas pre-flowering N uptake was not. Any genotype of the 12 temperate japonica rice materials included in this study did favor either remobilization of pre-flowering N uptake or post-flowering N uptake, or expressed intermediate values for both of them. In clear, appreciably high N remobilization was not associated with high post-flowering N uptake within this cluster of genotypes. Within a comprehensive review on nitrogen uptake and remobilization across distinct crops, (Masclaux-Daubresse et al. 2010) reported in rice that the contribution of leaf nitrogen remobilization to the grain nitrogen content can vary by 50 to 90%.

In fact, considering the contribution of nitrogen remobilization to the grain nitrogen content was evaluated between 20 and 100% within our study, the rice diversity in post-flowering nitrogen uptake can be far larger if a broader range of genotypes would have been analyzed. The data of our study differed with common data reported by Ntanos and Koutroubas (2002) with Mediterranean rice cultivars where crop performance was related to the ability of the plants to uptake and store N before flowering and remobilize it after flowering. However, these authors have not considered the ability of the plants to uptake post-flowering nitrogen that was in the case of our study the significant trait as long as nitrogen uptake was concerned. In wheat, Gaju et al. (2011) observed that nitrogen uptake before flowering was related to the duration to flowering under high nitrogen conditions. However, their study occurred in many contrasted environments (N treatments, field locations and years of experiment), and under their low N conditions, pre-flowering N uptake did not correlated with flowering date like in the present study. In the present study, the genotypes differed in their pattern in uptaking nitrogen leading to contrasting abilities. (i) The ones that did not favor post-flowering N uptake were characterized with large biomass accumulation before flowering and quick leaf senescence correlated with high N remobilization to the grain after flowering. (ii) The ones that favored post-flowering N uptake favored also biomass accumulation after flowering and leaf stay-green pattern. Wu et al (2018) also reported correlation between post-flowering N uptake, post-flowering biomass accumulation and leaf stay-green pattern. This was expected considering that post-flowering N uptake and leaf stay-green are mutually consistent (high N source through uptake from roots shall reduce the requirement of N source through leaf senescence). Moreover one direct consequence was an extended period of plant photosynthesis, generating biomass accumulation thanks to C and N capture (Borrell and Hammer 2000; Borrell, Hammer, and Oosterom 2001; Erley et al. 2007; Dreccer 2006). This ability of some rice plants to favor post-flowering nitrogen uptake solves the dilemma highlighted by Masclaux-Daubresse et al (2010) that delayed leaf senescence could lead to higher yield thanks to increased carbon gain through extended photosynthesis but to lower nitrogen content in the grain. Indeed, the higher ability of some plants to uptake post-flowering nitrogen can compensate the lower remobilization and maintain grain quality. In contrast, this favorable pattern of post-flowering N uptake reported by Wu et al. (2018) was also associated with high biomass remobilization. The crop total duration of the 12 genotypes of the actual work varied by 20 days, but only by 2-5 days for the grain-filling phase. In contrast the duration of the only grain filling phase of the two genotypes studied by Wu et al (2018), one *Indica* and one *Indica-Japonica* hybrids, varied by as many as 23 days. The difference in growth pattern between these two genotypes was then mainly due to difference in phenology. It is meaningful that a longer filling phase by 23 days is associated with higher biomass remobilization, even if it is also associated with higher post-flowering N uptake and leaf stay-green pattern. In the present study, the robustness of the two contrasted patterns of N uptake is highly supported by the minimal difference in the respective filling phase duration. The actual study is the first one to acknowledge in rice the importance of the post-



flowering phase in discriminating genotypes in their ability to uptake nitrogen. The stability of the NUtE clearly confirms here, for rice, that the overall NUE of the plant depends much more on N uptake than on N utilization efficiency, as has already reported with wheat (Gaju et al, 2011). However, our observations suggest that global NUpE depends on post-flowering NUpE, which shall be itself modulated by the early utilization efficiency in producing biomass. This hypothesis suggests that improving NUE should not focus on the whole crop cycle but rather on the particular phase that needs to be improved (Han et al. 2015), considering the inter-connection between nitrogen components and between phases during the whole crop cycle.

Individual leaf area was an unexpected and interesting trait correlated with the contrasted pattern in N uptake: plants favoring post-flowering N uptake were also those with the lowest individual leaf area, the highest tiller efficiency and the stay-green pattern, so were those growing tillers with smaller leaves. Compared to large leaves, small leaves shall host less nitrogen so they shall be characterized with a lower potential to remobilize nitrogen and a lower cost in nitrogen when being maintained green. In this way, the small-leaf pattern may up-regulate post-flowering N uptake. The small-leaf pattern in rice, associated with large panicle, has also been reported as the one being photosynthesis responsive to elevated CO<sub>2</sub> (Fabre et al. 2020). The 2 to 3 youngest leaves of the tiller (those the closest to the panicle) are those that are the major C provider to panicle (Sun et al. 2012; Gaju et al. 2014; Fabre et al, 2020). It is interesting to note that the same plant type during grain filling cumulates the highest potential to gain C under elevated CO<sub>2</sub> and the highest potential to uptake N. This actual small-leaf pattern can in fact pave the way for future genetic enhancement, taking into account the request to improve the capacity of the rice plants to uptake nutrients to meet the future higher potential and crop demand under elevated CO<sub>2</sub> (Dingkuhn et al. 2020). In addition, higher tillering efficiency across genotypes was anti-correlated with biomass remobilization during grain filling. In addition, higher tillering efficiency was associated with lower biomass accumulation before flowering while pre-flowering nitrogen uptake was not different across genotypes: so, higher nitrogen concentration could explain higher tillering efficiency through higher tiller vigor. It is noteworthy that high tillering efficiency in rice has been associated in several reports with higher efficiency in assimilate partitioning and higher crop performance (Bueno et al, 2010; Fujita et al. 2013; Adriani et al. 2016 (2) ). This small-leaf pattern of early genotypes, associated with lower pre-flowering nitrogen uptake and biomass remobilization, corresponded to plants that have secured the vigor of their tillers and so the ability of their tillers to produce a panicle: their lower pre-flowering biomass accumulation associated with their nitrogen uptake similar than that of late genotypes supported their lower biomass NUtE which may be associated with higher N storage pattern and higher tiller efficiency. The individual leaf area could be a good proxy to characterize plants in their ability to uptake post-flowering N and to maintain leaves green longer during grain filling.

Early sink regulation was observed in the actual study where the Year effect was mainly expressed through panicle number first (+50% from 2018 to 2019), then panicle size (+20%). The Year effect was minimal with fertility rate (+5%), and was not significant with grain size. Considering 2019 was a more favorable year than 2018, this indicates the adjustment of yield components to growing conditions was maximal with the earliest component to be fixed along crop development and minimal with the latest. This pattern has been already widely published, on rice (Luquet et al. 2006), sorghum (H. K. Kim et al. 2010) and wheat (Bos et Neuteboom 1998). In the present study, the early sink regulation was highlighted as the overall sink size in the favorable year 2019, higher than that in 2018, was associated with higher N remobilization and less post-flowering nitrogen uptake. In 2018, despite lower sink size, post-flowering N uptake was, slightly but significantly, up-regulated under potential stressing conditions. Higher sink size in 2019 seemed to have been driven by a stronger ability of the genotypes to remobilize N from the biomass accumulated during early stage. In other words, genotypes might be able to adapt the production of new sink depending of their early efficiency. In sorghum, even the early growing conditions at time of single tiller emergence were related to the potential grain production of this single tiller (Lafarge et al, 2002). Moreover, when focusing on rice genotypes contrasted in resources utilization efficiencies, genotypes more efficient at early stages are also those more efficient to grow productive tillers and biomass at later stage. This is the case when comparing rice hybrids with rice inbreds (Lafarge et Bueno 2009; Bueno et al. 2010), or comparing high-yielding genotypes with their near isogenic lines carrying a QTL known to contribute to larger panicle size (Adriani et al. 2016 (1)). In both cases, the positive effect on panicle size and grain production was in fact related to an earlier better regulation in tillering.

The post-flowering N uptake pattern was also carrying three main outputs at the field scale. First, it was associated with short-cycle genotypes, so with genotypes that have the lowest field occupancy and so water consumption. Second, it was associated with higher harvest index and grain production. The leaf stay-green trait, generating higher biomass accumulation during grain filling, appeared as a driver of higher yield during this phase. In fact, leaf stay-green increases plant photosynthesis and carbon capture, and might be the driving force of post-flowering nitrogen uptake (HaiYan et al. 2010), as plant carbon content has been largely reported as the driver of nitrogen uptake. Third, it was correlated to higher nitrogen content in the straw at maturity, and this opens avenues for more integrated and sustainable crop management and soil fertility.

Straw N content at maturity might be the direct consequence of the lower nitrogen remobilization and the leaf stay-green trait. This could be a specific characteristics of temperate *japonica* genotypes known as not being efficient in using uptaken nitrogen (Makino 2011) in contrast to rice hybrids used by Wu et al (2018) and reported for their high ability to remobilize stored nitrogen to the grain (Hach et Nam 2006; Yongjian Sun et al. 2012). In the same way, *japonica* genotypes were characterized with a lower plasticity than *indica* genotypes in increasing their sinks in response to the higher demand (Dingkuhn et al, 2020). This ability to remobilize nitrogen, lower with temperate rice genotypes, was even contrasted within the temperate genotypes under study here. Straw management is a key issue of rice cultivation (Bossio et al. 1999; Hill et al. 2006; Athira et al. 2019) and its incorporation within the soil shall benefit N fertilization bringing organic N while reducing inputs of chemical N. However, the succeeding crop management, i.e. flooding or crop type, may limit the positive effect of the preceding straw incorporation (X. J. Liu et al. 2003; M. Fan et al. 2005) suggesting this effect should be evaluated with respect to a diversity of the rice genotypes.

## **Conclusion**

This study let us to highlight the diversity in nitrogen use for *japonica temperate* cultivars, poorly known until now. Thus, we described the link between the phenology and the post flowering nitrogen uptake, earliest cultivars uptake more nitrogen after flowering than the latest. Moreover we shown the individual leaf area of flag leave could be a proxy to determinate the post flowering nitrogen uptake. Computing this observation with the contrast in the dynamics of dry weight production in two strongly contrasted years, we established a hypothesis about the ability of each genotype to develop its final sink size at early by tillering modulation according to environment condition. Thus, knowledge in nitrogen use for groups of genotype let us to estimate their needs and the best time for fertilizing, allowing then a better control of the inputs keeping high but more responsible.

References

- Adriani, Dewi E., Tanguy Lafarge, Audrey Dardou, Aubrey Fabro, Anne Clément-Vidal, Sudirman Yahya, Michael Dingkuhn, et Delphine Luquet. 2016. « The QTSN Positive Effect on Panicle and Flag Leaf Size of Rice Is Associated with an Early Down-Regulation of Tillering ». *Frontiers in Plant Science* 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01197>.
- Adriani, Dewi Erika, Michael Dingkuhn, Audrey Dardou, H el ene Adam, Delphine Luquet, et Tanguy Lafarge. 2016. « Rice Panicle Plasticity in Near Isogenic Lines Carrying a QTL for Larger Panicle Is Genotype and Environment Dependent ». *Rice* 9. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0101-x>.
- Athira, G., A. Bahurudeen, et Srinivas Appari. 2019. « Sustainable Alternatives to Carbon Intensive Paddy Field Burning in India: A Framework for Cleaner Production in Agriculture, Energy, and Construction Industries ». *Journal of Cleaner Production* 236: 117598. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.073>.
- Barraclough, Peter B., Rafael Lopez-Bellido, et Malcolm J. Hawkesford. 2014. « Genotypic Variation in the Uptake, Partitioning and Remobilisation of Nitrogen during Grain-Filling in Wheat ». *Field Crops Research* 156 : 242-48. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.10.004>.
- Bogard, Matthieu, Matthieu Jourdan, Vincent Allard, Pierre Martre, Marie Reine Perretant, Catherine Ravel, Emmanuel Heumez, et al. 2011. « Anthesis Date Mainly Explained Correlations between Post-Anthesis Leaf Senescence, Grain Yield, and Grain Protein Concentration in a Winter Wheat Population Segregating for Flowering Time QTLs ». *Journal of Experimental Botany* 62 (10): 3621-36. <https://doi.org/10.1093/jxb/err061>.
- Borrell, Andrew, Graeme Hammer, et Erik Van Oosterom. 2001. « Stay-Green: A Consequence of the Balance between Supply and Demand for Nitrogen during Grain Filling? ». *Annals of Applied Biology* 138 (1): 91-95. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2001.tb00088.x>.
- Borrell, Andrew K., et Graeme L. Hammer. 2000. « Nitrogen Dynamics and the Physiological Basis of Stay-Green in Sorghum ». *Crop Science* 40 (5): 1295-1307. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4051295x>.
- Bos, Huibert J., et Jan H. Neuteboom. 1998. « Morphological Analysis of Leaf and Tiller Number Dynamics of Wheat (*Triticum Aestivum*L.): Responses to Temperature and Light Intensity ». *Annals of Botany* 81 (1): 131-39. <https://doi.org/10.1006/anbo.1997.0531>.
- Bossio, Deborah A, William R Horwath, Randall G Mutters, et Chris van Kessel. 1999. « Methane Pool and Flux Dynamics in a Rice Field Following Straw Incorporation ». *Soil Biology and Biochemistry* 31 (9): 1313-22. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00050-4](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00050-4).
- Bueno, C.S., E. Pasuquin, B. Tuba a, et T. Lafarge. 2010. « Improving Sink Regulation, and Searching for Promising Traits Associated with Hybrids, as a Key Avenue to Increase Yield Potential of the Rice Crop in the Tropics ». *Field Crops Research* 118 (3): 199-207. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.04.004>.
- Cock, James, et S. Yoshida. 1972. « Accumulation of 14C-labelled carbohydrate before flowering and its subsequent redistribution and respiration in rice plant ». *Proc. Crop. Sci.Soc* 41: 226-34.
- Dawson, J. C., K. M. Murphy, D. R. Huggins, et S. S. Jones. 2011. « Evaluation of Winter Wheat Breeding Lines for Traits Related to Nitrogen Use under Organic Management ». *Organic Agriculture* 1 (2): 65-80. <https://doi.org/10.1007/s13165-011-0006-3>.
- Dingkuhn, Michael, Delphine Luquet, Denis Fabre, Bertrand Muller, Xinyou Yin, et Matthew J Paul. 2020. « The Case for Improving Crop Carbon Sink Strength or Plasticity for a CO2-Rich Future ». *Current Opinion in Plant Biology* 56: 259-72. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.05.012>.
- Dreccer, M. Fernanda. 2006. « Nitrogen Use at the Leaf and Canopy Level: A Framework to Improve Crop N Use Efficiency ». *Journal of Crop Improvement* 15 (2): 97-125. [https://doi.org/10.1300/J411v15n02\\_04](https://doi.org/10.1300/J411v15n02_04).

- Erley, Gunda Schulte auf'm, Ketut-Anom Wijaya, Abdullah Ulas, Heiko Becker, Franz Wiesler, et Walter J. Horst. 2007. « Leaf Senescence and N Uptake Parameters as Selection Traits for Nitrogen Efficiency of Oilseed Rape Cultivars ». *Physiologia Plantarum* 130 (4): 519-31. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00921.x>.
- Fabre, Denis, Michael Dingkuhn, Xinyou Yin, Anne Clément-Vidal, Sandrine Roques, Armelle Soutiras, et Delphine Luquet. 2020. « Genotypic Variation in Source and Sink Traits Affects the Response of Photosynthesis and Growth to Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> ». *Plant, Cell & Environment* 43 (3): 579-93. <https://doi.org/10.1111/pce.13693>.
- Fan, Mingsheng, Rongfeng Jiang, Xuejun Liu, Fusuo Zhang, Shihua Lu, Xiangzhong Zeng, et Peter Christie. 2005. « Interactions between Non-Flooded Mulching Cultivation and Varying Nitrogen Inputs in Rice–Wheat Rotations ». *Field Crops Research* 91 (2): 307-18. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.08.006>.
- FAO.. « FAOSTAT ». Food and Agriculture Organization of the United Nations. Viewed March 28, 2018. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Fuertes-Mendizábal, Teresa, Carmen González-Murua, Ma B. González-Moro, et José M. Estavillo. 2012. « Late Nitrogen Fertilization Affects Nitrogen Remobilization in Wheat ». *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175 (1): 115-24. <https://doi.org/10.1002/jpln.201000299>.
- Fujita, Daisuke, Kurniawan Rudi Trijatmiko, Analiza Grubanzo Tagle, Maria Veronica Sapasap, Yohei Koide, Kazuhiro Sasaki, Nikolaos Tsakirpaloglou, et al. 2013. « NAL1 Allele from a Rice Landrace Greatly Increases Yield in Modern Indica Cultivars ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (51): 20431-36. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310790110>.
- Gaju, O., V. Allard, P. Martre, J. W. Snape, E. Heumez, J. LeGouis, D. Moreau, et al. 2011. « Identification of Traits to Improve the Nitrogen-Use Efficiency of Wheat Genotypes ». *Field Crops Research* 123 (2): 139-52. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.010>.
- Gaju, Oorbessy, Vincent Allard, Pierre Martre, Jacques Le Gouis, Delphine Moreau, Matthieu Bogard, Stella Hubbart, et M. John Foulkes. 2014. « Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and grain nitrogen concentration in wheat cultivars ». *Field Crops Research* 155: 213-23. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.09.003>.
- Ghosh, B. C., et Ravi Bhat. 1998. « Environmental hazards of nitrogen loading in wetland rice fields ». *Environmental Pollution, Nitrogen, the Confer-N-s First International Nitrogen Conference 1998*, 102 (1, Supplement 1): 123-26. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)80024-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)80024-9).
- Guindo, D., B. R. Wells, C. E. Wilson, et R. J. Norman. 1992. « Seasonal Accumulation and Partitioning of Nitrogen-15 in Rice ». *Soil Science Society of America Journal* 56 (5): 1521-27. <https://doi.org/10.2136/sssaj1992.03615995005600050031x>.
- Hach, Chu Van, et Nguyen Thi Hong Nam. 2006. « Responses Of Some Promising High-Yielding Rice Varieties To Nitrogen Fertilizer », 14.
- HaiYan, Wei, Zhang HongCheng, Ma Qun, Dai QiGen, Huo ZhongYang, Xu Ke, Zhang Qing, et Huang LiFen. 2010. « Characteristics of leaf senescence in rice genotypes with different nitrogen use efficiencies. » *Acta Agronomica Sinica* 36 (4): 645-54.
- Han, Mei, Mamoru Okamoto, Perrin H. Beatty, Steven J. Rothstein, et Allen G. Good. 2015. « The Genetics of Nitrogen Use Efficiency in Crop Plants ». *Annual Review of Genetics* 49 (1): 269-89. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112414-055037>.
- Hawkesford, Malcolm J. 2017. « Genetic Variation in Traits for Nitrogen Use Efficiency in Wheat ». *Journal of Experimental Botany* 68 (10): 2627-32. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx079>.
- Hill, J. E., J. F. Williams, R. G. Mutters, et C. A. Greer. 2006. « The California Rice Cropping System: Agronomic and Natural Resource Issues for Long-Term Sustainability ». *Paddy and Water Environment* 4 (1): 13-19. <https://doi.org/10.1007/s10333-005-0026-2>.
- HongTing, Ji, Feng YueHua, He TengBing, Pan Jian, Fan LeLe, Li Yun, Wu Biao, Xiao Ming, et Liang XianLin. 2012. « A dynamic model of dry matter and nutrient accumulation in super hybrid rice and analysis of its characteristics. » *Scientia Agricultura Sinica* 45 (18): 3709-20.
- Hörtensteiner, Stefan. 2009. « Stay-Green Regulates Chlorophyll and Chlorophyll-Binding Protein Degradation during Senescence ». *Trends in Plant Science* 14 (3): 155-62. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.01.002>.

- Hu, B., Wang Wei, Shujun Ou, Jiuyou Tang, li Hua, Ronghui Che, Zhihua Zhang, et al. 2015. « Variation in NRT1.1B contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies ». *Nature Genetics* 47 : 834-38. <https://doi.org/10.1038/ng.3337>.
- Imai, Kazuhiro, Yuji Suzuki, Tadahiko Mae, et Amane Makino. 2008. « Changes in the Synthesis of Rubisco in Rice Leaves in Relation to Senescence and N Influx ». *Annals of Botany* 101 (1): 135-44. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm270>.
- Khush, Gurdev S. 2005. « What It Will Take to Feed 5.0 Billion Rice Consumers in 2030 ». *Plant Molecular Biology* 59 (1): 1-6. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2159-5>.
- Kichey, Thomas, Bertrand Hirel, Emmanuel Heumez, Frédéric Dubois, et Jacques Le Gouis. 2007. « In winter wheat (*Triticum aestivum* L.), post-anthesis nitrogen uptake and remobilisation to the grain correlates with agronomic traits and nitrogen physiological markers ». *Field Crops Research* 102 (1): 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.01.002>.
- Kim, Hae Koo, Erik van Oosterom, Michael Dingkuhn, Delphine Luquet, et Graeme Hammer. 2010. « Regulation of Tillering in Sorghum: Environmental Effects ». *Annals of Botany* 106 (1): 57-67. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq079>.
- Ladha, J. K., G. J. D. Kirk, J. Bennett, S. Peng, C. K. Reddy, P. M. Reddy, et U. Singh. 1998. « Opportunities for Increased Nitrogen-Use Efficiency from Improved Lowland Rice Germplasm ». *Field Crops Research, Nutrient Use Efficiency in Rice Cropping Systems*, 56 (1): 41-71. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00123-8).
- Lafarge, T. A., I. J. Broad, et G. L. Hammer. 2002. « Tillering in Grain Sorghum over a Wide Range of Population Densities: Identification of a Common Hierarchy for Tiller Emergence, Leaf Area Development and Fertility ». *Annals of Botany* 90 (1): 87-98. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf152>.
- Lafarge, Tanguy, et Crisanta S Bueno. 2009. « Higher Crop Performance of Rice Hybrids than of Elite Inbreds in the Tropics: 2. Does Sink Regulation, Rather than Sink Size, Play a Major Role? » *Field Crops Research*, 7.
- Le Gouis, Jacques, Denis Béghin, Emmanuel Heumez, et Pierre Pluchard. 2000. « Genetic Differences for Nitrogen Uptake and Nitrogen Utilisation Efficiencies in Winter Wheat ». *European Journal of Agronomy* 12 (3): 163-73. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(00\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(00)00045-9).
- Li, Min, Hongcheng Zhang, Xiong Yang, Mengjie Ge, Qun Ma, Haiyan Wei, Qigen Dai, Zhongyang Huo, Ke Xu, et Deqiang Luo. 2014. « Accumulation and Utilization of Nitrogen, Phosphorus and Potassium of Irrigated Rice Cultivars with High Productivities and High N Use Efficiencies ». *Field Crops Research* 161 : 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.02.007>.
- Liu, X. J., J. C Wang, S. H Lu, F. S Zhang, X. Z Zeng, Y. W Ai, S. B Peng, et P Christie. 2003. « Effects of Non-Flooded Mulching Cultivation on Crop Yield, Nutrient Uptake and Nutrient Balance in Rice–Wheat Cropping Systems ». *Field Crops Research* 83 (3): 297-311. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00079-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00079-0).
- Luquet, Delphine, Michael Dingkuhn, HaeKoo Kim, Ludovic Tambour, et Anne Clement-Vidal. 2006. « EcoMeristem, a Model of Morphogenesis and Competition among Sinks in Rice. 1. Concept, Validation and Sensitivity Analysis ». *Functional Plant Biology* 33 (4): 309-23. <https://doi.org/10.1071/FP05266>.
- Makino, Amane. 2011. « Photosynthesis, Grain Yield, and Nitrogen Utilization in Rice and Wheat ». *Plant Physiology* 155 (1): 125-29. <https://doi.org/10.1104/pp.110.165076>.
- Masclaux-Daubresse, Céline, Françoise Daniel-Vedele, Julie Dechorgnat, Fabien Chardon, Laure Gaufichon, et Akira Suzuki. 2010. « Nitrogen Uptake, Assimilation and Remobilization in Plants: Challenges for Sustainable and Productive Agriculture ». *Annals of Botany* 105 (7): 1141-57. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq028>.
- Miranda, Mariane Silva de, Marina Leite Fonseca, Alexandre Lima, Tatiane Faustino de Moraes, et Flávio Aparecido Rodrigues. 2015. « Environmental Impacts of Rice Cultivation ». *American Journal of Plant Sciences* 06 (12): 2009-18. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.612201>.
- Qiao, Jun, Linzhang Yang, Tingmei Yan, Feng Xue, et Dong Zhao. 2012. « Nitrogen Fertilizer Reduction in Rice Production for Two Consecutive Years in the Taihu Lake Area ». *Agriculture, Ecosystems & Environment* 146 (1): 103-12. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.10.014>.

- Raun, William R., John B. Solie, Gordon V. Johnson, Marvin L. Stone, Robert W. Mullen, Kyle W. Freeman, Wade E. Thomason, et Erna V. Lukina. 2002. « Improving Nitrogen Use Efficiency in Cereal Grain Production with Optical Sensing and Variable Rate Application ». *Agronomy Journal* 94 (4): 815. <https://doi.org/10.2134/agronj2002.0815>.
- Sun, Yongjian, Jun Ma, Yuanyuan Sun, Hui Xu, Zhiyuan Yang, Shujin Liu, Xianwen Jia, et Hongzhen Zheng. 2012. « The Effects of Different Water and Nitrogen Managements on Yield and Nitrogen Use Efficiency in Hybrid Rice of China ». *Field Crops Research* 127 : 85-98. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.11.015>.
- Taulemesse, François, Jacques Le Gouis, David Gouache, Yves Gibon, et Vincent Allard. 2015. « Post-Flowering Nitrate Uptake in Wheat Is Controlled by N Status at Flowering, with a Putative Major Role of Root Nitrate Transporter NRT2.1 ». Édité par Haibing Yang. *PLOS ONE* 10 (3): e0120291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120291>.
- Uauy, Cristobal, Assaf Distelfeld, Tzion Fahima, Ann Blechl, et Jorge Dubcovsky. 2006. « A NAC Gene Regulating Senescence Improves Grain Protein, Zinc, and Iron Content in Wheat ». *Science* 314 (5803): 1298-1301. <https://doi.org/10.1126/science.1133649>.
- Wei, Dong, Kehui Cui, Junfeng Pan, Guoyou Ye, Jing Xiang, Lixiao Nie, et Jianliang Huang. 2011. « Genetic Dissection of Grain Nitrogen Use Efficiency and Grain Yield and Their Relationship in Rice ». *Field Crops Research* 124 (3): 340-46. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.07.003>.
- Wu, Hui, Jing Xiang, Yuping Zhang, Yikai Zhang, Shaobing Peng, Huizhe Chen, et Defeng Zhu. 2018. « Effects of Post-Anthesis Nitrogen Uptake and Translocation on Photosynthetic Production and Rice Yield ». *Scientific Reports* 8 (1): 12891. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31267-y>.
- Wu, Li-Li, Zhong-Li Liu, Jun-Min Wang, Cong-Yi Zhou, et Kun-Ming Chen. 2011. « Morphological, Anatomical, and Physiological Characteristics Involved in Development of the Large Culm Trait in Rice ». *Australian Journal of Crop Science* 5 (11): 1356.
- Xu, Guohua, Xiaorong Fan, et Anthony J. Miller. 2012. « Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency ». *Annual Review of Plant Biology* 63 (1): 153-82. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>.
- Yoneyama, Tadakatsu, Fumio Tanno, Jiro Tatsumi, et Tadahiko Mae. 2016. « Whole-Plant Dynamic System of Nitrogen Use for Vegetative Growth and Grain Filling in Rice Plants (*Oryza Sativa* L.) as Revealed through the Production of 350 Grains from a Germinated Seed Over 150 Days: A Review and Synthesis ». *Frontiers in Plant Science* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01151>.
- Zhang, Zhihua, Shaopei Gao, et Chengcai Chu. 2020. « Improvement of Nutrient Use Efficiency in Rice: Current Toolbox and Future Perspectives ». *Theoretical and Applied Genetics* 133 (5): 1365-84. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03527-6>.
- Zhao, Limei, Lianghuan Wu, Cunjun Dong, et Yongshan Li. 2010. « Rice Yield, Nitrogen Utilization and Ammonia Volatilization as Influenced by Modified Rice Cultivation at Varying Nitrogen Rates ». *Agricultural Sciences* 01 (01): 10-16. <https://doi.org/10.4236/as.2010.11002>.

# Chapitre II : Modification de l'utilisation de l'azote et de la physiologie avec une fertilisation à 100U

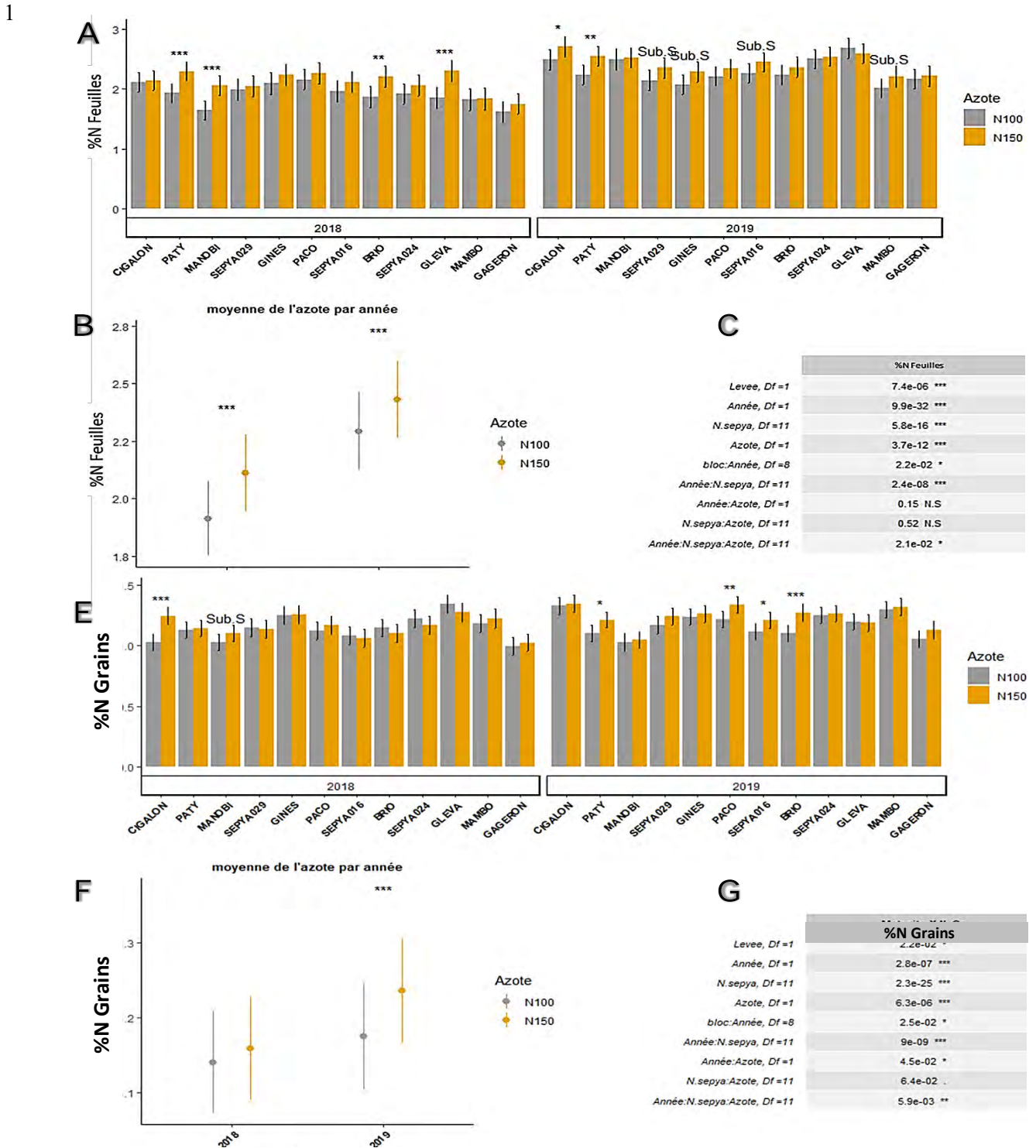
Ce chapitre détaille les résultats complémentaires à ceux décrits dans le précédent. Ainsi dans le chapitre précédent, nous nous sommes concentrés sur les mesures faites sur des plantes fertilisées trois fois à 50U, que nous appellerons la modalité N150. Nous nous attarderons dans le chapitre actuel sur la différence de réponse des plantes entre la modalité N150 et la modalité N100. Le traitement N100 est le même que le N150 mais sans le dernier apport de 50U d'azote avant floraison. Le protocole et le plan d'expérience sont les mêmes que ceux décrits dans le Matériel et Méthode **p83**, mais avec l'ajout de cette modalité supplémentaire. Nous avons également ajouté la mesure de SPAD, pertinente dans ce contexte car elle permet d'avoir une idée de l'évolution de l'activité photosynthétique selon le traitement dans une même année. Le SPAD de la feuille drapeau et celui de la deuxième feuille la plus jeune après la feuille drapeau résultent de la moyenne de dix points pris sur les feuilles correspondantes de dix talles différentes. Les échantillonnages des deux traitements ont été faits en même temps. Le facteur « traitement » a été ajouté au modèle statistique initial afin de tenir compte de l'impact de la fertilisation et de ses interactions, et se présente alors comme suit :

$$Y_n = \mu + \lambda_n + \alpha_i + \beta_j + \gamma_m + l_k(\alpha_i) + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{im} + (\beta\gamma)_{jm} + (\alpha\beta\gamma)_{ijm} + \varepsilon_n$$

Avec  $Y$  la mesure observée,  $\mu$  la moyenne théorique,  $\lambda_n$  le niveau de la levée;  $\alpha_i$  l'effet année (A),  $l_k$  l'effet bloc niché dans l'effet année  $\alpha_i$ ;  $\beta_j$  l'effet génotype (G);  $\gamma_m$  l'effet azote (N);  $(\alpha\beta)_{ij}$  l'interaction des facteurs AxG,  $(\alpha\gamma)_{im}$  l'interaction AxN;  $(\beta\gamma)_{jm}$  l'interaction GxN,  $(\alpha\beta\gamma)_{ijm}$  l'interaction AxGxN et  $\varepsilon_n$  l'effet résiduel.

Par soucis de synthèse, nous nous focaliserons sur l'impact de ce différentiel d'azote sur les caractères mis en évidence dans le chapitre précédent. Ainsi dans un premier temps, nous nous focaliserons sur les résultats significatifs induits par le différentiel de fertilisation entre les deux traitements. Puis nous verrons en quoi la différence de traitement a impacté le rendement et ses composantes, les valeurs de la NUtE et la diversité de réponse du prélèvement d'azote comme rapporté dans le chapitre précédent. Enfin nous observerons de quelle manière l'ACP des caractères morphologiques et physiologiques évolue dans une disponibilité de l'azote du sol moindre en portant une attention particulière sur les caractères mis en lumière dans le chapitre précédent.





**Figure 30: Variabilité de la concentration d'azote dans les tissus selon l'année et le traitement**

Les données représentées sont les moyennes ajustées calculées à partir du modèle présenté.

A Teneur en azote dans les feuilles à floraison, et E Teneur en azote dans les grains à maturité, par géotypes en fonction de l'année. Test deux à deux faits sur les moyennes ajustées du modèle avec un ajustement de Tukey.

B Evolution de la teneur en azote dans l'ensemble des feuilles à floraison, et F Evolution de la teneur en azote dans l'ensemble des grains à maturité, par année. Test deux à deux faits sur les moyennes ajustées du modèle avec un ajustement de Tukey.

C Tableau récapitulatif de l'anova calculé à partir du modèle présenté de dans le matériel et méthode et appliquée à la concentration en azote des feuilles à floraison (%N feuilles) et G tableau récapitulatif de l'anova appliquée à la concentration en azote dans les grains (%N Grains)

## Résultats et Discussion

### **Un apport supplémentaire d'azote augmente les teneurs en azote dans les tissus, la teneur en chlorophylle et la surface foliaire individuelle de la feuille drapeau.**

Nous pouvons confirmer que le traitement différentiel d'azote a eu un effet significatif global sur la teneur en azote des feuilles. Ainsi on voit sur la **Figure 30 B** que l'ajout de 50U supplémentaires a augmenté les taux moyen d'azote dans l'ensemble des feuilles de 1,9% à 2,1% pour 2018, et de 2,3% à 2,4% en 2019. On observe également des variations d'un génotype à l'autre, elles aussi modulées par l'année avec une interaction Année:Génotype:Azote significative (**Figure 30 C**). Ainsi en 2018, le taux d'azote dans les feuilles a augmenté de manière significative avec la fertilisation pour quatre génotypes *Paty*, *Manobi*, *Brio*, et *Gleva*. De plus, une tendance à la hausse était visible pour tous les autres génotypes sauf *Cigalon*, *Sepya029* et *Mambo*. En 2019, ces tendances ont été conservées, avec cependant des contrastes moins marqués, à l'exception de *Cigalon* et *Paty*. Etrangement, les teneurs en azote de *Cigalon* à N150 étaient significativement plus élevées en 2019 qu'en 2018 (**Figure 30 A**). Le différentiel de fertilisation a eu également un effet sur la teneur en azote des grains, avec un effet significatif global, et variable selon l'année (**Figure 30 F**). Encore une fois, un effet Année:Génotype:Azote (**Figure 30 G**) indique que les génotypes n'ont pas réagi de manière uniforme à l'azote d'une année à l'autre. C'est le cas de *Cigalon* dont la teneur en azote dans les grains a augmenté de 1 à 1,3% en 2018 mais est restée stable à 1,25% en 2019, à l'opposé de la teneur en azote dans les feuilles de ce même génotype. A l'inverse, la teneur en azote dans les grains de *Paty*, *Paco Sepya016*, et *Brio* a augmenté significativement avec les 50U supplémentaires seulement en 2019 (**Figure 30 E**).

Le cycle court de *Cigalon* explique son comportement opposé : en 2018, l'ajout d'unités d'azote supplémentaires n'a pas affecté la teneur en azote dans les feuilles de *Cigalon*. En 2019, la disponibilité plus favorable de l'azote dans le sol qu'en 2018 a nivelé le différentiel entre les deux traitements et a révélé une différence significative mais moins marquée de la teneur en azote des feuilles. De manière globale, l'environnement contraint en 2018 explique, dès la floraison, le nombre plus élevé de différences significatives de teneur en azote des feuilles entre N150 et N100. Ces différences n'ont pas été maintenues dans les grains à maturité, peut-être en raison de taux de remobilisation peu élevé notamment en ce qui concerne les génotypes les plus précoces. En 2019, les conditions ont été moins contraignantes jusqu'à floraison. Les différences entre traitements azotés étaient donc moins marquées, ce qui peut expliquer que les différences de teneurs en azote entre N150 et N100 n'aient été significatives que pour *Cigalon* et *Paty*. Le différentiel entre traitements a pu être plus marqué plus tard dans le cycle, à maturité, ce qui a pu entraîner des différences de teneurs en azote dans les grains significatives pour quatre génotypes.

1 **Tableau 7 : Moyennes des caractères mesurés en N100 et leur différentiel avec la modalité N150 par année**

2 Avec : Pre\_Flo\_DW\_Acc/Prost\_Flo\_DW\_Acc : accumulation de biomasse pré florale et post florale , DW\_translocation : la remobilisation de biomasse et Stay-Green Lf : Nombre de feuilles vertes restantes.

Avec le SPAD et la surface individuelle (L'Aind) mesurés sur la feuille drapeau. Le différentiel entre les deux modalités est obtenu par la différence entre la modalité N150 et la modalité N100.

Statistique obtenue d'après une ANOVA faite sur le modèle décrit dans le matériel et méthode. Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 · ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*

	SPAD			L'Aind			Pre_Flo_DW_Acc			DW_Translocation			Post_Flo_DW_Acc			Stay-GreenLf			
	N100	SE	≠ N150	N100	SE	≠ N150	N100	SE	≠ N150	N100	SE	≠ N150	N100	SE	≠ N150	N100	SE	≠ N150	
2018	CIGALON	40,2	1,2	2,8	3,2	1,2	0,2	415	93	-17,5	132	111	-100,7	204	178	284,8	679	117	611,7
	PATY	32,9	1,2	2,1	7,0	1,2	0,5	424	92	2,7	102	110	-57,0	274	176	259,5	977	116	-75,7
	MANOBI	37,8	1,2	3,8	9,0	1,2	1,8	494	93	-41,3	104	111	-178,2	336	178	404,8	759	117	56,2
	SEPYA_029	33,3	1,3	1,5	11,1	1,3	3,0	592	99	-12,3	-31	119	64,7	621	191	-131,1	523	125	-115,2
	GINES	31,8	1,3	-0,4	10,4	1,3	2,5	682	102	-98,2	190	122	-234,1	360	197	381,9	402	129	181,7
	PACO	37,7	1,3	1,9	12,4	1,3	3,5	519	99	-15,1	60	119	-102,9	414	191	111,6	352	125	186,1
	SEPYA_016	30,6	1,3	3,9	7,3	1,3	3,3	543	99	156,1	169	119	140,0	239	191	63,8	851	125	-133,8
	BRIO	30,6	1,3	5,3	8,9	1,3	3,7	569	99	64,0	186	119	-48,3	228	191	311,7	736	125	-52,7
	SEPYA_024	38,0	1,3	0,1	8,3	1,3	3,0	579	100	76,3	129	119	65,2	380	192	-18,8	694	125	-61,2
	GLEVA	33,3	1,3	9,2	6,9	1,3	4,7	447	101	165,5	112	120	111,0	81	194	74,8	449	127	-56,0
	MAMBO	22,8	1,3	0,1	12,3	1,3	5,7	593	104	55,2	210	124	-67,9	161	200	150,7	508	131	47,7
GAGERON	34,1	1,3	-3,0	13,3	1,3	1,0	751	100	-46,7	271	119	-123,7	319	192	198,5	138	125	127,3	
Moyenne	33,6		2,3	9,2		2,7	551		24,0	136		-44,3	301		174,3	589		59,7	
2019	CIGALON	41,4	1,2	2,7	4,6	1,2	0,7	1062	96	-36,1	183	115	-93,1	824	186	132,4	971	121	-47,0
	PATY	39,0	1,2	1,5	4,8	1,2	2,5	1164	92	-130,6	271	110	-68,5	918	177	10,2	1232	116	69,2
	MANOBI	41,9	1,3	1,1	11,9	1,3	2,2	1049	101	159,2	239	121	-6,3	1103	195	53,4	733	127	229,5
	SEPYA_029	37,5	1,3	2,4	15,6	1,3	5,0	1197	99	286,6	399	118	177,1	612	190	-25,6	352	124	175,7
	GINES	39,7	1,2	1,1	18,8	1,2	-1,9	1418	94	-318,8	435	112	-246,8	676	181	138,9	322	118	-153,0
	PACO	43,2	1,2	0,2	14,3	1,2	2,6	1325	91	74,4	617	108	51,5	372	174	-116,6	341	114	-105,2
	SEPYA_016	38,3	1,2	0,4	11,4	1,2	3,2	1289	92	97,2	311	110	116,6	998	177	-180,2	1057	116	-25,5
	BRIO	39,3	1,2	0,0	16,1	1,2	0,4	1233	94	143,4	239	113	164,7	1055	181	-301,9	141	118	-24,5
	SEPYA_024	40,9	1,2	0,0	13,7	1,2	0,9	1333	91	-10,7	341	109	9,5	806	176	-132,7	1130	115	-246,0
	GLEVA	41,8	1,2	1,9	15,6	1,2	2,8	1207	94	115,8	258	113	347,1	1009	182	-521,9	841	119	-308,5
	MAMBO	29,0	1,2	1,1	17,6	1,2	4,5	1581	91	-279,9	405	108	59,4	627	175	-349,9	1189	114	-407,3
GAGERON	32,5	1,2	0,7	12,9	1,2	1,5	1477	92	-113,2	711	109	-227,2	277	176	312,0	745	115	58,3	
Moyenne	38,7		1,1	13,1		2,0	1278		-1,1	367		23,7	773		-81,8	755		-65,4	

Levee, Df=1	1.2e-03 ***	5.4e-02 ·	2.3e-19 ***	0.56 N.S	1.6e-05 ***	2.5e-02 *
Année, Df=1	2.9e-24 ***	4.3e-18 ***	8.7e-61 ***	6.2e-07 ***	1.2e-15 ***	1.5e-05 ***
Genotype, Df=11	1.5e-51 ***	5.9e-45 ***	9.1e-09 ***	7.1e-03 **	1e-03 **	1.7e-26 ***
Azote, Df=1	1.4e-06 ***	4.2e-11 ***	0.76 N.S	0.34 N.S	7e-01 N.S	0.76 N.S
bloc:Année, Df=8	2.4e-02 *	0.21 N.S	9.7e-03 **	0.18 N.S	0.18 N.S	0.11 N.S
Année:Genotype, Df=11	1e-05 ***	9.4e-08 ***	0.81 N.S	7.8e-03 **	1.1e-02 *	4.2e-12 ***
Année:Azote, Df=1	6.3e-02 ·	0.39 N.S	7e-01 N.S	7e-03 **	0.22 N.S	5.5e-02 ·
Genotype:Azote, Df=11	4e-02 *	7e-02 ·	7.4e-02 ·	0.46 N.S	7.9e-02 ·	0.13 N.S
Année:Genotype:Azote, Df=11	5.2e-02 ·	7e-01 N.S	0.49 N.S	0.92 N.S	0.99 N.S	8.7e-02 ·

**Tableau 8 : Résultats des Anovas effectuées sur la production de grains, et les trois composantes du rendement**

Nb Panicles : Nombre de panicules ; GrNumber/Pan : Nombre de grains par panicule ; FiRate : Taux de remplissage, GP : Grain production. Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*

	Nb Panicles	GrNumber/Pan	FiRate	GP
Levee, Df = 1	8.6e-05 ***	2.6e-02 *	1.5e-14 ***	2.7e-09 ***
Année, Df = 1	5.3e-24 ***	8.1e-15 ***	2.3e-07 ***	3.1e-46 ***
N.sepya, Df = 11	6.7e-15 ***	1.1e-22 ***	3.1e-13 ***	7.2e-04 ***
Azote, Df = 1	0.51 N.S	4e-03 **	4.4e-05 ***	0.18 N.S
bloc:Année, Df = 8	4.1e-03 **	7.6e-08 ***	1.9e-02 *	3.8e-02 *
Année:N.sepya, Df = 11	5.8e-05 ***	1.4e-10 ***	1.9e-10 ***	1.5e-03 **
Année:Azote, Df = 1	3.6e-02 *	4.3e-04 ***	0.89 N.S	2.8e-04 ***
N.sepya:Azote, Df = 11	0.79 N.S	0.14 N.S	0.51 N.S	0.83 N.S
Année:N.sepya:Azote, Df = 11	0.48 N.S	6e-01 N.S	0.49 N.S	0.49 N.S

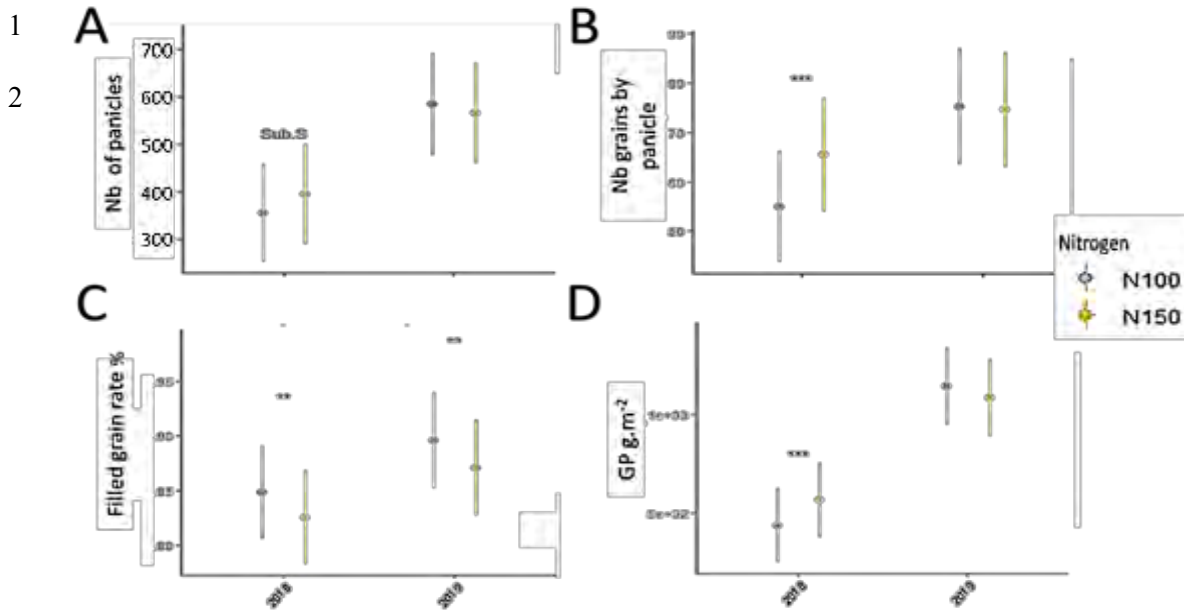
1 L'estimation de la teneur en chlorophylle (via la mesure SPAD) et de la surface de la feuille  
2 drapeau ont aussi augmenté avec l'ajout des 50U (**Tableau 7**). L'interaction significative  
3 Génotype:Azote indique que certains génotypes n'ont pas suivi pas la tendance globale d'augmentation  
4 du SPAD comme *Gageron*, *Mambo*, *Sepya024* et *Gines*. La surface foliaire individuelle de la feuille  
5 drapeau a augmenté significativement avec l'apport supplémentaire d'azote de N100 à N150 chaque  
6 année (de 9 à 11.5 cm<sup>2</sup> en 2018 et de 13 à 15 cm<sup>2</sup> en 2019) pour l'ensemble des génotypes à l'exception  
7 de *Cigalon* la variété la plus précoce, dont la feuille drapeau s'est probablement allongée avant ou  
8 pendant le dernier apport en azote (**Tableau 7**).

### 9 Un apport supplémentaire d'azote n'augmente la production de grain qu'en 2018.

10 De manière analogue à la démarche de la première partie, du Chapitre 1 nous avons observé la  
11 production de grains qui est une estimation du rendement. Le **Tableau 8** résume les résultats des anova  
12 pour le nombre de panicules (NbPan), le nombre de grains par panicule (GrNb/Pan), le taux de  
13 remplissage (FiRate), et la production de grains (GP). On constate que la production de grains n'a pas  
14 été impactée significativement par le facteur azote, tout comme le nombre de panicules par m<sup>2</sup> (**Tableau**  
15 **8**) qui est la composante du rendement la plus précoce et qui a été déterminée avant que le surplus  
16 d'azote ne fasse son effet. En revanche, le nombre de grains par panicule et surtout le taux de remplissage  
17 des grains, composantes du rendement plus tardives, ont augmenté significativement avec le surplus  
18 d'azote. Mais ces augmentations n'ont pas entraîné d'augmentation significative de grains. L'interaction  
19 Année:Azote significative pour la production en grains montre que la réponse à la fertilisation a varié  
20 selon l'année d'expérimentation. On observe sur la **Figure 31 D** que seule l'année 2018 a montré une  
21 augmentation de grains produits avec 125 g/m<sup>2</sup> supplémentaires en N150 par rapport à N100. La  
22 fertilisation a globalement impacté le nombre de panicules (**Figure 31 A**) et le nombre de grains par  
23 panicule (**Figure 31 B**). Seul le FiRate, la composante la plus tardive, a été impactée négativement et de  
24 manière homogène sur les deux années (**Figure 31 C**). En effet, en 2018 et en 2019, le taux de  
25 remplissage a chuté de 2,5% entre N100 et N150. L'augmentation du nombre de panicules (**Figure 31**  
26 **A**) et du nombre de grains par panicule (**Figure 31 B**) en 2018 explique l'augmentation globale du  
27 rendement. A l'inverse en 2019, le nombre de panicules et le nombre de grains par panicule ont été  
28 stables entre les deux modalités azote probablement en raison des conditions favorables.

29 Enfin l'absence d'interaction Génotype:Azote (**Tableau 8**) nous indique que les différences  
30 génotypique observées précédemment se sont maintenues quelle que soit la fertilisation apportée. En  
31 effet on constate, par année, des profils de rendement similaires en N100 et N150 (**Figure 32**); avec les  
32 rendements les plus élevés toujours pour les mêmes génotypes : *Manobi* et *Sepya016* ; à l'opposé des  
33 génotypes les moins productifs *Gleva* et *Mambo*.

34

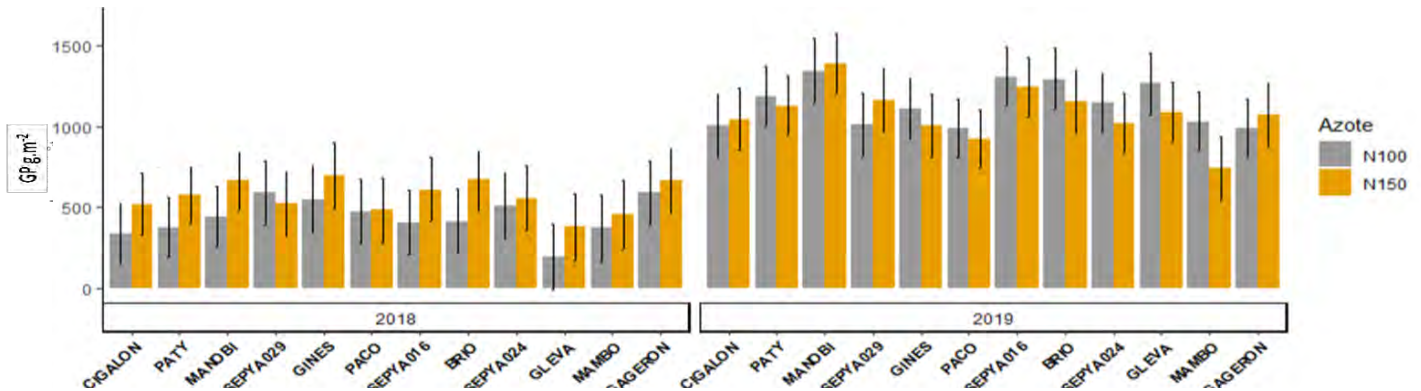


**Figure 31 Effet de la fertilisation sur les composantes du rendement et la production de grains par année**

Les données représentées sont les moyennes ajustées calculées à partir du modèle présenté.

A . Le nombre de panicules, B . Le nombre de grains par panicule, C . Le taux de remplissage, D . La production de grains  
N100 : traitement contraignant, N150 : traitement normal

Significativité établie tel que :  $p\text{-value} > 0.1$  NS ;  $p\text{-value} < 0.1$  Sub.S ;  $p\text{-value} < 0.05$  \* ;  $p\text{-value} < 0.01$  \*\* ;  $p\text{-value} < 0.001$  \*\*\*



**Figure 32 : Effet de la fertilisation sur la production en grains de chaque géotype selon l'année**

Les données représentées sont les moyennes ajustées calculées à partir du modèle présenté. GP : production de grains

**Tableau 9: Résultats Anova du modèle utilisé sur les caractères d'utilisation de l'azote**

$N_{up\_pre}$  : quantité d'azote prélevée avant floraison,  $N_{in\_straw}$  : quantité d'azote restant dans les pailles à récolte,  $N_{remo}$  : quantité d'azote remobilisé,  $N_{up\_post}$  : quantité d'azote prélevée après floraison,  $N_{tot}$  : quantité d'azote prélevée sur l'ensemble du cycle.

Significativité établie tel que :  $p\text{-value} > 0.1$  NS ;  $p\text{-value} < 0.1$  Sub.S ;  $p\text{-value} < 0.05$  \* ;  $p\text{-value} < 0.01$  \*\* ;  $p\text{-value} < 0.001$  \*\*\*

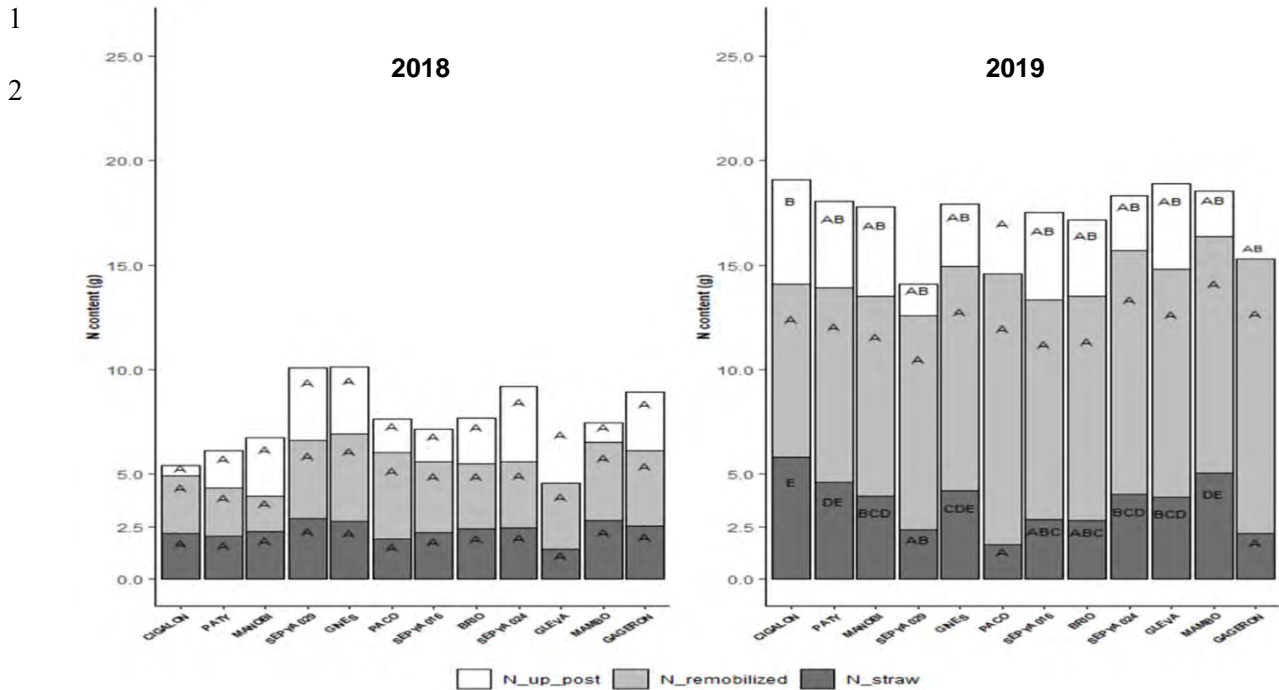
	Levee, Df=1	Année, Df=1	Azote, Df=1	Géotype, Df=11	bloc:Année, Df=8	Année:Azote, Df=1	Année:Géotype, Df=11	Azote:Géotype, Df=11	Année:Azote:Géotype, Df=11
$N_{up\_pre}$	7.3e-18 ***	3.9e-59 ***	2.5e-02 *	0.47 N.S	1.6e-03 **	0.92 N.S	0.84 N.S	0.22 N.S	0.67 N.S
$N_{in\_Straw}$	2.2e-03 **	5.3e-21 ***	1.4e-02 *	4.9e-16 ***	2e-03 **	0.54 N.S	1.7e-10 ***	5e-01 N.S	0.36 N.S
$N_{remo}$	1.4e-14 ***	4.3e-51 ***	0.12 N.S	4.2e-04 ***	9.5e-02.	0.88 N.S	0.35 N.S	1e-01 N.S	0.91 N.S
$N_{up\_post}$	1.8e-02 *	5.4e-02.	0.76 N.S	1.3e-02 *	0.15 N.S	4.9e-02 *	8.7e-02.	0.45 N.S	0.94 N.S
$N_{tot}$	5.8e-07 ***	4.9e-45 ***	1.5e-02 *	1.9e-02 *	9.6e-02.	1.5e-02 *	1.5e-03 **	6e-01 N.S	0.25 N.S

1           **L'impact d'un apport supplémentaire d'azote sur l'utilisation de l'azote varie d'une année**  
2           **sur l'autre, et permet l'observation de contrastes de prélèvement post-floral entre les**  
3           **géotypes**

4           Le **Tableau 9** décrit l'impact de la fertilisation sur les différentes quantités d'azote prélevées et  
5 remobilisées. On constate alors que la quantité d'azote prélevée avant floraison a été impactée  
6 significativement et positivement par la fertilisation passant de 5,2 à 6,1 g.m<sup>-2</sup> en 2018 et de 14,5 à 15,3  
7 g.m<sup>-2</sup> en 2019. On conserve également l'homogénéité du prélèvement pré-floral entre les géotypes en  
8 N100. La fertilisation a également eu un impact significatif sur la quantité totale d'azote prélevée à la  
9 fin du cycle mais seulement en 2018 (Année:Azote significatif) : les plantes ont prélevé 7 g.m<sup>-2</sup> d'azote  
10 pour N100 et 9 g.m<sup>-2</sup> pour N150, alors que la quantité d'azote prélevée a stagné autour de 17 g.m<sup>-2</sup> en  
11 2019 quel que soit le traitement. Tout comme dans le traitement N150, le prélèvement d'azote post-  
12 floral, la teneur en azote dans les pailles et le taux de remobilisation ont été significativement différents  
13 selon les géotypes tandis qu'aucune différence significative n'a été rapportée pour le prélèvement  
14 d'azote pré-floral (**Tableau 9**).

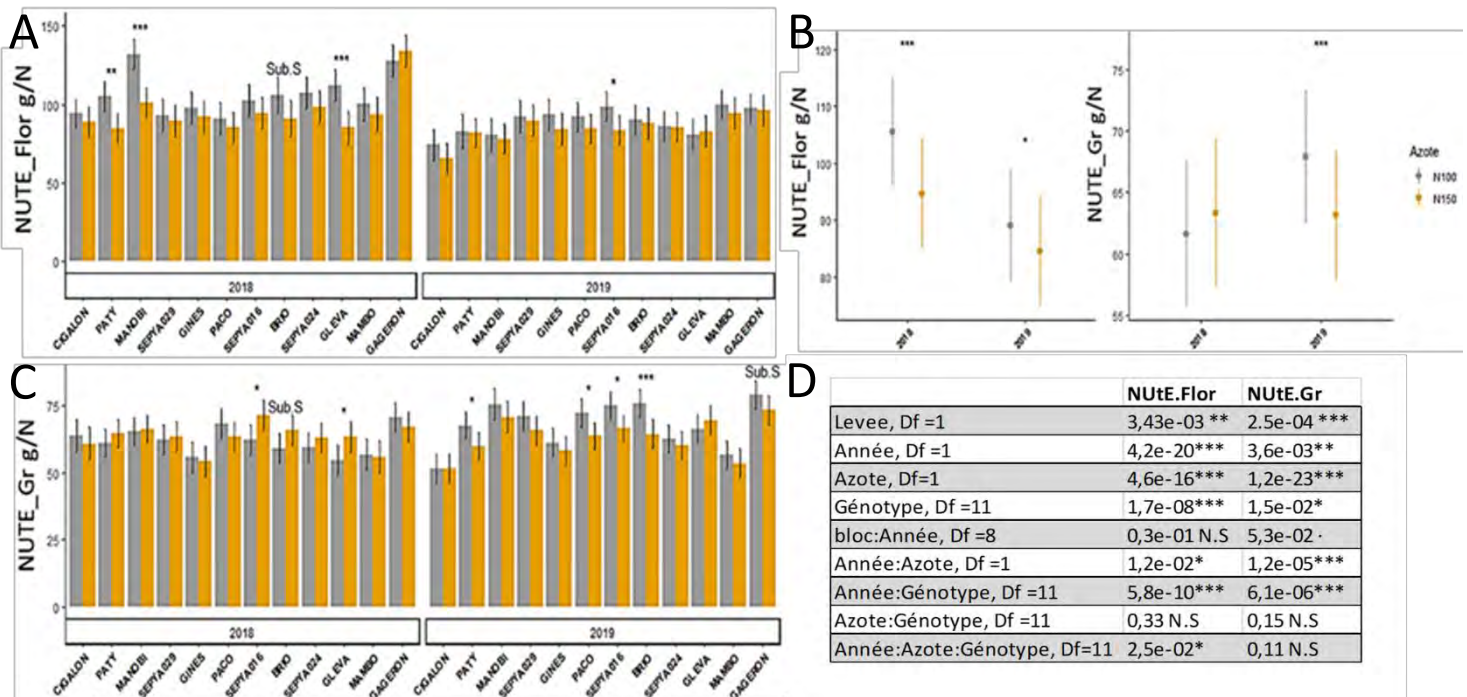
15           Les quantités d'azote remobilisées et prélevées après floraison n'ont pas été modifiées  
16 significativement par la fertilisation (**Tableau 9**). L'absence d'interaction Géotype:Azote indique que  
17 la diversité génotypique s'est maintenue pour les deux niveaux de traitement. Toutefois on constate en  
18 comparant la **Figure 33** à la **Figure 28** que le prélèvement post-floral a varié d'une année sur l'autre. En  
19 effet en 2018 l'ajout des 50U supplémentaires (N150) a eu tendance à augmenter la quantité d'azote  
20 prélevée après floraison. Mais cette tendance semble s'inverser en 2019 où les géotypes tardifs ont eu  
21 une meilleure capacité à prélever de l'azote après leur floraison en N100 qu'en N150, d'où l'effet  
22 Année:Azote significatif.

23           L'année a grandement impacté les composantes d'efficacité d'utilisation de l'azote pour le  
24 traitement N100 (**Figure 33**) tout comme cela avait été mis en évidence pour le traitement N150. Dans  
25 les conditions N100, aucune différence significative entre géotypes n'a été rapportée en 2018 pour le  
26 prélèvement d'azote post-floral, la quantité d'azote remobilisée et celle contenue dans les pailles. En  
27 2019, les valeurs des composantes étaient significativement plus élevées qu'en 2018. Une diversité de  
28 réponses dans la gestion de l'azote après floraison a été observée avec une quantité variable d'azote  
29 prélevée et présente dans les pailles à maturité. Toutefois, seuls *Cigalon* et *Paco* ont été caractérisées  
30 par des différences significatives de leur prélèvement post floral. Le comportement des géotypes dans  
31 les conditions N100 ont confirmé celui rapporté pour les conditions N150 : la quantité d'azote  
32 remobilisée est la composante qui explique le mieux les différences entre années et est aussi la  
33 composante majoritaire en 2019 lorsque les conditions étaient plus favorables. Tout comme dans les  
34 conditions N150, le prélèvement d'azote post-floral discriminait les géotypes contrairement au  
35 prélèvement d'azote pré-floral.



**Figure 33 : Diversité d'utilisation de l'azote sur un panel de douze géotypes sur deux années dans les conditions N100 de fertilisation**

*N\_straw* : quantité d'azote restant dans les pailles à récolte, *N\_remobilized* : quantité d'azote remobilisé, *N\_up\_post* : quantité d'azote prélevée après floraison. Les graphiques sont ajustés sur 0 :25 g par soucis de clarté et ne représentent pas les valeurs négatives du *N\_up\_post* obtenues pour certains géotypes dues à la perte de matière entre deux échantillonnages



**Figure 34 : Effet de la fertilisation sur la Nitrogen Utilization Efficiency (NUE)**

A et C: Comparaison deux à deux de la NUTE.Flo (appliquée à la biomasse à floraison Eq 14) et de la NUTE.Gr (Eq 15 appliquée au grains produits) entre les deux conditions azote. Test deux à deux faits sur les moyennes ajustées du modèle avec un ajustement de Tukey.

B. Evolution de, respectivement, de la NUTE.Flo et de la NUTE.Gr, selon le traitement et année. Test deux à deux faits sur les moyennes ajustées du modèle avec un ajustement de Tukey

D. Anova du modèle sur la NUTE.Flo et de la NUTE.Gr

Significativité établie tel que :  $p\text{-value} > 0.1$  NS ;  $p\text{-value} < 0.1$  Sub.S ;  $p\text{-value} < 0.05$  \* ;  $p\text{-value} < 0.01$  \*\* ;  $p\text{-value} < 0.001$  \*\*\*

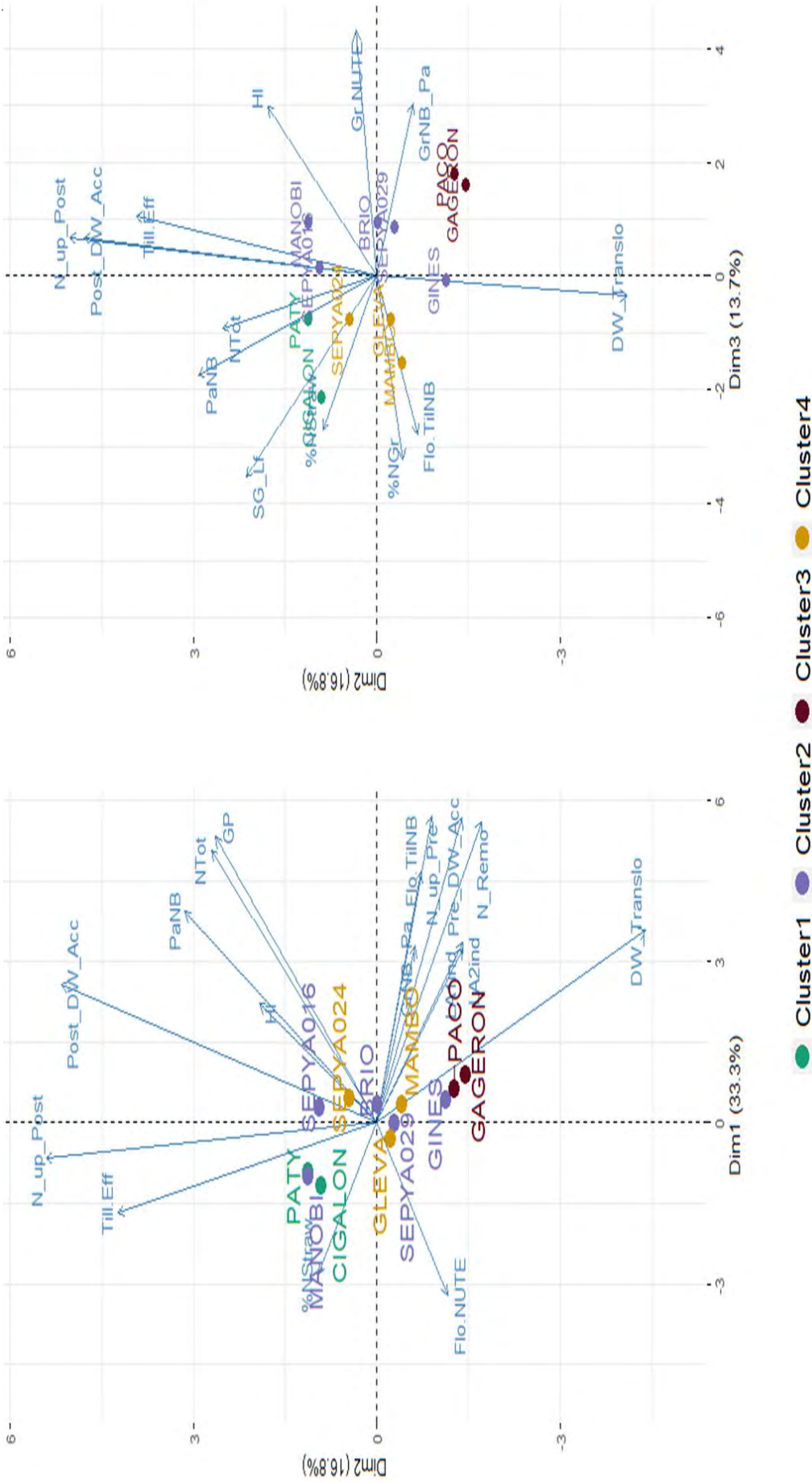
1 En revanche, la tendance des variétés précoces à prélever davantage d'azote après floraison n'a pas été  
2 confirmée dans une modalité de fertilisation plus limitante, et ceci sur les deux années. Ces résultats  
3 indiquent la nécessité d'un apport à l'initiation de la panicule, pour discriminer les géotypes aux  
4 meilleurs potentiels de prélèvement post-floral. La plus faible disponibilité en azote du milieu dans le  
5 cas de la modalité N100 a peut-être stimulé le prélèvement post-floral de la majorité des géotypes et a  
6 nivelé les valeurs.

#### 7 **Les cultivars sont d'autant plus efficaces que l'environnement est contraignant**

8 L'Efficacité de conversion de l'azote en biomasse (Nitrogen Utilization Efficiency, NUtE) à  
9 floraison n'était pas corrélée à la phénologie des géotypes dans la modalité N100 contrairement à la  
10 modalité N150. En effet dans cette condition, les géotypes les plus efficaces étaient *Paty*, *Manobi*,  
11 *Gleva*, avec des efficacités dépassant les 110 g biomasse par g d'azote prélevé ( $\text{g.g}^{-1} \text{N}$ ), et *Gageron*, la  
12 plus efficace de toutes avec 125  $\text{g.g}^{-1} \text{N}$ , quel que soit le traitement (**Figure 34 A**). La NUtE à floraison  
13 a diminué significativement de N100 à N150 sur les deux années (**Figure 34 B et D**). Si on considère  
14 que 2018 a été une année contraignante pour le développement des plantes, et que l'ajout de 50 unités  
15 d'azote est un élément favorable au développement, la **Figure 34 B** indique clairement que la NUtE a  
16 diminué en parallèle de l'amélioration des conditions environnementales, de 2018 à 2019, de N100 à  
17 N150, avec environ 115  $\text{g.g}^{-1} \text{N}$  en N100/2018, 93  $\text{g.g}^{-1} \text{N}$  en N150/2018, 90  $\text{g.g}^{-1}$  en N100/2019 et 85  
18  $\text{g.g}^{-1} \text{N}$  en N150/2019. La NUtE de la production de grains (NUtE.Gr) a diminué entre la fertilisations  
19 N100 et N150 uniquement en 2019 passant de 68  $\text{g.g}^{-1} \text{N}$ , à 63  $\text{g.g}^{-1} \text{N}$  (**Figure 34 B**), avec une réponse  
20 au traitement homogène par géotype (**Figure 34 C et D**).

21 Les variétés précoces, *Cigalon*, *Paty* et *Manobi*, identifiées précédemment comme les plus  
22 productives après floraison (**Tableau 7**), étaient également celles qui avaient répondu le plus  
23 favorablement à l'apport des 50 unités supplémentaires en 2018. A l'inverse en 2019, leur réponse a été  
24 plus modérée. Cette année-là, le prélèvement d'azote post-floral de variétés plus tardives telles que *Paco*  
25 ou *Gageron*, a même été si faible que les valeurs issues des échantillonnages à floraison et maturité ont  
26 généré des valeurs négatives, illustrant bien que l'utilisation de l'apport supplémentaire d'azote dans les  
27 conditions favorables de 2019 n'a pas été utilisé efficacement par ces trois géotypes dans cette étude.





**Figure 35 : Analyse en composantes principales des variables mesurées sur deux années en condition N100**

L'ensemble des variables décrites dans le matériel et méthodes a été utilisé dans le calcul des projections, mais seules celles qui ont une contribution supérieure à 0,2 sont montrées. Les clusters ont été calculés par la méthode des K-means par rapport aux coordonnées du barycentre de chaque groupe de cultivars sur les trois premières dimensions de l'ACP.

%NGr : Taux d'azote dans les grains; %Straw : Taux d'azote des pailles; DW\_Translo : biomasse transférée des organes aériens vers les grains; Flo.TiINb : Nombre de talles à floraison; Flo.NUTE : NUtE de production de biomasse à floraison ; GP : production en grains ; Gr.NUTE : NUtE de production de grains ; HI : Harvest Index; N\_remo : azote remobilisé; N\_up\_Post : azote prélevé après floraison; N\_up\_Pre : azote prélevé avant floraison; PaNB : Nombre de panicules ; Ntot : azote total prélevé; Post DW\_Acc : Accumulation de biomasse après floraison; Pre DW\_Acc : Accumulation de biomasse avant floraison; SG\_Lf (Stay-Green Leaves): nombre de feuilles vertes restantes; Tll.Eff : Efficacité de Tallage (nombre de panicules productives/nombre de talles présentes à floraison)

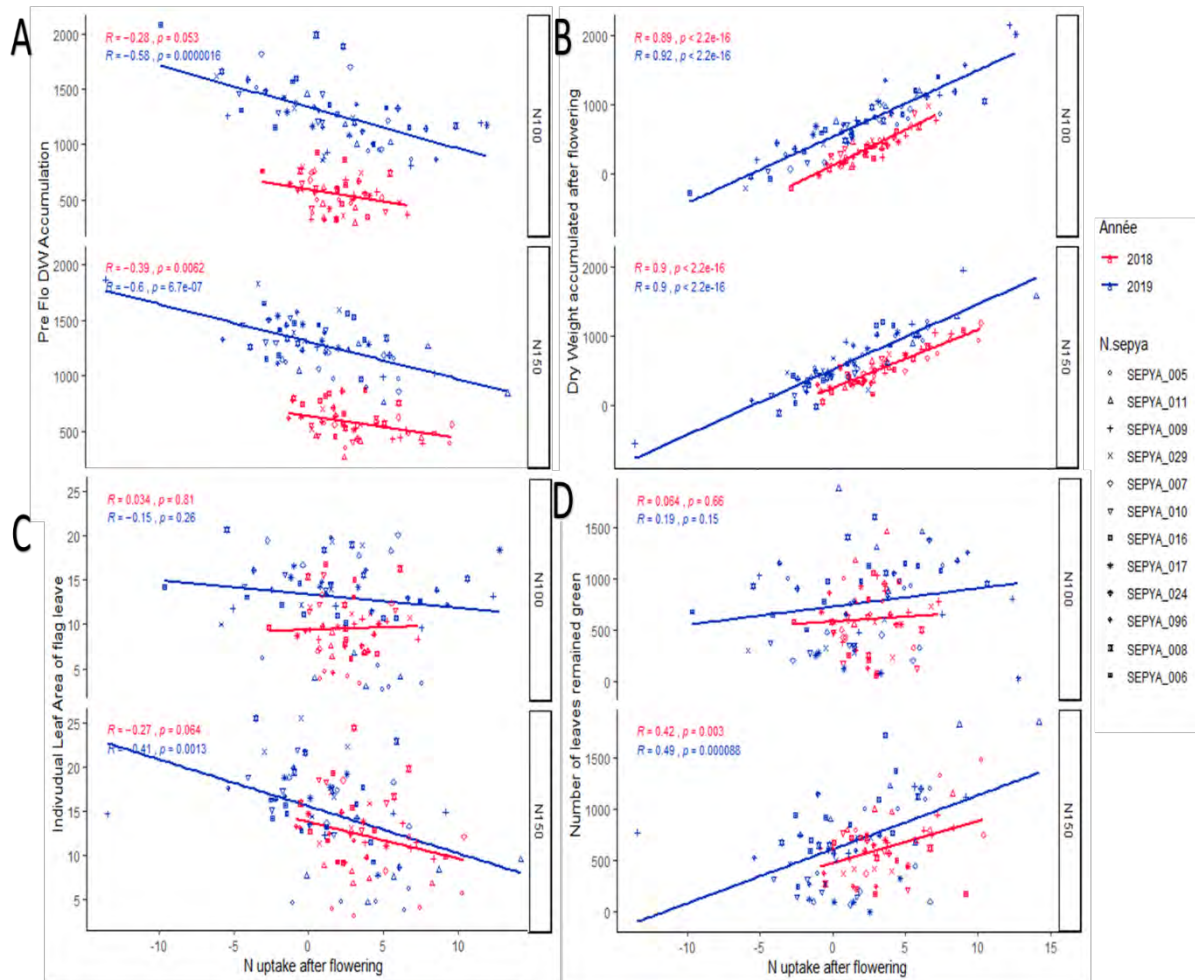
1           **Un apport supplémentaire d'azote est nécessaire pour observer la relation stay green/surface**  
2           **foliaire individuelle/azote prélevé en post floral.**

3           L'ACP de la **Figure 35** a été établie avec les mêmes variables que l'ACP de la **Figure 29** mais  
4 avec les mesures faites en N100. De même, nous présentons deux projections faites avec les mêmes trois  
5 premières dimensions qui regroupent 63,8% de l'information. La première constatation est que le  
6 regroupement des variables pré-florales et post-florales a été conservé. Ainsi les variables liées au  
7 développement de la plante en pré-floraison (N\_up\_pre, TilNB, Pre\_DW\_Accu) sont liées à la Dim1  
8 (33,3%) alors que les variables caractérisant la période post-floraison (N\_up\_post, Post\_DW\_Acc,  
9 Till.Eff, DW\_Translo) sont liées à la Dim 2 (16,8%). Enfin, on retrouve le lien entre la Dim 3 (13.7%)  
10 et des variables globales (%NGr, HI, Gr.NUtE). Bien que la condition N100 ait conservé les relations  
11 entre les variables de prélèvements d'azote et de production de biomasse (**Figure 36 A et B**), l'ACP ne  
12 montre pas les relations entre les variables post-floraison (prélèvement et remobilisation) et le caractère  
13 stay-green (SG\_Lf, F) représenté par la Dim 3, et la surface des feuilles individuelles (LA1ind et  
14 LA2ind) qui est mal représentée sur la projection. Ces résultats sont confirmés sur la **Figure 36 C et D**.  
15 Contrairement au prélèvement d'azote post-floral, le caractère stay green et la surface foliaire de la  
16 feuille drapeau ont été impactés significativement par le traitement. La fertilisation a eu un effet  
17 bénéfique sur le caractère stay-green de *Cigalon* en 2018, sans impacter les autres génotypes, et un effet  
18 négatif sur le même caractère chez *Gleva* et *Mambo* en 2019 (**Tableau 7**).

19           Enfin on retrouve le lien fort entre la production en grains (GP) et le nombre de panicules dans  
20 le plan Dim1/Dim2, ainsi que la relation reliant la production en grains et la quantité d'azote totale  
21 ( $r^2=0,95$ ,  $p\text{-val}=2.2e-16$ ). De même on observe que la projection des génotypes est également modifiée  
22 pas la différence de fertilisation. L'éclatement des barycentres des individus a été nettement plus restreint  
23 en N100 en particulier sur le plan Dim1/Dim2. Les nouveaux clusters sont toujours bien discriminés sur  
24 le plan Dim2/Dim3, indiquant que les variables de la période pré-floraison ne sont toujours pas adaptées  
25 à la discrimination des génotypes. De plus, ces nouveaux clusters sont organisés différemment de ceux  
26 mis en évidence dans le Chapitre I. Premièrement, le cluster 1 ne contient plus que *Paty* et *Cigalon*  
27 (*Manobi* a été intégré au cluster 2), et se différencie toujours en partie par le stay-green mais plus par le  
28 N\_up\_post. Les génotypes opposés *Paco* et *Gageron*, composent le cluster 3 et se distinguent par moins  
29 de feuilles vertes, plus de grains par panicule et une meilleure Gr.NUtE. Les clusters 2 et 4 sont très  
30 similaires, et très centrés sur la projection indiquant des valeurs intermédiaires pour les variables  
31 projetées. On peut les distinguer par une meilleure Gr.NUtE et un meilleur HI pour le cluster 2, et des  
32 concentrations en azote dans les grains plus importantes pour le cluster 4.

33

1



**Figure 36 : Corrélations entre la quantité d'azote post-florale prélevée et plusieurs traits d'intérêt selon l'année d'expérimentation et le traitement azote**

*Corrélation entre la quantité d'azote prélevé après la floraison (en  $g.m^{-2}$ ) et :*

*A. L'accumulation de biomasse aérienne avant floraison (en  $g.m^{-2}$ )*

*B. L'accumulation de biomasse aérienne après floraison (en  $g.m^{-2}$ )*

*C. La surface foliaire individuelle de la feuille drapeau (en  $cm^2$ )*

*D. Le nombre de feuilles vertes dénombré à maturité*

*Les corrélations sont calculées par traitement (N100 et N150) et par années (2018 en rouge et 2019 en bleu) selon la méthode de Pearson*

# Chapitre III : Caractérisation de l'utilisation de l'azote en conditions contrôlées

1  
2  
3  
4

5 Dans cette partie nous décrivons les expériences menées en serre au printemps 2018 et 2019.  
6 L'objectif était de caractériser dix génotypes dans deux conditions azotées très contrastées, dont 8 étaient  
7 commun à l'expérimentation en champ. A ce jour, peu d'études sur le riz se sont orientées sur la  
8 décomposition de la NUE en composantes plus élémentaires et sur leurs relations avec d'autres traits  
9 morphologiques tel que nous avons construit le protocole et conduit l'analyse. Ces expériences diffèrent  
10 du champ par leur protocole de fertilisation : un engrais retard à libération modérée et continue d'azote  
11 tout au long du cycle a été utilisé. En revanche, les mesures effectuées pour ces expériences sont  
12 analogues à celles du champ, hormis l'ajout de mesures de l'activité photosynthétique difficilement  
13 faisables sur le terrain. Nous avons également observé l'impact de la contrainte azotée dès le début du  
14 cycle via des mesures au stade tallage.

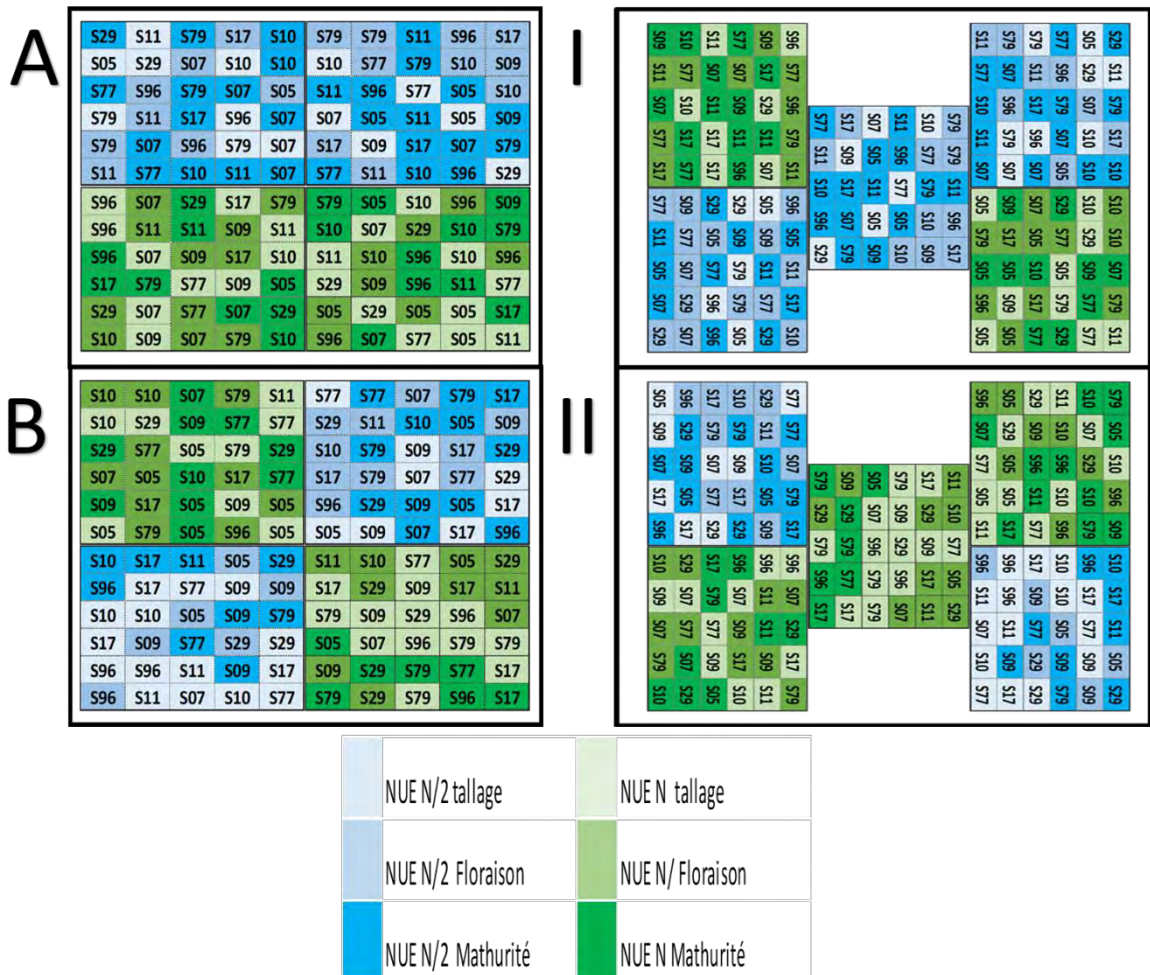
15 Les objectifs principaux de ces expériences étaient de (i) caractériser plus finement la réponse d'un panel  
16 de riz tempérés à la contrainte azotée avec un focus sur l'utilisation de l'azote pour (ii) valider, ou non,  
17 les principaux résultats du champ et (iii) identifier un phénotype être relié à l'induction de sensibilité  
18 due à l'azote face au champignon *Magnaporthe oryzae* (NIS) par l'intermédiaire de suivis métaboliques  
19 fins décrits dans la **Partie 4** de ce manuscrit.

20

1 **Tableau 10 : Liste des génotypes étudiés classés par phénologie moyenne**

2 *Les génotypes communs à l'expérience en champ sont annotés en vert*

Genotype	Floraison 2018		Maturité 2018		Floraison 2019		Maturité 2019	
	Date	nb jours	Date	nb jours	Date	nb jours	Date	nb jours
CIGALON ✓	15/06/2018	63	18/07/2018	96	13/06/2019	66	23/07/2019	106
PATY ✓	15/06/2018	63	18/07/2018	96	17/06/2019	70	30/07/2019	113
PACO ✓	21/06/2018	69	21/06/2018	96	24/06/2019	77	01/08/2019	115
SEPYA_079	21/06/2018	69	24/07/2018	102	25/06/2019	78	31/07/2019	114
SEPYA_077	22/06/2018	70	08/08/2018	117	27/06/2019	80	05/08/2019	119
SEPYA_029 ✓	24/06/2018	72	02/08/2018	111	28/06/2019	81	05/08/2019	119
BRIO ✓	29/06/2018	77	13/08/2018	122	01/07/2019	84	14/08/2019	128
GINÉS ✓	22/06/2018	70	02/08/2018	111	02/07/2019	85	08/08/2019	122
GLEVA ✓	02/07/2018	80	13/08/2018	122	02/07/2019	85	14/08/2019	128
MANOBI ✓	03/07/2018	81	10/08/2018	119	05/07/2019	88	14/08/2019	128



**Figure 37 : Plan d'expérimentation de l'expérience en serre 2018/2019**

Chaque case représente un pot placé dans un tablard contenant 30 pots à deux plantes par pot. Chaque grand rectangle représente un bloc expérimental. A et B ont été étudiés en 2018 et I et II en 2019. Les modalités N et N/2 sont physiquement séparées pour éviter les « fuites » et mélanges d'azote par lessivage.

## 1 Matériel et Méthodes

### 2 **Mise en place et conduite de l'expérience**

3 Cette expérience a été menée 2 fois sur le campus CIRAD de Lavalette à Montpellier d'avril à  
4 août 2018 et 2019. L'expérience comprenait dix génotypes de riz *japonica tempérés* européens (**Tableau**  
5 **10** :Liste des génotypes étudiés classés par phénologie moyenne) dont huit étaient également dans  
6 l'expérience au champ : *Cigalon, Paty, Manobi, Gines, Paco, Brio, Gleva, et le Sepya029* (**Partie**  
7 **11.A.3**). La croissance de ces plantes s'est déroulée dans des pots de 3,5 l avec un terreau neutre en  
8 nutriment dont la composition était propre au CIRAD (58% de tourbe blonde, 18% de fibre de coco,  
9 10% de perlite, 9% de sable volcanique, 5% d'argile). La fertilisation a été mise en place la veille du  
10 semis par enfouissement d'engrais retard Basacotte 6M (14-3-19 NPK, avec 6,5 d'azote nitrique et 7,5  
11 d'azote ammoniacal). Nous avons établi deux niveaux de fertilisation : le groupe N (10,5 g d'engrais  
12 dans le pot soit 1,7 g d'azote) et le groupe N/2 (5.25 g d'engrais, soit 0,85 g d'azote dans le pot).

13 Les conditions climatiques ont été programmées sur quatre créneaux horaires : 7h-12h, 12h-  
14 18h, 18h-22h, 22h-7h. La température a été réglée à 28-29°C sur les créneaux 7h-12h et 18h-22h. A  
15 partir de 22h, la température diminuait progressivement pour atteindre 22°C-23°C, pour ensuite  
16 remonter progressivement à partir de 7h. La température a été réglée à 29-30°C pour le créneau 12h-  
17 18h. L'hygrométrie était réglée à 65% en journée et 70% la nuit, de 22h-7h. De plus, un éclairage LED  
18 était apporté en soutien de la lumière naturelle avec un allumage et une extinction progressive dans le  
19 créneau de 7h-12h et de 18-22h.

20 Les semis ont été effectués le 13 avril 2018 et le 08 avril 2019. Quatre graines de chaque  
21 génotype ont été semées dans 12 pots par modalité en 2018 et 15 en 2019. Une fois les semis effectués,  
22 les pots ont été réarrangés selon le plan expérimental en split-plot. Chaque année a représenté un bloc,  
23 lui-même subdivisé en deux sous-blocs A et B en 2018 et I et II en 2019 selon l'orientation de la serre  
24 (**Figure 37**). Au bout de deux semaines, les deux plantules les moins robustes de chaque pot ont été  
25 retirées et, pour certaines, repiquées dans des pots de même modalité dont moins de deux plantes avaient  
26 levé. Le but était d'obtenir au final deux plantules de riz vigoureuses dans chaque pot.

27 Une irrigation quotidienne par aspersion a été menée jusqu'au début de l'épiaison (50 jours  
28 après semis). A partir de ce stade, l'irrigation a fonctionné par capillarité en remplissant les tablaris  
29 dans lesquels les pots étaient entreposés de sorte que la lame d'eau atteigne 7cm environ. La base des  
30 pots était donc constamment en partie immergée, et la surface des pots constamment en contact avec  
31 l'air. Deux semaines avant la maturité des grains (80 jours après semis), les tablaris ont été asséchés et  
32 l'irrigation arrêtée pour favoriser la maturation des grains.

33

**1 Les phases d'échantillonnage, mesures et calcul de caractères simples**

2 Les mesures ont été effectuées à trois étapes clés : tallage, floraison et maturité. Nous avons  
3 établi l'étape tallage à quatre semaines après le semis. La floraison d'un génotype a été déterminée  
4 lorsque 80% des talles observées montraient des étamines sorties au moins sur les 2/3 de leurs panicules.  
5 Enfin le stade maturité a été déterminé lorsque 80% des grains étaient devenus jaunes et vitreux. Chaque  
6 phase d'échantillonnage étant destructive, un lot de 4 pots en 2018 et de 5 pots en 2019 ont été pré-  
7 identifiés pour chaque phase. Dans nos analyses, chaque individu correspond à un pot dans une condition  
8 et un bloc donnés pour un échantillonnage. Les variables mesurées correspondent, selon le cas, soit à la  
9 somme soit à la moyenne des deux plantes contenues dans le même pot.

10 Pour chaque étape, les plantes d'un même pot ont été coupées à la base des tiges. Pour les phases  
11 tallage et floraison, le nombre de talles (**TiNB**) présentes dans le pot a été recensé, puis les plantes de  
12 chaque échantillon ont été séparées en limbes verts d'un côté, gaines, tiges, et panicules (y compris  
13 celles déjà visibles) de l'autre. La surface totale des limbes verts par échantillon (**LA**) a été mesurée  
14 avec un appareil de mesure de la surface des feuilles (LI-3100C Area Meter, Li-Cor, Lincoln, NE, USA).  
15 La surface individuelle de la feuille du drapeau (**LA\_FD**) a été mesurée séparément. La matière sèche  
16 des feuilles (**DWLf**) et des tiges (gaines + entre-nœuds, **DWSt**) à l'issue de 72 h dans une étuve à 60°C,  
17 pesées (matière sèche) par pot pour chaque échantillonnage. La matière sèche totale aérienne a été  
18 calculée comme la somme de la matière sèche des limbes et des tiges (gaines + entre-nœuds + panicules  
19 si présentes).

20 À maturité, on a compté le nombre total de talles des plantes divisé en nombre de talles  
21 productives (**PanNB**), non productives et mortes. La matière sèche des pailles (**DWStraw**) a été mesurée  
22 par la même méthode décrite ci-dessus. Les grains ont été séparés du rachis et puis triés selon leur  
23 remplissage. Nous avons pondéré le total des grains pleins (Production de grains, **GP**) et des grains vides.  
24 La taille de la panicule (**Pa\_Length**) a été déterminée en prenant la mesure du premier rang de grains à  
25 la pointe de la panicule. Le taux de remplissage (**FiRate**) a été calculé comme le rapport entre le nombre  
26 de grains remplis et le nombre total de grains. Le poids de 1000 grains (**1000GrDW**) a été établi à partir  
27 de la pesée de 50 grains remplis. A partir de ces mesures nous avons calculé l'indice de récolte (**HI**)  
28 comme le rapport entre le poids des grains secs et la biomasse totale (paille + grains) à maturité.

1 L'activité photosynthétique a été estimée par la mesure des échanges gazeux : notée **phi\_Assim** pour  
 2 l'assimilation du CO<sub>2</sub> en μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), **phi\_Transp** pour l'évapotranspiration en mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), et  
 3 **phi\_Gs** pour la conductance en vapeur d'eau en mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Ces mesures ont été effectuées à floraison  
 4 au centre de la feuille drapeau de la talle principale de chaque plante entre 9 et 11h le matin. La moyenne  
 5 de deux mesures effectuées sur la même feuille correspond à la valeur retenue. Ces mesures ont été  
 6 faites sur les feuilles avant qu'elles ne soient détachées de la plante pour l'estimation de la surface  
 7 foliaire. L'appareil utilisé était le GFS 3000 WALZ, doté d'une chambre de mesure de 8 cm<sup>2</sup> et  
 8 paramétré tel que : Température = 27°C, Humidité relative = 65%, VPD = 1,2 kPa, Rayonnement =  
 9 1500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; Flux d'air = 800 μmol s<sup>-1</sup>

10 Les taux d'azote dans les organes (**%N\_Leaf**, **%N\_Stem**, **%N\_Straw**, **%N\_Gr**) ont été  
 11 mesurés via spectrométrie proche infrarouge (NIRS) selon la même méthodologie et la même base de  
 12 donnée que décrites dans le Matériel et Méthodes **p83**. La compilation de ces taux avec les biomasses  
 13 issues des pesées permet d'estimer la quantité brute d'azote contenue dans les plantes par les mêmes  
 14 calculs que ceux présentés dans le chapitre précédent ( $N_{uptake}^{pre\ flo}$  **Eq 8**). A partir des quantités d'azote  
 15 estimées dans les organes, nous avons pu calculer l'efficacité des plantes à convertir l'azote prélevé (i)  
 16 en biomasse totale et (ii) en production de grains (Nitrogen Utilization Efficiency, **NUtE**) en divisant la  
 17 biomasse totale ou le poids des grains par la quantité totale d'azote prélevée tel que

$$18 \quad \text{Eq 16} \quad NUtE_{flo} = \frac{DW_{St} + DW_{Gr}}{N_{uptake}^{Tot}}$$

$$19 \quad \text{Eq 17} \quad NUtE_{Gr} = GP / N_{uptake}^{Tot}$$

20 Pour le calcul des efficacités de prélèvement (**NUpE**) et d'utilisation (**NUtE**) de l'azote, il était  
 21 nécessaire d'avoir une estimation de la quantité d'azote présente dans le sol au moment de la mesure.  
 22 En connaissant la composition de l'engrais retard, son rythme de libération de l'azote, et en maîtrisant  
 23 la température ambiante, il a été possible d'estimer la quantité d'azote libérée par l'engrais à 14 mg jour<sup>-1</sup>  
 24 pour la condition N et 7 mg jour<sup>-1</sup> pour la condition N/2. Nous avons alors estimé la quantité d'azote  
 25 libérée par l'engrais (et donc disponible pour les plantes) à la date d'échantillonnage (**N<sub>potFlo</sub>** ou **N<sub>potMat</sub>**  
 26 selon le cas) en multipliant ces valeurs par le nombre de jours entre le semis et la date de mesures pour  
 27 chaque pot à chaque stade. Ainsi nous avons pu calculer l'Efficacité de prélèvement pré-floral (**NUpE<sub>pre-</sub>**  
 28 **no**), l'efficacité de prélèvement totale (**NUpE**) et la **NUE**.

$$29 \quad \text{Eq 18} \quad NUpE_{pre\ flo} = N_{uptake}^{pre\ flo} / N_{potFlo}$$

$$30 \quad \text{Eq 19} \quad NUpE = N_{uptake}^{Tot} / N_{potMat}$$

$$31 \quad \text{Eq 20} \quad NUE = GP / N_{potMat}$$



**1 Calcul des caractères illustrant une évolution entre deux stades**

2 Le calcul de certains caractères a nécessité la compilation de paramètres mesurés à deux stades  
 3 différents. De fait, il a été nécessaire d'établir des moyennes afin de regrouper ces paramètres. La  
 4 première étape a donc été de calculer les moyennes pondérées (notées EMM pour Estimated Marginal  
 5 Means) des paramètres d'intérêt par bloc et par traitement pour chaque génotype. Ainsi nous avons pu  
 6 calculer les caractères suivants pour chaque combinaison de modalités, obtenant alors quatre valeurs au  
 7 total :

8 L'efficacité du tallage (**Till.Eff**) a été calculée par la division de **PanNB** par la **Flo.TilNB** tel  
 9 que :

10 **Eq 21**  $Till.Eff = EMM.PanNB / EMM.Flo.TilNB.$

11 L'accumulation de biomasse après floraison (**PostDW<sub>Acc</sub>**) ainsi que le transfert de biomasse  
 12 accumulée avant floraison vers les grains (**DW<sub>Translo</sub>**) ont été estimé via les calculs suivants :

13 **Eq 22**  $PostDW_{Acc} = EMMGP + EMMStrDW - (EMMStDW^{flo} + EMLfDW^{flo})$

14 **Eq 23**  $DW_{Translo} = (EMMStDW^{flo} + EMLfDW^{flo}) - StrDW$

15 Enfin, les moyennes ajustées ont également permis d'évaluer les deux dernières  
 16 composantes de la **NUE** que sont la quantité d'azote prélevée en post floral ( $N_{uptake}^{pre\ flo}$ ) et la quantité  
 17 remobilisée (**NRemo**) tel que :

18 **Eq 24**  $N_{uptake}^{post\ flo} = EMMN_{uptake}^{Tot} - EMMN_{uptake}^{flo}$

19 **Eq 25**  $NRemo = EMMN_{uptake}^{pre\ flo} - EMMStrDW \times EMM\%N.Str$

20 Ces valeurs ont alors été utilisées pour calculer la **NUPE<sub>post</sub>** et la **NRE** tel que :

21 **Eq 26**  $NUPE_{post} = \frac{N_{uptake}^{post\ flo}}{N_{potMat}}$

22 **Eq 27**  $NRE = \frac{NRemo}{EMMN_{uptake}^{pre\ flo}}$

23 Enfin nous avons utilisé la même méthode des EMM pour générer les moyennes de **GP** pour  
 24 chaque condition azote afin de pouvoir calculer la **NUE** agronomique (**ANUE**) pour chaque génotype :

25 **Eq 28**  $ANUE = \frac{EMM^N GP - EMM^{N/2} GP}{N_{potMat}^N - N_{potMat}^{N/2}}$

26 Avec  $EMM^N GP$  la production de grains moyennes d'un génotype en condition N ;  $EMM^{N/2} GP$  pour la production en N/2 ; et  
 27  $N_{potMat}^N$  et  $N_{potMat}^{N/2}$  les quantités d'azote finales estimés dans les pots des conditions N et N/2

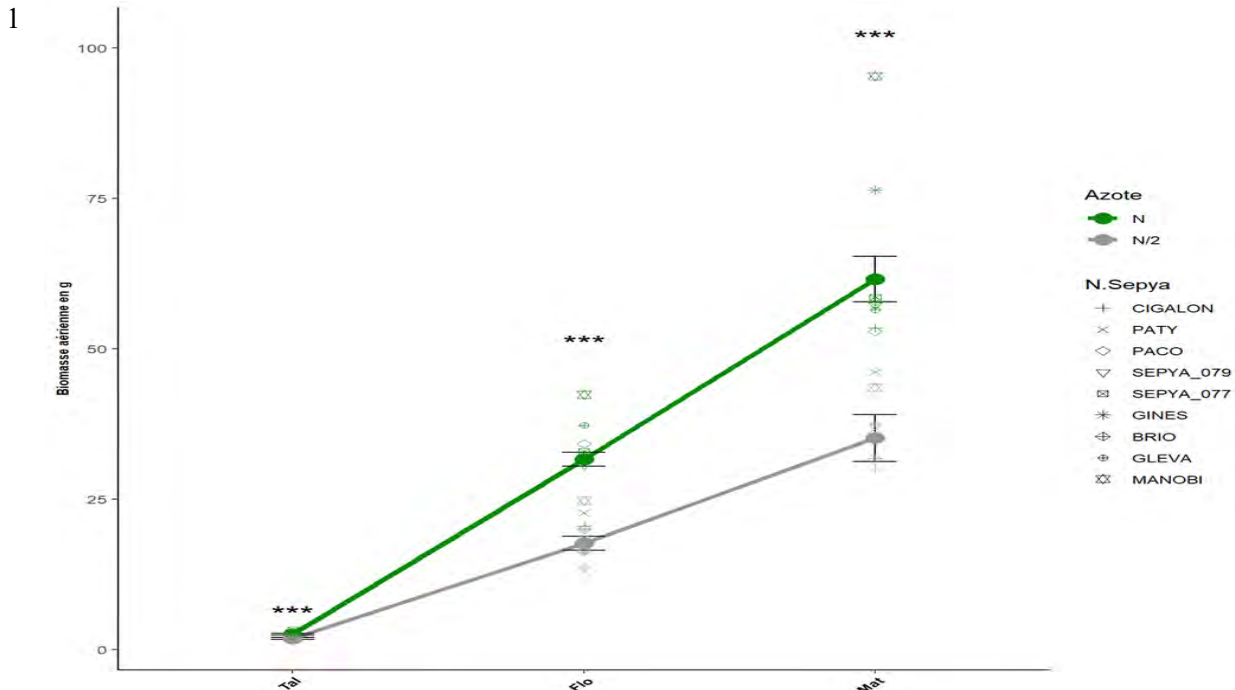
**1        Analyses statistiques**

2            L'ensemble des variables issues de mesures effectuées au même stade ont été analysé via le  
3 modèle linéaire suivant :

$$4            Y_n = \mu + \gamma_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_n$$

5            Avec  $Y$  le caractère observé,  $\mu$  le moyenne théorique ;  $\gamma_k$  l'effet bloc;  $\alpha_i$  l'effet fixe du  
6 génotype ;  $\beta_j$  du traitement azote;  $(\alpha\beta)_{ij}$  l'interaction génotype :azote; et  $\varepsilon_n$  pour l'effet résiduel. Les  
7 effets des facteurs sur chaque variable ont été calculés par ANOVA, avec le logiciel R. Les modèles ont  
8 été exécutés avec le package *lme4*. Le calcul des moyennes ajustées mentionnées plus haut et les  
9 analyses posthoc ont été effectués avec le package *emmeans*.

10           Les analyses en composantes principales et les corrélations ont suivi les mêmes méthodes que  
11 celles décrites dans les chapitres précédents. La matrice utilisée pour ces analyses multivariées a été  
12 établie d'après les moyennes ajustées calculées à partir du modèle décrit ci-dessus.



**Figure 38 : Effet du traitement azoté sur l'évolution de la biomasse du stade tallage à la maturité tout génotypes confondus**

Chaque point représente la moyenne de biomasse ajustée de tous les génotypes à chaque stade et par traitement. La moyenne de chaque génotype est également représentée autour de la moyenne générale. N : traitement normal ; N/2 : traitement contraignant. Les statistiques sont issues du calcul de la p-value de l'effet azote d'après l'anova faite sur le modèle. \*\*\* : p-value < 0.001

**Tableau 11 : Taux d'azote dans les feuilles et les tiges à tallage et à floraison, et dans les pailles et les grains à maturité**

Les échelles de couleurs sont générées par variable et par modalité de traitement. N : traitement normal; N/2 : traitement contraignant. Statistiques issues d'ANOVA faites sur le modèle décrit dans le matériel et méthode. Df : Degrés de liberté. N.S : no significant/p-value > 0.1 ; Sub.S : SubSignificatif ; p-value > 0.05 ; \* : p-value < 0.05 ; \*\* : p-value < 0.01 ; \*\*\* : p-value < 0.001

Genotype	%N feuilles Tallage		%N tige Tallage		%N feuilles Floraison		%N tige Floraison		%N Pailles		%N Gr	
	N	N/2	N	N/2	N	N/2	N	N/2	N	N/2	N	N/2
CIGALON	4,98 <sub>0,14</sub>	4,38 <sub>0,14</sub>	2,54 <sub>0,09</sub>	2,13 <sub>0,09</sub>	2,64 <sub>0,08</sub>	2,04 <sub>0,08</sub>	1,08 <sub>0,04</sub>	0,80 <sub>0,04</sub>	0,87 <sub>0,04</sub>	0,68 <sub>0,04</sub>	1,46 <sub>0,04</sub>	1,23 <sub>0,04</sub>
PATY	5,16 <sub>0,14</sub>	4,38 <sub>0,14</sub>	2,67 <sub>0,09</sub>	2,07 <sub>0,09</sub>	2,74 <sub>0,07</sub>	2,01 <sub>0,07</sub>	0,99 <sub>0,04</sub>	0,71 <sub>0,04</sub>	0,97 <sub>0,04</sub>	0,70 <sub>0,04</sub>	1,31 <sub>0,04</sub>	1,04 <sub>0,04</sub>
PACO	5,00 <sub>0,14</sub>	4,33 <sub>0,15</sub>	2,61 <sub>0,09</sub>	1,99 <sub>0,09</sub>	2,53 <sub>0,07</sub>	1,97 <sub>0,07</sub>	0,88 <sub>0,04</sub>	0,70 <sub>0,04</sub>	0,88 <sub>0,04</sub>	0,70 <sub>0,04</sub>	1,41 <sub>0,04</sub>	1,16 <sub>0,04</sub>
SEPYA_079	5,16 <sub>0,14</sub>	4,58 <sub>0,14</sub>	2,52 <sub>0,09</sub>	2,13 <sub>0,09</sub>	2,58 <sub>0,07</sub>	1,89 <sub>0,07</sub>	0,88 <sub>0,04</sub>	0,72 <sub>0,04</sub>	0,84 <sub>0,04</sub>	0,62 <sub>0,04</sub>	1,42 <sub>0,04</sub>	1,07 <sub>0,04</sub>
SEPYA_077	4,91 <sub>0,14</sub>	4,23 <sub>0,14</sub>	2,49 <sub>0,09</sub>	2,06 <sub>0,09</sub>	2,38 <sub>0,08</sub>	1,95 <sub>0,07</sub>	0,82 <sub>0,04</sub>	0,67 <sub>0,04</sub>	0,70 <sub>0,04</sub>	0,54 <sub>0,04</sub>	1,35 <sub>0,04</sub>	1,16 <sub>0,04</sub>
GINES	5,01 <sub>0,14</sub>	4,21 <sub>0,14</sub>	2,61 <sub>0,09</sub>	1,98 <sub>0,09</sub>	2,40 <sub>0,07</sub>	1,99 <sub>0,07</sub>	0,80 <sub>0,04</sub>	0,66 <sub>0,04</sub>	0,71 <sub>0,04</sub>	0,62 <sub>0,04</sub>	1,43 <sub>0,04</sub>	1,19 <sub>0,04</sub>
BRIO	5,01 <sub>0,14</sub>	4,36 <sub>0,14</sub>	2,62 <sub>0,09</sub>	2,26 <sub>0,09</sub>	2,35 <sub>0,07</sub>	1,75 <sub>0,08</sub>	0,89 <sub>0,04</sub>	0,72 <sub>0,04</sub>	0,74 <sub>0,04</sub>	0,60 <sub>0,04</sub>	1,32 <sub>0,04</sub>	1,13 <sub>0,04</sub>
GLEVA	5,29 <sub>0,14</sub>	4,70 <sub>0,14</sub>	2,54 <sub>0,09</sub>	2,21 <sub>0,09</sub>	2,48 <sub>0,07</sub>	1,86 <sub>0,07</sub>	0,80 <sub>0,04</sub>	0,63 <sub>0,04</sub>	0,85 <sub>0,04</sub>	0,60 <sub>0,04</sub>	1,38 <sub>0,04</sub>	1,11 <sub>0,04</sub>
MANOBI	5,10 <sub>0,14</sub>	4,29 <sub>0,14</sub>	2,49 <sub>0,09</sub>	1,91 <sub>0,09</sub>	2,19 <sub>0,07</sub>	1,76 <sub>0,07</sub>	0,72 <sub>0,04</sub>	0,64 <sub>0,04</sub>	0,63 <sub>0,04</sub>	0,50 <sub>0,04</sub>	1,18 <sub>0,04</sub>	1,03 <sub>0,04</sub>
mean	5,07 <sub>0,05</sub>	4,38 <sub>0,05</sub>	2,57 <sub>0,03</sub>	2,08 <sub>0,03</sub>	2,48 <sub>0,03</sub>	1,91 <sub>0,03</sub>	0,87 <sub>0,01</sub>	0,69 <sub>0,01</sub>	0,80 <sub>0,01</sub>	0,62 <sub>0,01</sub>	1,36 <sub>0,01</sub>	1,12 <sub>0,01</sub>
Bloc, Df=3	1.3e-03 **		3.5e-07 ***		9.8e-19 ***		2.0e-10 ***		5.0e-04 ***		2.5e-04 ***	
Genotype, Df=9	6.7e-02 Sub.S		3.2e-01 N.S		2.0e-06 ***		1.4e-08 ***		1.2e-09 ***		4.1e-07 ***	
Azote, Df=1	1.7e-18 ***		2.6e-20 ***		1.7e-32 ***		2.9e-17 ***		5.0e-16 ***		4.8e-24 ***	
Genotype:Azote, Df=9	9.9e-01 N.S		5.4e-01 N.S		3.1e-01 N.S		2.4e-01 N.S		5.3e-01 N.S		4.4e-01 N.S	

## Résultats et Discussions

*Avant-Propos* : Nous avons eu des problèmes de stock de graines avec le génotype *SEPYA\_029* en 2018 rendant impossible une partie des mesures décrites dans les paragraphes précédents, c'est pourquoi ce génotype n'est pas inclus dans les analyses.

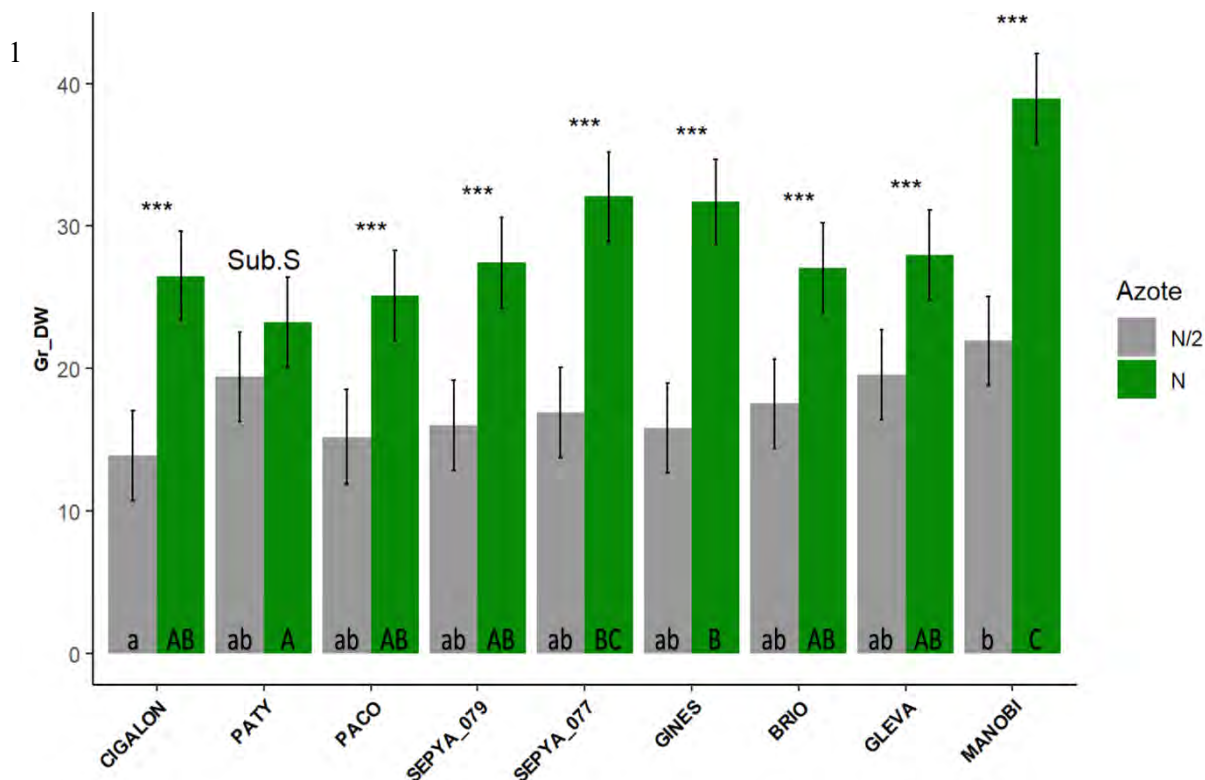
### **Une variation de la phénologie a été observée entre génotypes selon l'année d'expérimentation**

A la vue des observations lors du relevé de floraison (données non présentées) le différentiel de fertilisation n'a pas impacté les dynamiques de floraison et de maturité. Cependant, la phénologie des génotypes a été plus longue en 2019 qu'en 2018. En effet, en moyenne les plantes ont atteint leur floraison trois (*Cigalon*) à quinze jours (*Gines*) plus tard en 2019 par rapport à 2018. Cet écart s'est reporté sur la maturité où on retrouve un écart d'une dizaine de jours en moyenne entre les deux années (Tableau 10). Ces différences n'étaient pas homogènes d'un génotype à l'autre, si bien que l'ordre de précocité observé en 2018 diffère de 2019. Dans les figures suivantes, les génotypes sont ordonnés sur l'axe des X et dans les tableaux selon la moyenne de leurs deux dates de floraison. En revanche les périodes de remplissages étaient équivalentes pour l'ensemble des génotypes.

### **La condition de fertilisation a impacté significativement la dynamique d'accumulation de biomasse et les teneurs en azote des tissus avec une variabilité génétique en fin de cycle.**

Une fertilisation deux fois moins importante dès le départ provoque une chute significative de la production de biomasse aérienne sur l'ensemble du cycle, qui s'accroît avec le temps. En moyenne à tallage les génotypes atteignent 2,5 g de matière sèche en condition normale (N) de fertilisation, face à 1,8 g sous contrainte azotée (N/2), soit un écart de 28%. Cet écart augmente à floraison pour atteindre 44% de différence entre la biomasse accumulée en N (31,5 g) et celle accumulée en N/2 (17,5 g). A maturité, cet écart est équivalent, avec 42% de différence entre la modalité N (61,5 g) et la modalité N/2 (35,5 g) (**Figure 38**).

La variabilité génotypique reste constante à tallage (effet génotype:azote p-value = 0,22 sur la biomasse à tallage). En revanche à floraison, des distinctions de réaction à la fertilisation apparaissent (effet génotype:azote p-value = 0,02\*). Ainsi, dans la condition normale, la biomasses des deux génotypes les plus précoces, *Cigalon* et *Paty* (21 et 23 g) était deux fois moins grande celle des deux génotypes les plus tardifs, *Manobi* et *Gleva* (37 et 42 g, **Figure 38**). Ce contraste n'est plus aussi distinct en N/2 où seulement *Manobi* (25 g) s'est différencié de *Paty* et *Cigalon* (14 et 13 g, respectivement). Pendant le remplissage en N, la différence de biomasse entre *Manobi* et *Paty* a continué à s'accroître (effet génotype:azote p-value = 0,01 \* sur la biomasse à maturité) avec une accumulation post florale de plus de 50 g pour *Manobi* et 23 g seulement pour *Paty*. La condition N/2 a atténué ce contraste, avec une accumulation de biomasse post-florale de 19 g de *Manobi* et de 20 g de *Paty*.



**Figure 39 : Effet du traitement azotée sur la production de grains pour chaque génotype**

Les étoiles représentent la p-value de chaque comparaison deux-à-deux des moyennes du traitement N et N/2 calculées indépendamment pour chaque génotype et corrigé avec un ajustement de Tukey.

Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*  
 N : traitement normal ; N/2 : Traitement contraignant

Les groupes (de quels groupes parles-tu ? Il n'y a aucune explication de ce que sont ces groupes dans la légende) sont calculés à partir du modèle décrit dans le matériel et méthodes. Les groupes sont établis indépendamment par traitement et corrigés par un ajustement de Tukey. Gr. DW : Poids de grains produit moyen dans un pot.

**Tableau 12 Effet du traitement azotée sur les composantes des rendements.**

Les échelles de couleurs sont générées par variable sur les deux modalités de traitement. N : Traitement Azote « normal » ; N/2 : Traitement Azote « stress ». Statistiques issues d'ANOVA faites sur le modèle décrit dans le matériel et méthode. Df : Degrés de liberté. Longueur de panicule en cm et poids de 1000 grains en g.

Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*  
 N : traitement normal ; N/2 : Traitement contraignant

Genotype	Nombre de panicules		Longueur Panicule		Taux de remplissage		Poids de 1000 grains	
	N	N/2	N	N/2	N	N/2	N	N/2
CIGALON	10,49 <sub>0,52</sub>	6,38 <sub>0,52</sub>	15,85	15,33	87% <sub>3%</sub>	84% <sub>3%</sub>	25,53 <sub>0,50</sub>	27,16 <sub>0,50</sub>
PATY	7,72 <sub>0,52</sub>	7,17 <sub>0,52</sub>	17,35	16,47	88% <sub>3%</sub>	92% <sub>3%</sub>	25,88 <sub>0,50</sub>	26,24 <sub>0,51</sub>
PACO	7,82 <sub>0,52</sub>	5,36 <sub>0,55</sub>	16,73	15,97	92% <sub>3%</sub>	94% <sub>3%</sub>	28,19 <sub>0,50</sub>	30,32 <sub>0,53</sub>
SEPYA_079	8,92 <sub>0,53</sub>	6,26 <sub>0,52</sub>	16,34	15,50	89% <sub>3%</sub>	89% <sub>3%</sub>	26,58 <sub>0,51</sub>	28,39 <sub>0,50</sub>
SEPYA_077	7,41 <sub>0,52</sub>	5,38 <sub>0,52</sub>	18,14	16,74	85% <sub>3%</sub>	86% <sub>3%</sub>	28,13 <sub>0,50</sub>	26,43 <sub>0,50</sub>
GINES	9,90 <sub>0,49</sub>	6,06 <sub>0,52</sub>	18,16	17,09	92% <sub>3%</sub>	94% <sub>3%</sub>	29,51 <sub>0,48</sub>	33,05 <sub>0,51</sub>
BRIO	9,49 <sub>0,52</sub>	6,38 <sub>0,52</sub>	15,04	14,77	89% <sub>3%</sub>	90% <sub>3%</sub>	23,36 <sub>0,50</sub>	24,36 <sub>0,50</sub>
GLEVA	8,81 <sub>0,52</sub>	5,72 <sub>0,52</sub>	14,02	13,15	95% <sub>3%</sub>	96% <sub>3%</sub>	30,87 <sub>0,51</sub>	30,69 <sub>0,50</sub>
MANOBI	9,61 <sub>0,52</sub>	6,26 <sub>0,52</sub>	17,80	16,87	92% <sub>3%</sub>	91% <sub>3%</sub>	32,45 <sub>0,51</sub>	33,17 <sub>0,50</sub>
mean	8,91 <sub>0,17</sub>	6,11 <sub>0,18</sub>	16,60	15,76	90% <sub>1%</sub>	91% <sub>1%</sub>	27,83 <sub>0,17</sub>	28,87 <sub>0,17</sub>
Bloc, Df=3	6.8e-05 ***		3.5e-04 ***		0.47 N.S		0.62 N.S	
Genotype, Df=9	1.7e-03 **		4.5e-32 ***		2.8e-03 **		1e-43 ***	
Azote, Df=1	7.4e-22 ***		3.2e-08 ***		0.63 N.S		2.8e-05 ***	
Genotype:Azote, Df=9	3.6e-02 *		0.82 N.S		0.99 N.S		7e-05 ***	

1 Le géotype le plus impacté en N/2 était *Cigalon* avec seulement 32 g de matière sèche de biomasse  
2 produite, soit une perte de 25 g par rapport à la condition N, résultant d'un impact fort du traitement à  
3 la fois sur ses capacités de production pré- et post-florales.

4 L'autre impact majeur de la fertilisation s'observe sur les concentrations en azote dans les  
5 différents tissus. La première chose à noter est que le taux d'azote a diminué significativement chez les  
6 plantes qui ont poussé en condition N/2 pour l'ensemble des tissus et à tous les stades (**Tableau 11**).  
7 Ainsi le taux d'azote dans les feuilles a diminué de 5% à 4,4% à tallage, et de 2,5 à 1,9% à floraison.  
8 Les teneurs d'azote dans les tiges ont également été impactées dans une moindre mesure avec 0,50% de  
9 réduction entre N et N/2 à tallage et 0,2% à floraison. Pour la maturité les grains comme les pailles ont  
10 été légèrement plus riches en azote en condition N qu'en N/2 (0,8% vs 0,62% et 1,36 % vs 1,12%).

11 À tallage, il n'y a pas de variabilité génotypique de la teneur en azote dans les tissus (p-  
12 value=0,06) ni dans leur interaction avec le traitement azote (p-value=0,9). En revanche à floraison, on  
13 constate des différences entre géotypes, équivalentes pour les teneurs en azote des feuilles et des tiges.  
14 Les concentrations en azote les plus élevées des feuilles et des tiges ont été mesurées chez les géotypes  
15 les plus précoces quel que soit la fertilisation (**Tableau 11**). Toutefois un géotype, *Gleva*, s'est  
16 distingué par sa teneur en azote dans les feuilles (2,48%) supérieure aux autres géotypes tardifs  
17 ( $\approx 2,17\%$ ). Enfin à maturité, on observe également une diversité génétique significative des taux d'azote  
18 dans les grains et les pailles. Toutefois, la tendance globale ne suit pas le schéma de précocité observé  
19 à floraison. Ainsi on retrouve des géotypes comme *Gleva* et *Cigalon* éloignés phénologiquement avec  
20 des pourcentages proches (0,87 et 0,85 pour les pailles en N, et 1,46 et 1,38 pour les grains en N/2).

21 **Les contrastes de production en grains entre géotypes se sont atténués dans la condition**  
22 **contraignante en azote en raison notamment d'un nombre de panicules plus homogène.**

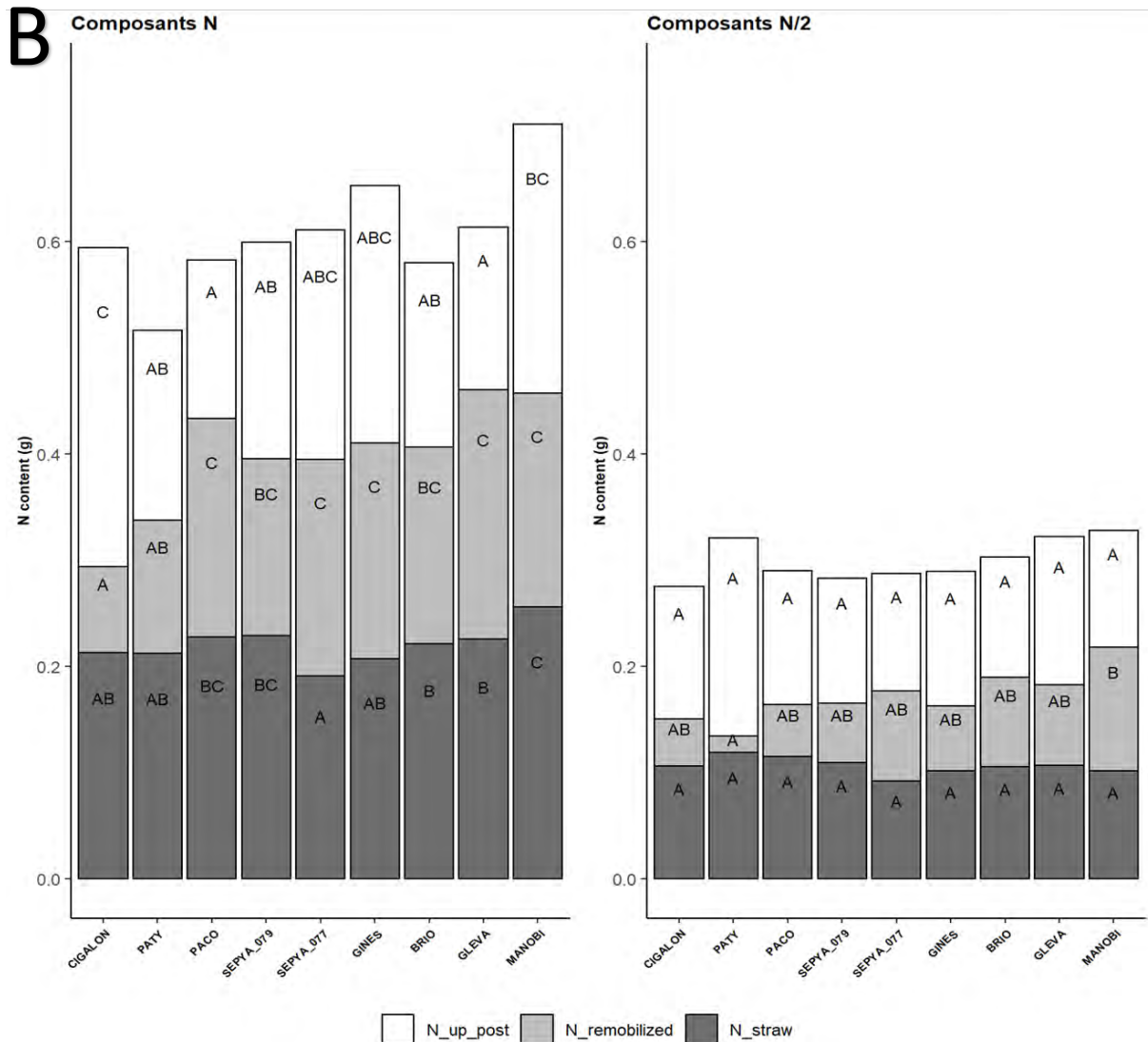
23 La production de grains a été nettement impactée par la fertilisation (**Figure 39**, p-value=  $< 2e-$   
24  $16$  \*\*\*) avec en moyenne 28 g de grains produits en N et 17 g en N/2, soit une diminution de 40% avec  
25 la diminution de 50% de la fertilisation (**Tableau 12** Effet du traitement azoté sur les composantes du  
26 rendements.). La production en grains a varié d'un géotype à l'autre avec des contrastes bien plus  
27 prononcés en N qu'en N/2 (Géotype:Azote p-value=0,002\*\*, **Tableau 12**). Ainsi en N, la gamme de  
28 production en grains s'est étendue de 23 (*Paco*) à 39 g (*Manobi*). En N/2, cette gamme s'est étendue de  
29 14 g (*Cigalon* et *Sepya029*) à 22 g (*Manobi*). *Paty* a été le seul géotype à ne pas être caractérisé par  
30 une diminution significative de sa production en grains malgré la réduction de la disponibilité en azote  
31 de N à N/2. Le différentiel N et N/2 a diminué de manière significative le nombre de panicules moyen  
32 par pot de 9 à 6 (p-value=  $7,4e-22$ \*\*\*), et la longueur de ces panicules de 16,6 à 15,75 cm (p-value=  
33  $3,2e-08$ \*\*\*) (**Tableau 12**).

34

1

**A**

	Genotype Df=9	Azote Df=1	Genotype:Azote Df=11
<i>N_Flo</i>	1.8e-12 ***	5.7e-41 ***	1e-04 ***
<i>N_Straw</i>	1.3e-05 ***	2.1e-41 ***	8.1e-04 ***
<i>N_remo</i>	7.2e-08 ***	9.8e-21 ***	1.1e-02 *
<i>N_post_Flo</i>	1.3e-02 *	6.7e-11 ***	3.6e-04 ***
<i>Ntot</i>	1.1e-10 ***	3.2e-50 ***	2.9e-09 ***



**Figure 40 : Diversité de prélèvement et d'utilisation de l'azote sur un panel de neuf génotypes selon la quantité d'azote apporté**

A. Tableau ANOVA du modèle appliqué aux quantités d'azote prélevées totales (*Ntot*), ainsi que celles prélevées avant (*N\_Flo*) et après floraison (*N\_post\_flo*), et la quantité d'azote remobilisé pendant le remplissage des grains (*N\_Remo*) et resté dans les pailles à maturité (*N\_Straw*)

Significativité établie tel que :  $p\text{-value} > 0.1$  NS ;  $p\text{-value} < 0.1$  Sub.S ;  $p\text{-value} < 0.05$  \* ;  $p\text{-value} < 0.01$  \*\* ;  $p\text{-value} < 0.001$  \*\*\*

B. Prélèvement et répartition de l'azote entre la part d'azote remobilisée et celle fixée dans les pailles. La somme de la part d'azote remobilisée et de la part d'azote fixée dans les pailles à maturité correspond au prélèvement d'azote pré-floral. Les groupes sont issus de test post-hoc effectués sur le même modèle que les ANOVAs de A., et sont calculés par modalités. *N\_straw* : quantité d'azote restant dans les pailles à récolte, *N\_remobilized* : quantité d'azote remobilisé, *N\_up\_post* : quantité d'azote prélevée après floraison.

N : traitement normal ; N/2 : Traitement contraignant

1 Ces deux composantes sont fixées tôt dans le cycle et donc ont été les premières affectées par l'effet de  
2 la contrainte azotée provoquant la réduction de la taille du puits ultime. Les deux composantes formées  
3 plus tardivement ont été soit non affectées par la contrainte (pas d'effet significatif sur le taux de  
4 remplissage, Azote p-value = 0.65, stable autour de 90%), soit augmentées (augmentation significative  
5 du poids de 1000Gr, p-value=2,8e-05\*\*\*, de 28g à 29 g). Cela vient probablement de fait de la réduction  
6 trop forte des deux premières composantes qui aurait déséquilibré les rapport sources/puits et permis au  
7 grains de se remplir davantage. Des variations dues aux génotypes sont également présentes pour ces  
8 trois composantes, mais seuls le nombre panicules (composante la plus précoce) et le 1000GrDW  
9 (composante la plus tardive qui permet de réguler l'équilibre entre source et puits) ont eu des réponses  
10 à l'azote variables d'un génotype à l'autre (génotype:azote p-value = 3,6e-02\* et 7,05-05\*\*\*). Ainsi le  
11 nombre de panicules de *Paty* n'a pas été modifié par le traitement et est resté stable à 7,5 panicules par  
12 plante en moyenne quel que soit la fertilisation. Le nombre de panicules des autres génotypes a été réduit  
13 par la contrainte azotée de deux panicules jusqu'à quatre pour *Cigalon*. La diversité génotypique pour  
14 le nombre de panicules a été plus faible en N/2 (de 5,3 à 7,2) qu'en N (de 7,4 à 10,8), ce qui correspond  
15 à la tendance de diminution des contrastes de productivité entre génotypes. Le 1000GrDW a subi  
16 d'importantes fluctuations dans les réponses à la fertilisation. Ainsi, une augmentation significative du  
17 1000GrDW (de 1,5 à 3,5 g) a été provoquée par la condition contraignante pour *Cigalon*, *Paco*,  
18 *Sepya079*, et *Gines*, tandis que cette même variable a été stable pour *Paty*, *Brio*, *Gleva* et *Manobi*. Enfin  
19 *Sepya077* a été le seul génotype dont le 1000GrDW a diminué de 2 g en condition de fertilisation N/2.

#### 20 Les quantités d'azote prélevées et remobilisé et la réponse à la fertilisation différent selon le 21 génotype

22 Les quantités d'azote prélevées ont également était impactées par la fertilisation et cela se  
23 confirme dans la **Figure 40 A**. Ainsi la quantité d'azote pré-florale prélevée est 2,5 fois moins importante  
24 en N/2 ( $\approx 0,15$  g) qu'en N ( $\approx 0,40$  g). Cette observation est aussi valide pour la quantité d'azote post-  
25 florale prélevée (0,21 g en N, et 0,13 g en N/2) et celle de la totalité du cycle (0,6 g en N, et 0,3 g en  
26 N/2). Cette fluctuation est encore plus importante pour la quantité d'azote remobilisée qui passe de 0,17  
27 g en condition N à 0,06 g en N/2.

28 Le prélèvement total d'azote (sur la durée du cycle) en condition N a été caractérisé par une  
29 forte diversité génotypique (**Figure 40 A**). *Paty* est la variété qui a prélevé le moins d'azote (0,52 g) car  
30 elle a cumulé un prélèvement pré-floral relativement bas par rapport aux autres (0,34 g) non compensé  
31 par le prélèvement post-floral (0,18 g) (**Figure 40 B**). A l'opposé, *Manobi*, a été le cultivar au  
32 prélèvement d'azote le plus élevé (0,71 g) avec des quantités élevées pendant la période pré-florale (0,45  
33 g) et pendant la période post-florale (0,25 g) (**Figure 40 B**). Ces deux variétés ont été caractérisées par  
34 des taux proches de 2/3 en pré-floral et 1/3 en post-floral.



1 Les prélèvements pré- et post-floraux en condition N ont été également distingués génotypiquement  
2 (**Figure 40 A**). On peut alors classer des variétés favorisant le prélèvement pré-floral au prélèvement  
3 post-floral. C'est le cas de *Paco* et de *Gleva* qui ont prélevé respectivement 0,43 g et 0,46 g d'azote à la  
4 floraison, mais seulement 0,15 g après floraison, soit 73% de l'azote total a été prélevé avant floraison  
5 (**Figure 40 B**). A l'opposé, le prélèvement post-floral de *Cigalon* a été le plus élevé (0,30 g), jusqu'à  
6 être équivalent au prélèvement pré-floral. On peut classer la plupart des autres génotypes (*Sepya079*,  
7 *Sepya077*, *Gines*, et *Brio*) dans une catégorie intermédiaire où les quantités pré-florales et post-florales  
8 prélevées étaient autour de 0,4 et de 0,2 g, soit un ratio respectif de 2/3 et 1/3.

9 Les contrastes dans les profils de prélèvement d'azote se sont fortement atténués en condition  
10 N/2. En effet, dans cette condition, le prélèvement pré-floral de la plupart des génotypes a chuté autour  
11 de 0,17 g (**Figure 40 B**). Et un contraste significatif a été observé entre les génotypes au cycle le plus  
12 court, *Cigalon* et *Paty* d'une part, et le génotype au cycle le plus long *Manobi* d'autre part, avec  
13 respectivement 0,15 g, 0,3 g et 0,22 g d'azote prélevés. Les capacités de prélèvement pré-floral relatives  
14 d'un génotype à l'autre ne semblent pas avoir été impactées par la disponibilité en azote. En revanche,  
15 la quantité post-florale d'azote prélevée de *Paty* a été caractérisée par une tendance inverse à celle en  
16 condition N : sous contrainte azotée (N/2), le prélèvement post-floral d'azote de cette variété (60% du  
17 prélèvement total) semblait stimulé (**Figure 40 B**). En conclusion, ces observations semblent confirmer  
18 un prélèvement post-floral d'azote plus élevé pour les variétés précoces, particulièrement marqué en  
19 condition N pour *Cigalon* et N/2 pour *Paty*.

20 **En condition favorable la quantité d'azote remobilisée a varié en fonction de la quantité**  
21 **d'azote prélevée alors qu'en condition contraignante la quantité d'azote remobilisée a**  
22 **varié avec la phénologie.**

23 La diversité génotypique pour la remobilisation de l'azote a suivi celle du prélèvement  
24 pré-floral (**Figure 40 B**) : en condition N, les plantes qui ont prélevé moins de 0,36 g d'azote (*Cigalon*  
25 et *Paty*) étaient également celles qui ont remobilisé le moins d'azote (entre 0,7 g et 0,13 g). A l'opposé  
26 les génotypes qui ont davantage prélevé d'azote avant floraison sont ceux qui remobilisé davantage vers  
27 les grains, soit de 0,17 g (*Sepya079*) à 0,24 g (*Gleva*) d'azote (**Figure 40 B**). Les quantités d'azote  
28 restantes dans les pailles à maturité étaient relativement proches d'un génotype à l'autre, autour de 0,2 g.  
29 Cette valeur pourrait être un seuil au-delà duquel les génotypes de ce panel ont plus été capables de  
30 remobiliser. Ainsi le potentiel de remobilisation d'un génotype pourrait être directement lié à la  
31 différence entre la quantité de prélèvement pré-florale d'azote et ce seuil.

1 La relation entre azote prélevé et azote remobilisé n'a pas été aussi nette avec la modalité N/2.  
2 En effet, les capacités de remobilisation de *Paty* ont été plus faibles que celles de *Manobi*, *Brio*, *Gleva*  
3 et *Sepya077* (moins de 0,02 g pour *Paty* comparé à une moyenne de 0,9 g pour les autres, **Figure 40B**).  
4 Ainsi *Paty* s'est fortement distinguée en N/2 par la quantité d'azote contenue dans les pailles à maturité  
5 (80% de l'azote prélevé avant floraison).

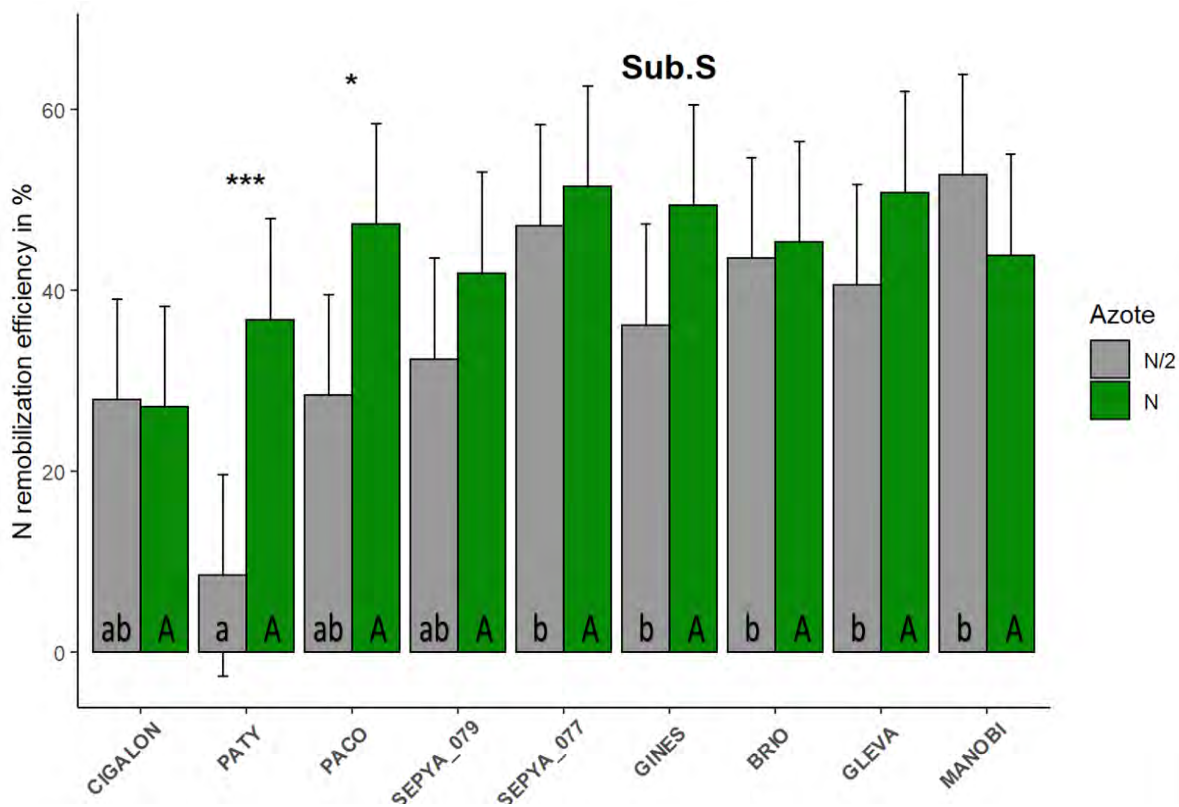
6 Les valeurs de l'efficacité de remobilisation de l'azote (NRE, N Remobilisation efficiency) ont  
7 confirmé ces observations (**Figure 41**). D'une part, le taux moyen de remobilisation de l'azote diminue  
8 de la condition N à la condition N/2 de 43% à 33%. D'autre part, cette diminution n'est pas systématique  
9 d'un génotype à l'autre. Ainsi *Cigalon* a remobilisé 29% de l'azote prélevé quel que soit le traitement.  
10 A l'opposé, *Paty* et *Paco* ont été les seuls génotypes dont la part d'azote remobilisée a chuté  
11 significativement de 38 à 8% et de 44 à 34% de la modalité N à la modalité N/2. Une diversité  
12 génotypique dans la NRE n'a été observée qu'en condition contraignante : les génotypes les plus  
13 précoces ont également été les moins efficaces à remobiliser l'azote en N/2. Il est intéressant de constater  
14 que le contraste de NRE entre génotypes n'était significatif qu'en condition contraignante désignant  
15 les variétés les plus précoces comme les moins efficaces. Cela pourrait venir du fait que les quantités  
16 prélevées avant floraison pour ces deux génotypes étaient trop faibles, le peu d'azote contenu devaient  
17 alors rester dans les feuilles pour maintenir leur activité.

18 **Certains génotypes ont modulé leur efficacité de prélèvement d'azote post-florale en fonction**  
19 **de la condition de fertilisation, mais *in fine* tous les génotypes ont la même efficacité de**  
20 **prélèvement d'azote totale.**

21 La NUpE totale, n'a été impactée ni par la fertilisation (p-value=0,5) ni par le génotype (p-  
22 value=0,14) avec en moyenne 39% de l'azote disponible prélevé dans tous les cas (données non  
23 montrées). Ceci indique que même si la fertilisation a eu un impact sur l'efficacité de prélèvement à des  
24 stades distincts du cycle, l'efficacité de prélèvement sur le cycle entier a été la même quel que soit le  
25 génotype. C'est bien la répartition du prélèvement sur l'ensemble du cycle qui a distingué les génotypes  
26 entre eux.

27 L'efficacité de prélèvement pré-floral (NUpE pre-flo) de l'azote a été stable d'un génotype à  
28 l'autre avec en moyenne 36% de l'azote disponible prélevé à floraison (génotype p-value = 0,36). En  
29 revanche, les génotypes ont été globalement plus efficaces en N qu'en N/2 (p-value = 6.8e-06 \*\*\*) avec  
30 respectivement 38% et 34% de l'azote disponible prélevé (Données non montré). Ainsi, une quantité  
31 plus élevée d'azote disponible déclenche un prélèvement plus important avant floraison. La quantité  
32 brute prélevée a ainsi été plus de deux fois supérieure dans la modalité N que dans la modalité N/2  
33 (**Figure 40**). Cette modulation d'efficacité selon le traitement s'est conservée d'un génotype à l'autre  
34 (génotype:azote p-value= 0,25).

1



**Figure 41 : Efficacité de remobilisation (NRE) de l'azote pendant le remplissage des grains selon la traitement azoté pour chacun des neuf génotypes**

La NRE (Eq 27) représente la part d'azote présente dans la plante à floraison qui est retrouvée dans les grains à maturité. Les étoiles représentent la p-value de chaque comparaison deux-à-deux des moyennes du traitement N et N/2 calculées indépendamment pour chaque génotype et corrigé avec un ajustement de Tukey.

N : traitement normal ; N/2 : Traitement contraignant

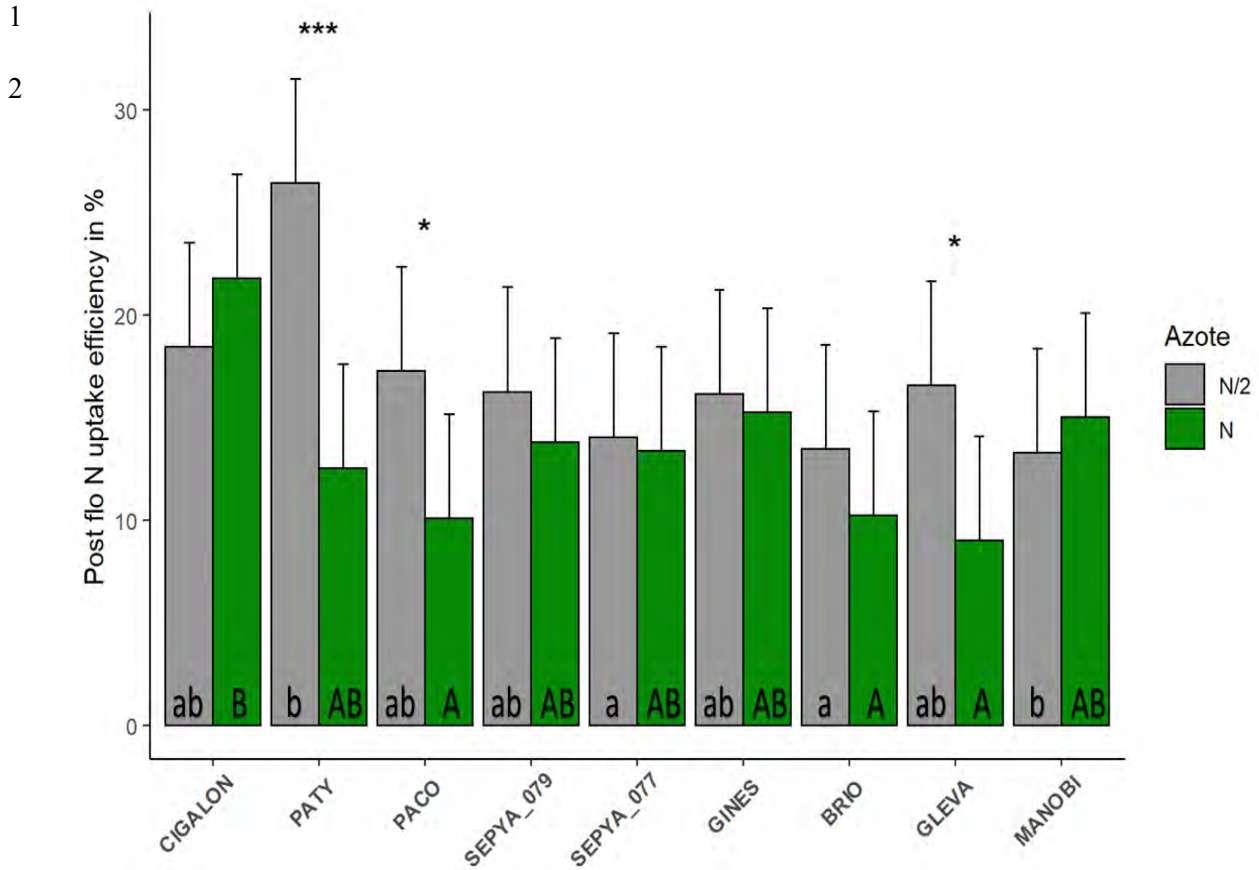
Significativité établie tel que :  $p\text{-value} > 0.1$  NS ;  $p\text{-value} < 0.1$  Sub.S ;  $p\text{-value} < 0.05$  \* ;  $p\text{-value} < 0.01$  \*\* ;  $p\text{-value} < 0.001$  \*\*\*

Les groupes statistiques sont calculés à partir du modèle décrit dans le matériel et méthodes. Les groupes des traitement N et N/2 sont établis indépendamment et corrigés par un ajustement de Tukey avec un seuil à 0,05

1 Le différentiel de fertilisation a provoqué une augmentation globale de l'efficacité de  
2 prélèvement post floral en N/2 ( $p$ -value=0,0059\*\*) avec 17% face à 14% (**Figure 42**). Toutefois la  
3 diversité génotypique sur le prélèvement post-floral a varié également selon le traitement  
4 (génotype:azote  $p$ -value=0,04\*). En effet, on a constaté une forte modulation d'efficacité chez *Paty*,  
5 *Paco* et *Gleva* dont les efficacités ont augmenté de 14% pour *Paty*, et 7% pour les deux autres en  
6 condition contraignante (N/2). Cette augmentation pendant la phase post-florale a permis à ces variétés  
7 d'être aussi efficaces sur l'ensemble du cycle que *Cigalon* dont l'efficacité de prélèvement globale  
8 (20%) n'a pas été modulée par la fertilisation. A l'inverse, *Brio* est resté un génotype peu efficace pour  
9 le prélèvement post-floral quel que soit le traitement. Ces résultats indiquent que les mécanismes de  
10 régulations du prélèvement post-floral ont été stimulés par des quantités moindres d'azote seulement  
11 chez certains génotypes mais que les génotypes précoces ont été ceux au prélèvement post-floral le plus  
12 efficace, en condition N (*Cigalon*) et N/2 (*Paty*) (**Figure 42**).

13 **Une disparité de réponse de l'efficacité d'utilisation de l'azote prélevé (NUtE) selon la**  
14 **condition de fertilisation a induit une variabilité de l'efficacité d'utilisation de l'azote**  
15 **(NUE) pour certains génotypes selon la condition.**

16 La compilation des données de biomasses et de prélèvement nous permet d'évaluer la NUtE de  
17 production de biomasse à chaque stade. La NUtE a globalement diminué entre le tallage et la floraison  
18 passant de 95 à 80 g de matière sèche produite par g d'azote prélevé ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ N}$ ) en condition N et de 115  
19  $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ N}$  à 105  $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ N}$  en N/2 (**Figure 43 A**). La NUtE a ensuite augmenté jusqu'à maturité pour atteindre  
20 120  $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ N}$  en condition N/2 et 100  $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ N}$  en condition N. On constate que (i) la période de floraison  
21 est moins propice à une forte production de biomasse, probablement dû au ralentissement de la  
22 croissance avec la mise en place des inflorescences, à la mise en place de réserves en vue du remplissage  
23 des grains, et à une rétroaction négative du remplissage des puits intermédiaires (feuilles et entre-nœuds)  
24 sur la stimulation de la source (prélèvement d'azote); (ii) les génotypes produisent plus efficacement de  
25 la biomasse, en rapport à l'azote prélevé, en condition contraignante de disponibilité en azote, avec  
26 l'hypothèse de davantage de drainage de l'azote disponible en condition favorable. De même que pour  
27 la NUtE biomasse, la NUtE de la production de grains a été significativement plus élevée pour tous les  
28 génotypes en N/2 comparé à N (**Figure 43 B**). Le génotype le plus efficace était *Manobi* dans les deux  
29 conditions avec 78  $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ N}$  en N/2 et 55  $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ N}$  en N. Le contraste le plus important entre N et N/2 a été  
30 observé chez *Paty* dont l'efficacité a augmenté de 12  $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de N à N/2.



**Figure 42 : Efficacité de prélèvement de l'azote (NUpE) post-florale selon les deux conditions azotées**

La NUpE post florale (Eq 26) représente la part d'azote prélevé pendant la phase de remplissage rapportée à la quantité estimée d'azote relâché à la fin du cycle. Les étoiles représentent la p-value de chaque comparaison deux-à-deux des moyennes du traitement N et N/2 calculées indépendamment pour chaque génotype et corrigé avec un ajustement de Tukey.

Les groupes statistiques sont calculés à partir du modèle décrit dans le matériel et méthodes. Les groupes N et N/2 sont établis indépendamment et corrigés par un ajustement de Tukey.

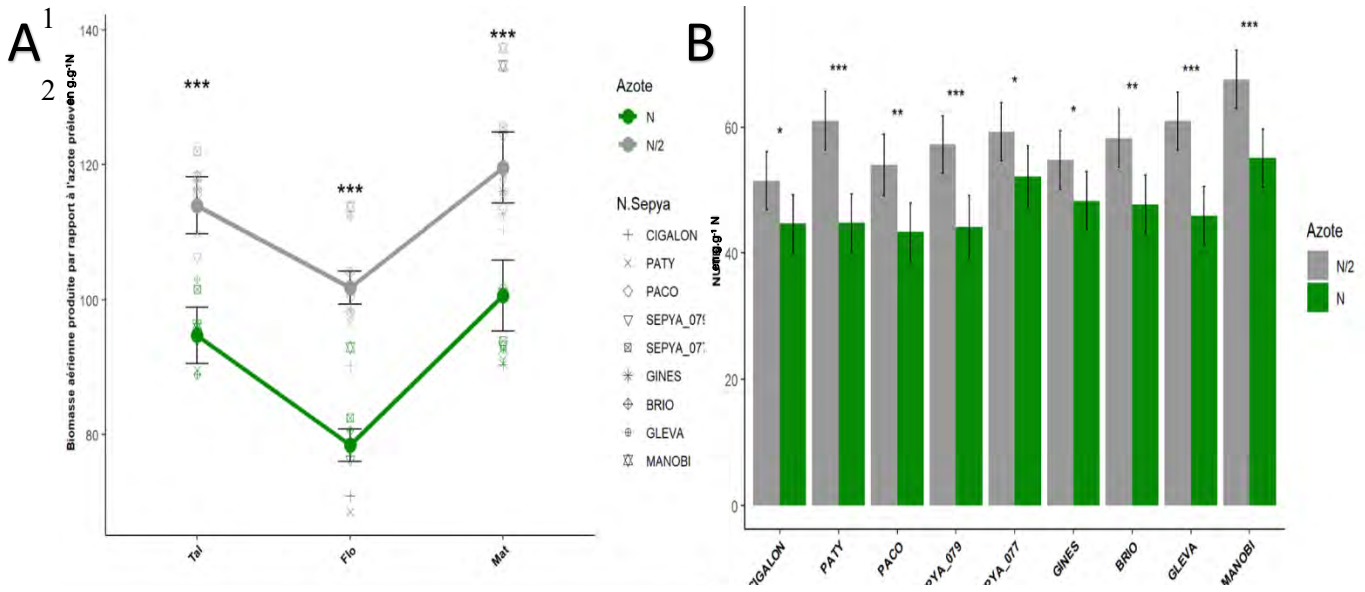
N : traitement normal ; N/2 : Traitement contraignant

Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*

1 La NUE, intégrant la NUpE et la NUtE, a logiquement augmenté globalement en condition de contrainte  
2 azotée (p-value= 2,1e-07 \*\*\*) avec en moyenne 22 g de matière sèche de grains produite pour 1 g  
3 d'azote disponible en N/2 face à 18 g.g<sup>-1</sup> en N (**Figure 44 A**). Cependant, la diversité génotypique  
4 (Génotype:Azote p-value= 0,0087\*\*, **Figure 44 A**) a mis en valeur en N/2 trois génotypes dont la NUE  
5 a été significativement plus élevée : *Paty*, *Brio* et *Gleva*. A l'inverse, la NUE de *Cigalon*, *Sepya077* et  
6 *Gines* n'a pas varié significativement entre les deux traitements. Ces résultats signifient que ces derniers  
7 génotypes ont utilisé plus efficacement le surplus d'azote en N pour la fabrication de grains, tandis que  
8 *Paty*, *Brio* et *Gleva* sont des variétés dont l'azote supplémentaire n'a pas été pas utilisé de manière  
9 efficace, comme cela est illustré par la NUE Agronomique (**Figure 44 B**). Ainsi, la variabilité de la NUE  
10 agronomique indique que *Cigalon*, *Gines* et *Manobi* ont produit en moyenne 18 g de matière sèche de  
11 grains par g d'azote disponible supplémentaire alors que *Paty*, *Gleva* et *Brio* en ont produit  
12 respectivement 5, 9 et 11 g (**Figure 44 B**).

13 **Les caractères précoces liés au prélèvement et à la productivité sont anti-corrélés aux**  
14 **caractères tardifs.**

15 La matrice de corrélation présentée en **Figure 45** représente l'ensemble des relations deux à  
16 deux des variables mesurées dans chaque condition. Une classification hiérarchique a été appliquée sur  
17 cette matrice et trois clusters de variables ont été mis en évidence. Le groupe I contient quatre variables  
18 liées au mesures de prélèvements d'azote tardives (NUpE, N\_post\_Flo, Flo.%N.Leaf, et le %N\_Gr), les  
19 deux variables liées à la mise en place du rendement par rapport à la biomasse totale (l'Harvest Index,  
20 HI et l'efficacité de tallage) ; deux variables liées à la photosynthèse (Assimilation de CO<sub>2</sub> et  
21 Conductance en vapeur d'eau) ; et enfin le nombre de feuilles vertes à maturité. Sur la base de ces  
22 corrélations, il est intéressant de penser qu'une concentration élevée d'azote dans les feuilles à floraison  
23 entraînerait une activité photosynthétique importante de la feuille drapeau, ce qui s'associerait  
24 également avec le maintien des feuilles vertes et une bonne conversion des talles en talles productives.  
25 L'ensemble des variables de ce groupe ont des relations positives les unes avec les autres dans les deux  
26 conditions à l'exception de %N\_Gr, corrélé uniquement au stay-green et au taux d'azote à floraison. De  
27 plus, le HI n'a montré des corrélations qu'en condition N/2 (**Figure 45**). Le groupe II contient des  
28 variables liées aux prélèvements d'azotes précoces (Ntot à tallage, Tal.%N. Leaf , N\_pre\_Flo, et  
29 N\_Rem), ainsi que des variables liées à la biomasse végétative accumulée jusqu'à floraison  
30 (Flo.ShDW, Flo.TilNB) et sa remobilisation post-florale (DW\_Translo). Les deux dernières variables  
31 sont le FiRate et l'évapotranspiration (**Figure 45**). Ces variables ont montré des corrélations positives  
32 très fortes les unes avec les autres (0,4<r<sup>2</sup><0,9) avec très peu de variation d'un traitement à l'autre. Le  
33 FiRate et le Tal.%N. Leaf ont été en revanche plutôt indépendants en N/2. Ce groupe permet d'illustrer  
34 une stratégie expansive chez les plantes concernées: un faible taux d'azote dans les feuilles à tallage  
35 permettrait de favoriser au maximum le développement de la surface foliaire et le tallage.



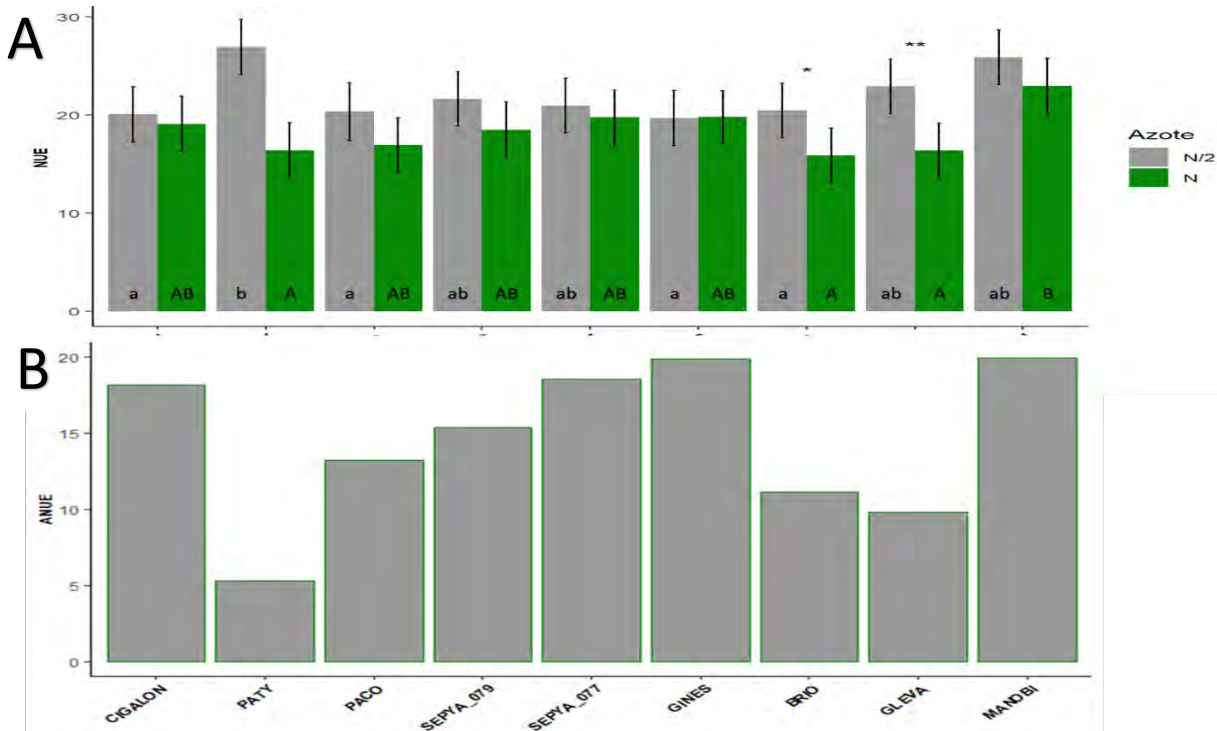
**Figure 43 : Diversité de la Nitrogen Utilization Efficiency (NUE) selon le traitements**

A. Evolution de la NUE de production de biomasse totale du stade tallage au stade maturité. Chaque point relié représente la moyenne de NUE de tous les génotypes à chaque stade. La moyenne de chaque génotype est également représentée autour de la moyenne générale. Les statistiques sont issues du calcul de la p-value de l'effet azote d'après l'anova faite sur le modèle.

B. Effet du traitement azoté sur la NUE de production de grains pour chacun des 9 génotypes.

N : traitement normal ; N/2 : Traitement contraignant

Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*



**Figure 44 : Effet du traitement azoté sur la Nitrogen Use Efficiency (A) et les conséquences sur l'Agronomie NUE (B) pour chacun des 9 génotypes**

On décrit la NUE comme le poids de grains produit par azote apporté (en g.g<sup>-1</sup>N, Eq 20), et l'ANUE comme le gains en production par apport supplémentaire d'azote (en g.g<sup>-1</sup>N, Eq 28). Les étoiles représentent la p-value de chaque comparaison deux-à-deux des moyennes du traitement N et N/2 calculées indépendamment pour chaque génotype et corrigé avec un ajustement de Tukey.

Les groupes statistiques sont calculés à partir du modèle décrit dans le matériel et méthodes. Les groupes N et N/2 sont établis indépendamment et corrigés par un ajustement de Tukey.

N : traitement normal ; N/2 : Traitement contraignant

Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*

1 Ceci impliquerait alors un fort taux d'azote global nécessitant donc de grandes forces de puits (longueur  
2 de panicule) pour accumuler une quantité élevée de carbone et d'azote pendant le remplissage.

3 Les variables du groupe I sont caractérisées par un grand nombre de corrélations négatives avec  
4 celles du groupe II, sauf pour l'HI qui était indépendant des variables du groupe II en N (**Figure 45**).  
5 Cet ensemble de corrélations négatives renforce la distinction entre génotypes, parmi ceux favorisant  
6 l'accumulation pré-florale de biomasse et une expansion rapide et ceux favorisant l'accumulation de  
7 biomasse et le prélèvement d'azote après floraison. L'absence de corrélation de l'HI en N indique que  
8 les plantes auraient modulé la répartition de leur biomasse finale qu'en condition contraignante. De plus,  
9 le prélèvement d'azote pré-floral associé à une production de biomasse avant floraison a impacté  
10 négativement les teneurs en azote des tissus plus âgés (grains et feuilles à floraison) probablement par  
11 effet de dilution. Cette diminution des teneurs en azote a été associée aussi à une diminution de l'activité  
12 photosynthétique, à une sénescence accélérée des feuilles et à une remobilisation accrue de l'azote et de  
13 la biomasse. Enfin on constate que l'efficacité de tallage était anti-corrélée avec l'ensemble du groupe  
14 II dont le nombre de panicules et le nombre de talles à floraison. Cela signifie que les plantes ayant  
15 développé moins de talles ont été celles qui ont réussi à en convertir la majorité en talles productives.

16 **La surface de la feuille drapeau est anti-corrélée au caractère « stay green » et indique des**  
17 **variétés à fort potentiel d'utilisation de l'azote en condition favorable.**

18 Le groupe III peut se placer à part des deux autres en raison d'un nombre de corrélations moindre  
19 et inconstant d'une condition à l'autre. Ce groupe contient la plupart des variables liées au rendement :  
20 production de grains, efficacité d'utilisation de l'azote (NUE et NUtE), poids de 1000 grains, nombre et  
21 longueur des panicules et l'accumulation de biomasse post-floraison. On y retrouve également la  
22 biomasse à tallage, la quantité d'azote finale et la surface foliaire de la feuille drapeau (LA\_FD). La  
23 principale constatation à faire concerne la corrélation négative entre la surface foliaire des feuilles  
24 drapeau avec des caractères du groupe I comme le caractère stay-green (pour les deux traitements), le  
25 taux d'azote dans les feuilles à floraison et le taux d'azote dans les grains (en condition N) (**Figure 45**).  
26 De plus, la LA\_FD est corrélée dans les deux conditions avec les variables liées au rendement (NUTE,  
27 NUE, GP) et des variables du groupe II comme la quantité d'azote pré-floral prélevé et la quantité  
28 d'azote remobilisée. Toutefois elle perd la corrélation avec la NUE en N/2. La surface de la feuille  
29 drapeau semble être un bon indicateur (positif) de l'efficacité d'utilisation de l'azote en condition  
30 favorable et (négatif) de la capacité de prélèvement post-floral de l'azote par sa corrélation négative  
31 avec le caractère stay-green.

32



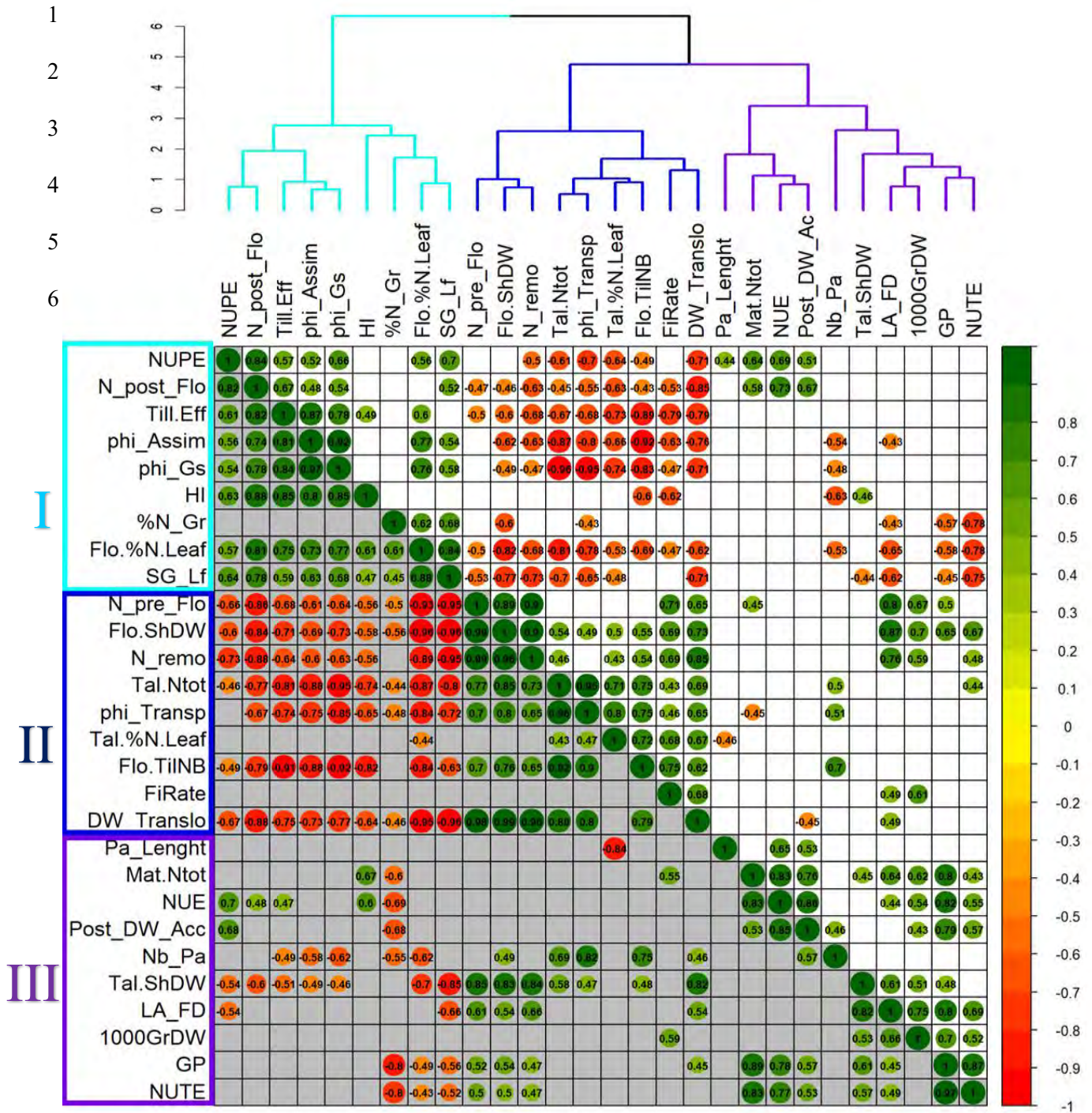


Figure 45 : Matrice de corrélation des variables physiologiques par traitement

Chaque point représente une corrélation noté significative au seuil de 99%. L'échelle de couleur décrit la valeur du r<sup>2</sup> de la corrélation. Chaque valeur a été calculée à partir des 4 répétitions (A,B, I et II) des 9 génotypes, ceci pour chaque traitement (traitement N sur fond blanc et N/2 sur fond gris). Les variables ont été classées selon leurs proximités dans une classification hiérarchique selon la méthode de liaison complète.

**Tal.TiINB**: Nombre de talles à Tallage; **Tal.ShDW**: Biomasses sèches à Tallage; **Tal.%N.Leaf**: Taux d'azote dans les feuilles à Tallage; **Tal.Ntot**: Quantité d'azote totale à tallage; **Flo.TiINB**: Nombre de talle à Floraison; **LA\_FD**: Surface moyenne des feuilles drapeau; **Flo.ShDW**: Biomasses sèches à Floraison; **Flo.%N.Leaf**: Taux d'azote dans les feuilles à Floraison; **N\_pre\_Flo**: Quantité d'azote prélevée à Floraison; **SG\_Lf**: Nombre de feuille toujours vertes; **Nb\_Pa**: Nombre de panicules final; **1000GrDW**: Poids de 1000 Grains; **FiRate**: Taux de remplissage; **Pa\_Lenght**: Longueur moyenne des panicules; **GP**: Poids de grains produits; **%N\_Gr**: Taux d'azote dans les grains; **Mat.Ntot**: Quantité finale d'azote prélevés; **NUPE**: Nitrogen Uptake Efficiency; **NUE**: Nitrogen Use Efficiency; **HI**: harvest Index; **NUTE**: Nitrogen Utilization Efficiency; **N\_post\_Flo**: Quantité d'azote prélevée après floraison; **phi\_Assim**: Assimilation du CO<sub>2</sub>; **phi\_Transp**: Evapotranspiration; **phi\_Gs**: Conductance de vapeur d'eau; **Post\_DW\_Acc**: Biomasse accumulée après floraison; **DW\_Translo**: Biomasse remobilisée après floraison; **Till.Eff**: Efficience de tallage; **N\_remo**: Quantité d'azote remobilisé

## Discussion Générale

### **Des conditions expérimentales très contrastées...**

Dans ce chapitre nous avons décrit deux expérimentations menées sur deux années dont le but était d'étudier l'utilisation de l'azote chez des riz *japonica tempérés* adaptés à la riziculture européenne en conditions contrôlées et sur le terrain. Avant de mettre en relation les différents résultats obtenus il est important de préciser les points sur lesquels ces dispositifs diffèrent et se rejoignent au-delà des différences évidentes des contraintes environnemental d'une expérimentation terrain.

Tout d'abords on peut faire remarquer que la composition des deux panels est assez similaire. En effet, sept génotypes (67% des génotypes) ont été étudiés dans les deux expérimentations : *Cigalon*, *Paty*, *Manobi*, *Gines*, *Paco*, *Brio*, et *Gleva*. Ensuite il faut souligner des différences concernant la période de culture qui est connue pour avoir un impact sur l'initiation florale de certaines variétés selon les durées d'ensoleillement, et leur allongement ou réduction dépendantes de la saison, (Baker et al. 1990). Bien qu'effectuée en serre, les expérimentations en conditions contrôlées n'ont certes pas été soumises aux aléas climatiques, mais ont toutefois été soumises à une variation de photopériode différente des plantes au champ, que l'éclairage LED ne pouvait pas entièrement compenser. Ainsi ayant été semées première quinzaine d'avril et récoltées courant juillet les plantes en serre ont connu un cycle d'allongement suivis d'un cycle de réduction de la photopériode. A l'inverse les plantes au champs, semée première quinzaine de mai, ont subi une période d'allongement courte suivie d'une période de réduction du temps d'ensoleillement. De plus nous n'avons pas pris en compte les variations journalières de températures sur le terrain. Ces dernières impliquent des temps thermiques (21,8°C en moyenne pendant la phase végétatives) différents de ceux de la serre où la température quotidienne était constante et plus élevée (26,5°C). Ces différences de photopériode et de température peuvent expliquer en partie les écarts de phénologie de certains génotypes entre les deux expériences. Enfin il est important de souligner les différences entre les apports d'azote : les expérimentations en serre et au champ ont différé par la nature même des engrais apportés, la répartition des apports et la nature du sol. En effet les plantes au champ ont été fertilisées selon les préconisations habituelles pour la culture du riz (Mutters et al. 2010) à deux ou trois reprises, avec une fertilisation NPK en premier, et de l'urée pour les apports suivants. Les plantes en serre, quant à elles, ont été cultivées en pot, ont été fertilisées par l'apport au semis d'engrais retard NPK, dont la caractéristique principale est de relâcher les éléments de manière continue dans le temps. Or ces méthodes de fertilisation ont montré qu'elles aboutissaient à des productivités significativement différentes dans des conditions similaires (Guo et al. 2016; Ke et al. 2017; L. Wang et al. 2018). De plus, la condition N/2 impliquait également une disponibilité moindre des éléments P et K.

### **...mais des résultats en commun prometteurs**

Malgré les différences des conditions expérimentales, plusieurs résultats sont communs aux expérimentations au champ et en serre (i) l'ensemble des génotypes a prélevé la même quantité d'azote au moment de la floraison, en dépit d'une variabilité de la durée de la phase végétative selon leur précocité ; (ii) les génotypes se sont distingués par leur capacité de remobilisation associée négativement à leur capacité de prélèvement post-floraison ; (iii) cette distinction était liée d'une

part à la précocité (plus un génotype était précoce, plus il a prélevé d'azote après floraison) et d'autre part aux capacités de production de biomasse selon le stade (un prélèvement d'azote post-floral élevé est associé à une faible production pré-florale et inversement), et (iv) une petite surface individuelle de la feuille drapeau est un marqueur morphologique de la capacité à prélever de l'azote en post floraison et du stay-green.

On retrouve une diversité entre génotype dans l'utilisation globale de l'azote qui semble liée au prélèvement post floral, surtout dans des conditions que l'on peut considérer comme optimales ; à savoir la condition N en serre et l'année 2019 avec la fertilisation N150 au champs. En effet les génotypes *Cigalon* et *Manobi* sont restés les génotypes qui prélevaient le plus d'azote après floraison tandis que *Paco* et *Gleva* étaient les génotypes qui en prélevaient le moins. Toujours en accord avec les résultats du champ, les durées remplissage en serre étaient aux alentours de 40 jours pour tous les génotypes. Ainsi quand on associe la durée homogène du remplissage avec l'apport mesuré et continue de l'engrais retard, seul le fonctionnement intrinsèque des génotypes permet d'expliquer les contrastes de prélèvement post floraux. Cela permet de souligner une vraie diversité génétique pour cette capacité. Cependant les contrastes concernant le prélèvement post floral étaient plus fort au champ qu'en serre. Ainsi on ne peut exclure l'hypothèse suivante : au champ les génotypes plus tardifs n'ont pas eu accès à l'ensemble de l'azote au moment où les besoins étaient les plus grands, à savoir l'initiation paniculaire (X. Chen 2015; Xiong et al. 2018) ; car celle-ci est mise en lorsqu'une partie de la fertilisation a déjà été lessivée ou volatilisée (L. Zhao et al. 2010; Ke et al. 2017).

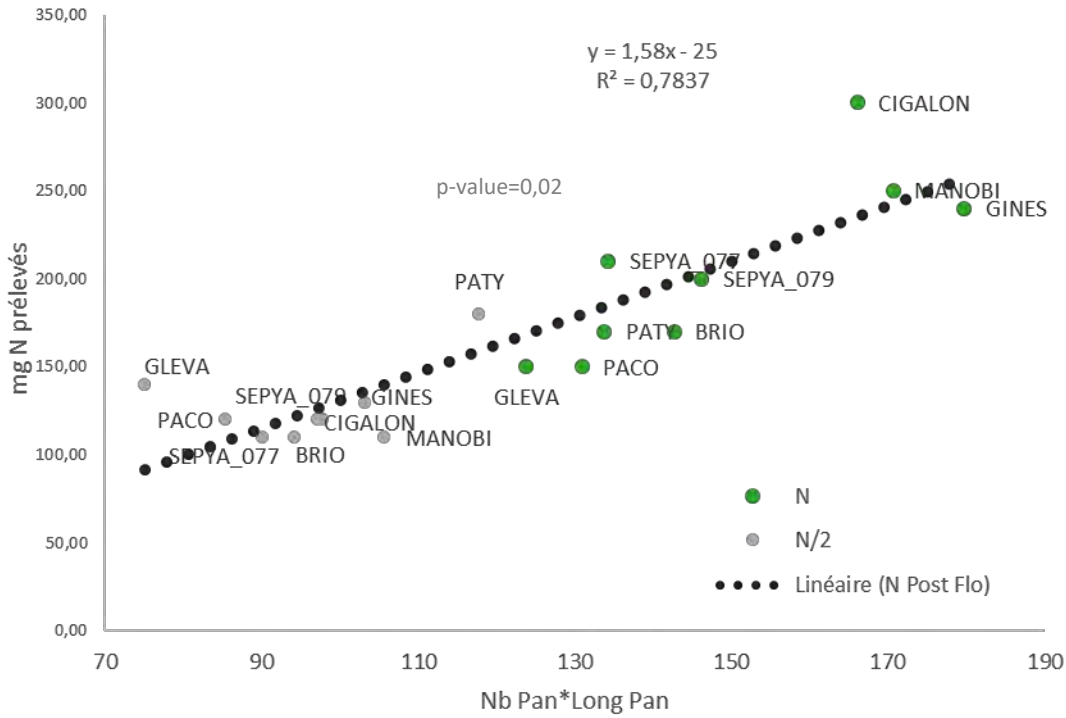
Un autre résultat commun entre les deux conditions était l'augmentation des efficacités de prélèvement et d'utilisation dans des conditions contraignantes. En effet l'absence de la dernière fertilisation au champ ainsi que la condition N/2 en serre avait pour principal objet l'analyse du comportement des génotypes sous contrainte de disponibilité en azote. Les résultats N100/2019 au champs n'ont montré que deux génotypes se distinguant sur leur capacité à prélever après floraison, *Cigalon* et *Paco*. En serre, seul *Paty* a montré une utilisation de l'azote supérieure aux autres en N/2. De même cette variété a montré une tendance à stimuler son prélèvement post floral en condition contraignante. Ce comportement avait également été relevé au champ. Ces résultats soulignent une homogénéisation de la répartition des prélèvements d'azote quand les plantes sont cultivées en condition contraignante en azote.

Enfin nous avons globalement constaté que les efficacités d'utilisation augmentent en condition de stress. En effet l'année 2018 au champ (tout traitement confondu) et la condition N/2 peuvent se caractériser par des disponibilités en azote moindres et c'est dans ces environnements contraignants que la NUtE (biomasse et grains) de l'ensemble des génotypes a augmenté. Cette augmentation d'efficacité avait déjà été observée dans plusieurs études (L. Jiang et al. 2004; Y.-L. Zhang et al. 2009; Mu et al. 2016). A contrario les conditions favorables N150 et N mettent en évidence les génotypes les plus aptes à valoriser le surplus d'azote en rendement, et donc au potentiel les plus élevés, ce qui est notamment le cas de *Manobi*.

### Le développement végétatif précoce a impacté la quantité de prélèvement d'azote post-florale

La force de puits exercée par les grains reste une hypothèse viable pour expliquer l'induction du prélèvement post-floral (Mi et al. 2000; Jianchang Yang et Zhang 2010; Yoneyama et al. 2016). En effet lorsqu'on cumule le nombre de panicules avec leur longueur obtenue en serre (**Figure 46**), on constate que la force de puits est corrélée à la quantité d'azote post-florale prélevée. Or l'initiation de la panicule ainsi que sa taille sont les premières composantes du rendement à être déterminées. Comme évoqué dans le **Chapitre 1** certaines variétés de riz sont capables d'adapter la production de biomasse et l'élaboration précoce de leur puits final en fonction de l'environnement par le biais du tallage et de la détermination de la taille des panicules optimisant ainsi leur productivité (Luquet et al. 2006; Bueno et al. 2010; Dewi Erika Adriani et al. 2016). Autrement dit, la production de nouveaux organes puits (talles, puis panicules) ne se ferait que si la source (d'abord le sol, puis les tissus âgés) est suffisamment fournie. La diversité de réponses entre génotypes obtenue dans les expériences montre que certaines variétés ont davantage tiré parti de l'amélioration des conditions de culture par rapport aux autres. Ces dernières ont alors développé des forces de puits et des capacités de prélèvement plus élevées : ces variétés caractérisées par une forte plasticité étaient *Cigalon*, *Manobi* et *Gines* ont augmenté le nombre de talles et la quantité de biomasse de la condition N/2 à N en serre et la quantité de biomasse au champ de 2018 à 2019. Un tel effet positif de l'azote sur la croissance végétative a été montré dans de nombreux cas (Vinod et Heuer 2012; Y.-L. Zhang et al. 2009; F. Deng et al. 2015; Yi et al. 2020). Cependant notre étude a montré qu'un autre cultivar, *Paty*, était peu plastique dans sa dynamique de tallage mais avait une capacité de prélèvement post florale forte. Cela pourrait s'expliquer par le fait que *Paty* a développé la force de puit la plus forte en condition N/2 (en compensant le petit nombre de panicules par une longueur de panicule plus importante) et donc le prélèvement post floral le plus fort.

Toutefois, cette hypothèse n'explique pas l'induction globale du prélèvement post floral en 2018 détaillée dans l'article. Une hypothèse complémentaire concernant le seul organe non étudié, les racines, permet d'expliquer cette observation. La disponibilité en azote favorise le développement des organes aériens au détriment des racines, et inversement (Zhang et al. 2009; Fan et al. 2010; Vinod et Heuer 2012; Ogawa et al. 2014a; Ogawa et al. 2014b). Ainsi en 2018, en conditions contraignantes, on peut supposer que les plantes ont développé un système racinaire conséquent à la recherche d'éléments azotés. De plus, la modification de la disponibilité en azote a un impact fort sur les dynamiques de prélèvement (Islam 2019). Or, la disponibilité d'azote du sol n'est pas constante au champ, à cause, entre autres, du lessivage, du ruissellement, de la volatilisation, des apports échelonnés de 50U, et des variations de l'état physico-chimiques dues à la mise en eau (Simpson et al. 1984; Cai et al. 2008; Kirk 2004). Ainsi, au champ, les plantes ont subi une forte augmentation des disponibilités en azote par le troisième apport, qui pourrait avoir stimulé leur prélèvement racinaire. Ce mécanisme a pu être d'autant plus favorisé que le système racinaire supposé était plus développé et que la force de puit était plus élevée notamment chez les génotypes les plus efficaces en prélèvement post-floral (*Cigalon*, *Paty*, *Manobi*, et *Gines*).

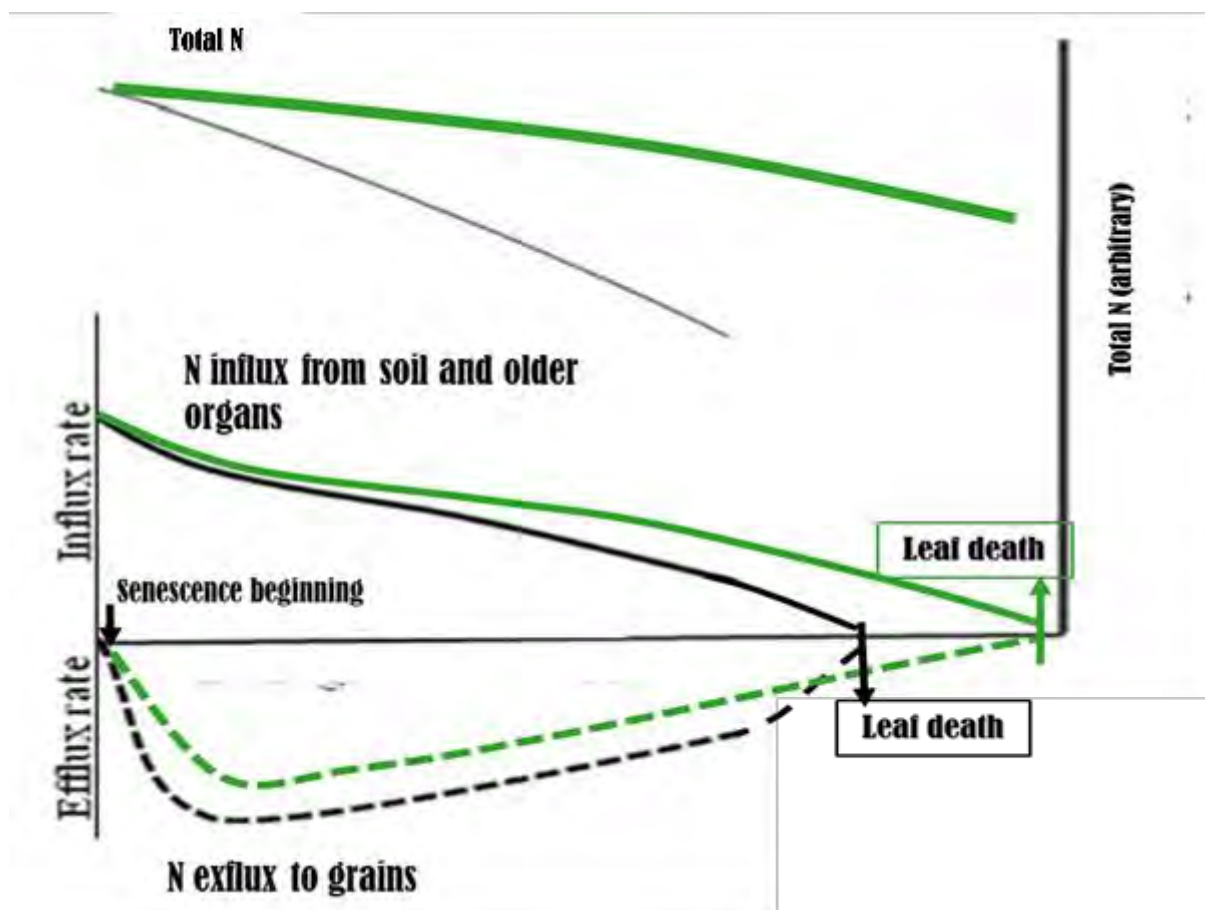


**La remobilisation, un mécanisme majeur pour la productivité dans un environnement contraignant**

La remobilisation de biomasse a été montrée comme souvent accompagnée de remobilisation d'azote (Ntanos et Koutroubas 2002; H. Wu et al. 2018), ce que nous avons pu confirmer dans nos expériences. La production et la viabilité de nouveaux organes puits induisent des transferts accrus d'éléments carbonés et azotés depuis les sources (Smith, Rao, et Merchant 2018). Ces sources peuvent être les organes plus âgées (feuilles, tiges ou racines) de la plante ou bien le sol. Dans le cas où les éléments du sol ne sont pas disponibles en assez grande quantité (incapacité à prélever ou absence), les ressources disponibles pour assurer la survie de l'ensemble des organes puits se limitent à celles remobilisées depuis les organes âgés. Cela induit donc des dynamiques de sénescence importantes. Elles peuvent se manifester par l'augmentation de la mortalité des feuilles à l'échelle de la talle (Kosgey et al. 2013 chez les maïs; Gaju et al. 2014 chez le blé), mais également de la mortalité des talles (Y.-L. Zhang et al. 2009) faisant chuter l'efficacité de tallage. Ces dynamiques sont d'autant plus fortes que les forces de puits sont fortes (surproduction par rapport à la source). Nous avons pu observer ce lien entre sénescence accrue et surproduction précoce par la très forte opposition entre la biomasse produite à floraison et l'efficacité de tallage établie dans le **Chapitre 1** et déjà observée chez Zhang et al. 2009. Ainsi les génotypes produisant davantage de biomasse au début de leur cycles (les tardifs) étaient ceux qui avaient les taux de pertes de talles les plus importants. De plus, la corrélation entre la biomasse remobilisée et la production en grains, uniquement présente en condition de contrainte en serre, nous permet de mettre en évidence l'importance de la remobilisation quand les éléments viennent à manquer. En effet, cela signifie qu'en condition limitante le rendement est assuré majoritairement par la remobilisation, elle-même liée aux capacités de prélèvement et de production précoces. Ainsi les variétés tardives, plus productives en début du cycle, et plus remobilisatrices, parviennent à maintenir leur productivité en condition contraignante, ce qui n'est pas le cas des variétés précoces comme *Cigalon* et *Paty*.

**Le prélèvement post-floral a optimisé la productivité en réduisant, à l'échelle de la feuille individuelle, les flux sortant de la remobilisation**

Les mécanismes de remobilisation des éléments accumulés précocement ont été pendant longtemps considérés comme primordiaux pour une bonne productivité et une bonne qualité de grains (Ntanos et Koutroubas 2002; Samonte et al. 2006; Jianchang Yang et al. 2006; M. Li et al. 2014; F. Deng et al. 2015; H. Wei et al. 2017). Or, nous avons montré que le prélèvement d'azote post-floral permettait également un gain de performance (**Chapitre 1**, Wu et al. 2018). Ces observations semblent paradoxales en raison de l'opposition entre la remobilisation et le prélèvement post-floral montrée chez le blé (Kichey et al. 2007; Bogard et al. 2010a; Oorbessy Gaju et al. 2014) et est confirmée par notre étude. Cette opposition pourrait s'expliquer par la compensation éventuelle entre le flux entrant d'azote prélevé en post-floraison et le flux sortant de l'azote remobilisé. Dans ce sens, Yoneyama et al. (2016) ont établi un modèle à l'échelle d'une feuille lors du développement végétatif selon lequel la remobilisation se mettrait en place quand 90% des capacités de stockage de la plante sont utilisées, ce schéma tenant compte du prélèvement d'azote issu du sol. L'association des deux flux (entrant et sortant) abouti à une diminution lente de la quantité d'azote dans la feuille. On peut alors extrapoler ce modèle à la phase de remplissage des grains en tenant compte d'une éventuelle diversité dans le prélèvement tardif.



**Figure 47 : Flux théoriques d'azote d'une des quatre dernières feuilles lors du remplissage des grains (modifié d'après Yoneyama 2016)**

Ce modèle théorique suit le modèle de Yoneyama (2016) appliqué à une des quatre dernières feuilles lors du remplissage.

Les courbes noires représentent les dynamiques des flux d'azote entrant et sortant chez une plante sans prélèvement post floral important. Les flux sortant sont accélérés par le début de la sénescence et la force de puit exercé par les grains. Les flux entrant diminuent progressivement car peu d'azote est prélevé depuis le sol et les flux des autres organes sont soit épuisés soit dirigés préférentiellement vers les grains. Les flux se stoppent à la mort de la feuille, cette dernière contient toujours une quantité d'azote qui n'a pas été remobilisée.

Les courbes vertes représentent les mêmes dynamiques mais chez une plante capable de prélever de l'azote après floraison. L'azote prélevé après floraison est supposé se diriger préférentiellement vers les grains comme cela a été montré chez le blé (Kichey 2009). Ainsi une partie de la force de puits des grains est comblée par le prélèvement tardif. De ce fait les flux sortant des dernières feuilles sont amoindris. De même on peut supposer qu'une petite partie de l'azote prélevé continue d'arriver dans la feuille ralentissant aussi la chute des flux entrant. Ces compensations permettent alors de repousser la mort de la feuille.

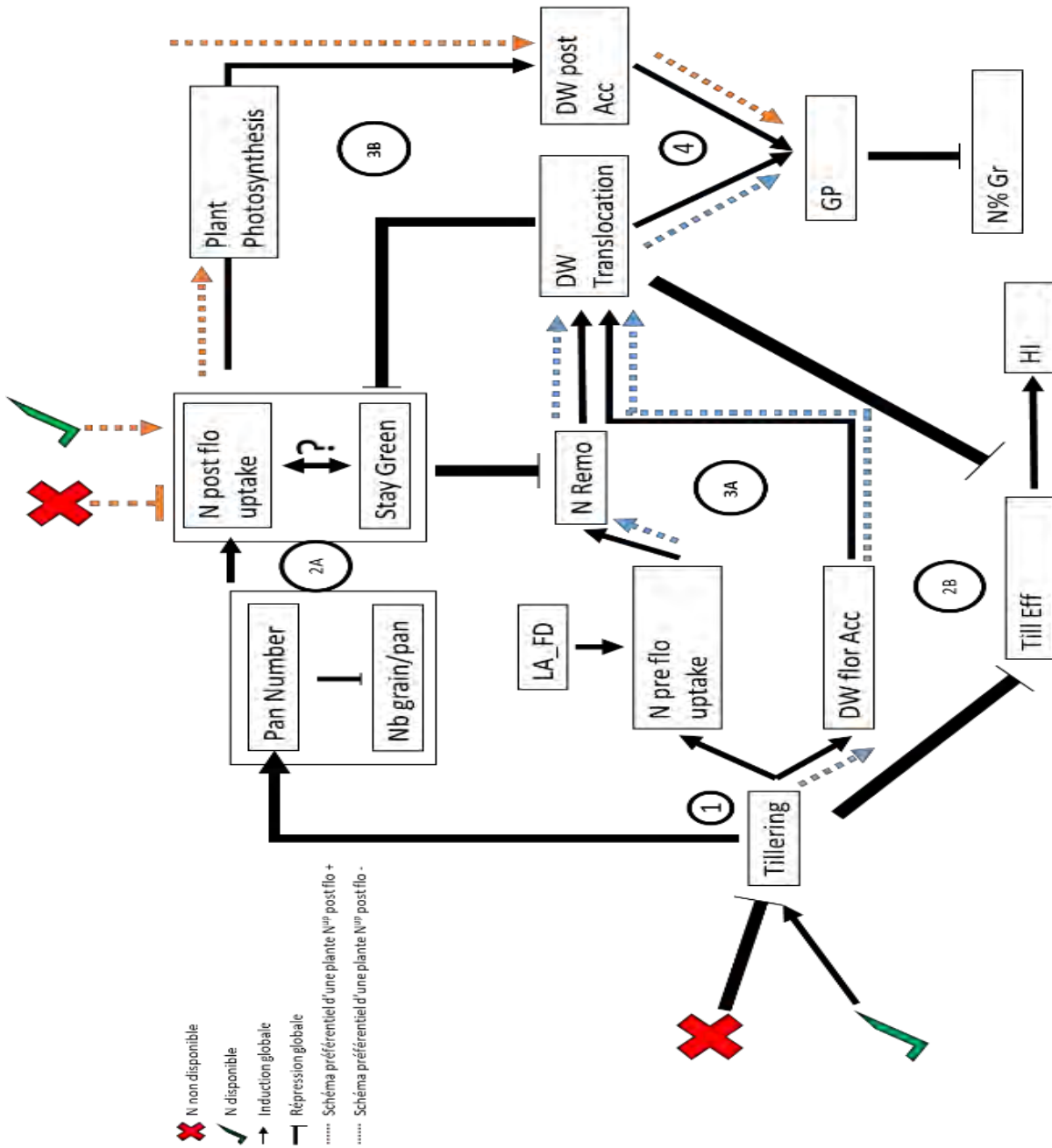
Ainsi, dans le cas où les ressources dans le sol soient suffisantes (troisième apport au champ, ou apport continue en serre) et que la plante ait des capacités de prélèvement post florale, cette dernière serait alors capable de compenser la remobilisation de l'azote sortant grandement augmenté par la force de puits des inflorescence (**Figure 47**). Ainsi le niveau d'azote global, ainsi que la photosynthèse pourraient se maintenir dans les dernières feuilles (celles qui participent le plus à la remobilisation (Yoneyama et al. 2016), et ainsi optimiser la production.

Cette réflexion corrobore l'hypothèse établie au **Chapitre 1** où la NUpE n'impacterait la productivité qu'en condition favorable. En effet le potentiel des plantes à prélèvement post florale de peut s'exprimer que si l'azote est disponible. L'importance d'une disponibilité tardive d'azote a déjà été démontrée aussi bien par l'apport échelonné que par des apport continue d'engrais (Guo et al. 2016; Wang et al. 2018). Toutefois, au vue de nos résultats, nous pouvons supposer que les pratiques impliquant des apports tardifs n'auraient pas le même impact d'un génotype à l'autre selon leur dynamique de prélèvement. Le proxy de la surface de la feuille drapeau établi précédemment serait un excellent moyen d'optimiser ces derniers apports.

## **Conclusion**

Pour conclure, ce chapitre a permis de mettre en évidence un schéma global d'utilisation de l'azote (**Figure 48**, flèches noires) et de confirmer des profils d'utilisation de l'azote divergent selon la capacité de prélèvement post florale (**Figure 48**, flèches de couleurs) dans un panel restreint à une douzaine de variétés de riz tempérés, ceci en conditions contrôlées et au champ. De plus nous avons mis en évidence la dynamique de production de la biomasse en lien avec ces profils d'utilisations, soulignant l'importance de la mise en place de la force de puit. D'autres interrogation restent toutefois en suspens, notamment sur les potentiels échanges d'une talle à une autre lors de la sénescence en condition de stress qui permettrait de récupérer les éléments non disponibles dans le sol, ou encore sur la diversité des réactions aux conditions azotées du point de vue racinaire.





**Figure 48 : Schéma bilan de l'utilisation de l'azote estimé à des résultats obtenus dans cette partie à l'échelle de la plante entière pour des japonica tempérés étudiés**

Ce schéma représente les dynamiques globales de prélèvement et d'utilisation de l'azote estimées à partir de nos observations. Les liens sont issus des corrélations et ACP des trois chapitres qui composent cette partie. Les schémas préférentiels ne sont pas opposés, certains géotypes pouvant suivre les deux parcours, ou aucun.

1. **Très tôt dans le cycle les plantes adaptent leur tallage à la disponibilité en azote.** Les géotypes suivant les lignes pointillées en bleu accumulent davantage de biomasse par rapport à l'azote prélevé
- 2.A. Le nombre de talles initiées induit un nombre proportionnel de panicules, qui influe sur la taille des panicules.
- 2.B. Plus le nombre de talles est important, et plus il est difficile de convertir l'ensemble de ces talles en talles productives. Ceci influence in fine l'harvest index.
- 3.A. Une plante incapable de prélever de l'azote tardivement stimule d'autant plus ses mécanismes de remobilisation en fonction des caractères d'accumulation précoces, provoquant perte de feuilles et augmentation du nombre de talles mortes
- 3.B. Une plante au prélèvement post-floral plus marqué lui permet d'assouvir les besoins des organes puits, de ralentir sa dynamique de remobilisation et de maintenir ses feuilles vertes dans le cas où de l'azote est disponible. Dans le cas contraire le schéma suit une tendance proche du 3.A
4. La biomasse remobilisée depuis les organes sources, et la biomasse accumulée après floraison forment le rendement final.

## **Partie 3 : Etude de génétique d'association de la variation de sensibilité du riz à la pyriculariose en condition de fort intrant azoté**

Ce chapitre est constitué d'un article soumis le 18 novembre 2020 à la revue BMC Plant Biology.

Le travail décrit a pour but d'étudier la génétique sous-jacente à la plasticité de la sensibilité à la pyriculariose du riz selon la fertilisation (NIS). Nous avons ainsi analysé la NIS dans des conditions contrôlées en serre dans un panel de 139 génotypes de riz japonica tempérés. Une analyse d'association (GWAS) a été menée sur le caractère de sensibilité afin d'identifier les loci potentiellement impliqués dans la NIS en comparant les loci identifiés dans des conditions de forte et de faible teneur en azote. Cette approche a permis l'identification de loci validés dans différents environnements azotés. Nous avons également utilisé un nouvel indice : le NIS Index, décrivant la variation d'un génotype par rapport à la variation de la population afin d'identifier les loci contribuant à la plasticité de la sensibilité sous différents régimes de fertilisation azotée.

Un effet NIS global correspondant à une augmentation globale de 8% de la densité de lésions a été observé dans la population. Trois nouveaux QTL ont pu être identifiés. Un allèle rare du locus RRobN1 sur le chromosome 6 offre une résistance robuste dans des environnements à forte et faible teneur en azote. Un allèle fréquent du locus NIS2, sur le chromosome 5, accentue la sensibilité à la pyriculariose dans des conditions de forte teneur en azote mais ne la déclenche pas. Enfin, un allèle du locus NIS3, sur le chromosome 10, atténue l'augmentation de la sensibilité résultant de la fertilisation à l'azote mais augmente les niveaux de sensibilité globaux. Cet allèle est presque complètement fixé dans les riz Japonicas tempérés. Cela pourrait être la conséquence de la co-localisation avec un locus impliqué dans l'adaptation au stress du froid, très fortement sélectionné dans cette sous-population. Nos résultats permettent d'étendre à la sous-espèce *Japonica Tempéré* l'observation initiale selon laquelle l'ajout d'azote augmente la sensibilité à la pyriculariose du riz. Nous démontrons également l'utilité d'un indice d'estimation de la plasticité permettant l'identification de nouveaux loci impliqués dans la réponse du riz à la pyriculariose sous différents régimes d'azote.

1 **Genome-wide association of rice response to**  
2 **blast fungus identifies loci for robust**  
3 **resistance under high nitrogen.**

4 **Authors and affiliation**

5 Mathias Frontini; [mathias.frontini@inrae.fr](mailto:mathias.frontini@inrae.fr); BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro,  
6 Montpellier, France

7 Arnaud Boisnard; [arnaud.boisnard@centrefrancaisduriz.fr](mailto:arnaud.boisnard@centrefrancaisduriz.fr); Centre Français du Riz, Arles, France

8 Julien Frouin; [julien.frouin@cirad.fr](mailto:julien.frouin@cirad.fr); AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro,  
9 Montpellier, France

10 Malika Ouikene ; [m.ouikene@gmail.com](mailto:m.ouikene@gmail.com), Groupe de Valorisation des Produits Agricoles (GVAPRO)  
11 Alger, Algérie.

12 Jean Benoit Morel; [jean-benoit.morel@cirad.fr](mailto:jean-benoit.morel@cirad.fr) ; 0000-0003-1988-956X, BGPI, Univ Montpellier,  
13 CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

14 Elsa Ballini; [elsa.ballini@supagro.fr](mailto:elsa.ballini@supagro.fr) 0000-0002-2571-2069, BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE,  
15 Institut Agro, Montpellier, France

16 Corresponding author : Elsa Ballini [elsa.ballini@supagro.fr](mailto:elsa.ballini@supagro.fr)

## 1 Abstract

2 **Background:** Nitrogen fertilization is known to increase disease susceptibility, a phenomenon called  
3 Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS). In rice, this phenomenon has been observed in infections with  
4 the blast fungus *Magnaporthe oryzae*. A previous classical genetic study revealed a locus (*NIS1*) that  
5 enhances susceptibility to rice blast under high nitrogen fertilization. In order to further address the  
6 underlying genetics of plasticity in susceptibility to rice blast after fertilization, we analyzed NIS under  
7 greenhouse-controlled conditions in a panel of 139 temperate japonica rice strains. A genome-wide  
8 association analysis was conducted to identify loci potentially involved in NIS by comparing  
9 susceptibility loci identified under high and low nitrogen conditions, an approach allowing for the  
10 identification of loci validated across different nitrogen environments. We also used a novel NIS Index  
11 to identify loci potentially contributing to plasticity in susceptibility under different nitrogen fertilization  
12 regimes.

13 **Results:** A global NIS effect was observed in the population, with the density of lesions increasing by  
14 8%, on average, under high nitrogen fertilization. Three new QTL were identified. A rare allele of the  
15 *RRobNI* locus on chromosome 6 provides robust resistance in high and low nitrogen environments. A  
16 frequent allele of the *NIS2* locus, on chromosome 5, exacerbates blast susceptibility under the high  
17 nitrogen condition. Finally, an allele of *NIS3*, on chromosome 10, buffers the increase of susceptibility  
18 arising from nitrogen fertilization but increases global levels of susceptibility. This allele is almost fixed  
19 in temperate japonicas, as a probable consequence of genetic hitchhiking with a locus involved in cold  
20 stress adaptation.

21 **Conclusions:** Our results extend to an entire rice subspecies the initial finding that nitrogen increases  
22 rice blast susceptibility. We demonstrate the usefulness of estimating plasticity for the identification of  
23 novel loci involved in the response of rice to the blast fungus under different nitrogen regimes.

24 **Keywords:** Rice; *Magnaporthe oryzae*; GWAS; Nitrogen; robustness, temperate japonica rice, rice  
25 blast, induced susceptibility

## 1 Background

2 Rice (*Oryza sativa*) grown in Europe occupies 450,000 ha with an average yield of 6.5t/ha [1]. Seventy-  
3 five percent of the varieties grown in Europe are derived from the temperate japonica subspecies, that  
4 is adapted to short cropping season and low temperatures. In order to improve elite varieties for different  
5 traits, a European Rice Germplasm Collection (ERGC) was established and characterized [2]. Among  
6 targeted traits, the resistance to rice blast disease is one of the most studied. Rice blast is caused by the  
7 fungus *Magnaporthe oryzae* (syn. *Pyricularia oryzae*) which is the main rice disease in France and  
8 worldwide [1, 3]. The disease causes a decrease in photosynthetic activity, poor circulation of nutrients,  
9 and can lead to leaf death [4]. Fungicide application is one of the main management methods [5].

10 As part of the Green Revolution, breeding programs have established varieties with complete  
11 resistance to *M. oryzae* [5]. So far, more than 100 major resistance loci and 500 Quantitative Trait Loci  
12 (QTL) have been identified, with 35 resistance genes cloned [6, 7]. The application of genome-wide  
13 association studies (GWAS) has increased our knowledge on the genetics of rice blast resistance [8-18].  
14 However, temperate japonica remains the subspecies with the highest level of susceptibility [19] and  
15 the integration of resistance in breeding programs is still needed [11]. Moreover, virulent fungal strains  
16 regularly appear two to six years after adopting resistant varieties, and complete resistance is often not  
17 durable [20, 21]. For these reasons, partial (quantitative) resistance, which reduces susceptibility levels,  
18 appears to be a complementary option [20]. However, partial resistance is particularly sensitive to  
19 management practices [3, 22, 23]. In rice, high levels of nitrogen input are conducive to disease  
20 development, a phenomenon called Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS) [24, 25]. NIS is characterized  
21 by an increase in lesion number in varieties displaying partial resistance/susceptibility [24, 26]. We have  
22 previously proposed a model in which plants under elevated nitrogen fertilization show enhanced  
23 induction of plant defenses that is then overcome by an increased expression of the fungal pathogenicity  
24 program, thus leading to greater susceptibility [26]. In order to deal with this detrimental phenomenon,  
25 it is necessary to identify robust forms of resistance unaffected by nitrogen levels or to identify genetic  
26 factors controlling NIS. We have previously identified an allele from the Aus Kasalath variety at the  
27 *NIS1* locus on chromosome 1 that dominantly confers enhanced susceptibility to rice blast under high  
28 nitrogen fertilization, when introgressed into the temperate japonica Nipponbare variety [24]. Despite  
29 the identification of *NIS1*, the genetics of NIS remains poorly understood in rice and other plants.

1 Phenotypic plasticity is defined as a genotype displaying different phenotypes in different  
2 environments, while its opposite, robustness, is the phenomena whereby a given phenotype is expressed  
3 similarly across environments. Robustness is measured by comparing the mean phenotype between two  
4 environments or by measuring the variance of the phenotype between two environments [28]. A first  
5 approach involves the building a model based on large-scale multi-environment phenotyping in order  
6 to quantify Genome x Environment effects [29, 30]. However, the disadvantage of this approach arises  
7 from difficulties in finding reliable models that correlate traits and their environment drivers [29]. For  
8 pathogen resistance, a second approach could be to investigate the impact of environmental disturbance  
9 on immune traits using genetic approaches [31-33]. Most of the time the strategy used by breeders is to  
10 estimate robustness of resistance by evaluating resistance in multi-environment field trials [13, 34] thus  
11 limiting plasticity, or to manage the trials with specific stresses [25]. These methods are efficient to  
12 identify robust resistance, but do not allow the identification of loci that could contribute to  
13 robustness/plasticity without conferring resistance *per se*. While the molecular mechanisms by which  
14 the plant prioritizes resistance in some environments is beginning to be understood [35], the  
15 identification of more loci that buffer the impact of the environment on resistance is required to increase  
16 our knowledge of NIS.

17 Indeed, few genetic studies have identified robust disease resistance loci in rice [36, 37] or other  
18 pathosystems [38-40]. In order to investigate the impact of a given disturbance on resistance, it may be  
19 fruitful to develop a quantitative metric of robustness [41] that can be associated with the genotype.  
20 Many stress tolerance indexes were developed by estimating the variation between the stress and control  
21 conditions to map the robustness of the yield under drought or salt disturbance [42-44]. These indexes  
22 rate phenotypic robustness, genotype-by-genotype. As far as we know, this type of index has not been  
23 used in the case of an abiotic disturbance affecting disease resistance.

24 In this study, we developed an index to determine the robustness of susceptibility to rice blast  
25 in the presence or absence of nitrogen fertilization. Our objective was to map resistance loci that are  
26 robust in an agronomic environment using nitrogen fertilization that could be useful for breeders in  
27 Europe. We used a temperate japonica population grown under two different nitrogen fertilization  
28 regimes and identified QTLs by genome-wide association that were either shared or not across the two  
29 environments. Using a new index for rice blast resistance robustness, we were able to identify an  
30 additional QTL that buffers the impact of nitrogen fertilization on rice blast susceptibility.

## 1 Methods

### 2 **Plant material and experimental setup**

3 A set of 331 temperate japonica rice genotypes were screened at seedling stage for their susceptibility  
 4 to *M. oryzae* isolates CD203 and CL26 (**Figure 49** and additional figure 4). Among these lines, 159 and  
 5 117 demonstrated susceptibility to either CD203 or CL26 respectively, and were selected to investigate  
 6 partial resistance to *M. oryzae* under different nitrogen fertilization environments (Additional file 1 and  
 7 2). The experiment was conducted in greenhouses using previously described experimental procedures  
 8 [24]. Basically, inoculations were performed 4 weeks after sowing (5 leaf stage) by spraying a  
 9 suspension of 50,000 conidia per ml suspension (with 0.5% gelatin). Subsequently, rice plants were  
 10 incubated for 16 h in a controlled climatic chamber at 24°C with 95% relative humidity. Nineteen  
 11 replicate blocks of the experiment were conducted in a complete randomized design, with one control  
 12 genotype, GINES, included in each trial. Two repetitions of four seeds of each accession were sown per  
 13 plastic plot (9x9x9 cm) in Neuhaus S soil in which poudzolane was added (2 L/ 70L). Rice plants were  
 14 grown 28°C/20°C, 16 h light. Plants grew under standard fertilization for three weeks. In the fourth  
 15 week, and one day before inoculation, the N0 (all nutrients except nitrogen) and N1 (nutrients including  
 16 nitrogen 50% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/50% NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 40 mg/L) treatments were applied with irrigation water as previously  
 17 described [24]. One statistical unit corresponds to one leaf of one genotype in one condition. The fungal  
 18 strains CD203 and CL26 were used for inoculation on four-week-old plants (4-leaf stage) with a 50 000  
 19 spores/mL suspensions as previously described [45].

### 20 **Disease assessment**

21 Seven days after inoculation, each infected leaf was scanned at the same resolution (600 pixels per inch).  
 22 The pictures were analyzed by LeAFtool (Lesion Area Finding tool), which is an R package developed  
 23 in-house and available on github depository (<https://github.com/sravel/LeAFtool>). The program  
 24 measures lesion number and leaf area. Parameters used for pictures analysis were at least 10 000 pixels  
 25 for leaves and 50 pixels for lesion areas, with a blur at 3. To account for outliers and software mistakes,  
 26 aberrant sized lesions have been removed from the analysis. Finally, leaf susceptibility was estimated  
 27 by the number of a lesion per cm<sup>2</sup> of leaf area.

28 The following fixed model has been applied on all data to evaluate genotype, treatment, and  
 29 interaction effects with the *lme4* R package [46]. Analysis of variance (ANOVA) and Least Square  
 30 means (LSmeans) calculation was done from this model with the *lsmeans* R package [47]. Data were  
 31 log-transformed to get parametric distribution.

$$32 \quad Y = \mu + \gamma_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

1 With  $Y$  as the phenotype,  $\mu$  as the theoretical mean,  $\gamma_k$  the trial effect,  $\alpha_i$  the genotype effect,  $\beta_j$  the  
 2 nitrogen effect,  $(\alpha\beta)_{ij}$  the genotype x nitrogen interaction effect, and  $\varepsilon_{ijk}$  as residuals. Broad-sense  
 3 heritability was calculated separately for each Nitrogen environment using analysis of variance, with  
 4  $h^2 = \sigma^2G/(\sigma^2G+\sigma^2e/n)$ , where  $\sigma^2G$  and  $\sigma^2e$  are the estimates of genetic and residual variances.

5 We adapted the previously described Drought Susceptibility Index (DSI) [44], to calculate a Nitrogen  
 6 Induced Susceptibility Index (NISI):

$$NISI_i = \frac{1 - \frac{LSM_i^{N1}}{LSM_i^{N0}}}{NI}$$

7

8 Where  $LSM_i^{N0}$  and  $LSM_i^{N1}$  correspond to the lsmean of genotype  $i$  in the N0 and N1 conditions  
 9 respectively.  $NI$  is the Nitrogen Impact (adapted from the Stress Intensity of the initial DSI) on all  
 10 genotypes present in the experiment and is calculated as:

$$NI = 1 - \frac{LSM_{all}^{N1}}{LSM_{all}^{N0}}$$

12 NISI, therefore, is a measure of NIS estimated for each genotype relative to the nitrogen impact  
 13 on the population. In terms of robustness, the index evaluates the observed robustness of disease  
 14 susceptibility in a given genotype across the two fertilization regimes relative to the total robustness of  
 15 the panel. If nitrogen induces a global increase in susceptibility to blast, then NI will be negative, and  
 16 vice versa were nitrogen to reduce susceptibility. When NI is negative, more robust genotypes will have  
 17 NISI values less than one and approaching zero, indicating that the susceptibility of these genotypes is  
 18 less affected by nitrogen conditions. Less robust genotypes will have NISI values greater than 1. We  
 19 use the NISI when there is a statistically significant nitrogen effect on the panel (meaning a  $NI \neq 0$ ). In  
 20 the event no global effect was found, we would use an adjusted NIS index, which corresponds to the  
 21 same calculation but without the division by NI. The heritability of the NISI has been estimated from  
 22 the genetic variance observed in the GWA study divided by total variance.

### 23 Genotyping

24 Genotype data used in this study were obtained from CIRAD [48]. In our panel, we filtered  
 25 markers with a call rate below 75%, a heterozygosity rate above 20% or a minor allele frequency (MAF)  
 26  $< 2.5$ . This matrix has been imputed with Beagle 4.0 (window=250 overlap=25 ne=200). The final  
 27 matrix includes 19997 SNPs with 331 genotypes.



### 1 Linkage disequilibrium and Genome-Wide Association analysis

2 We used a genotype matrix,  $G$ , of 19997 SNPs for 331 *japonica temperate* cultivars to calculate  
3 Linkage Disequilibrium (LD), a Kinship matrix, and PCA using TASSEL software 5.2.59 [49]. Linkage  
4 Disequilibrium was estimated from the Kinship matrix as the square of the correlation of allelic states  
5 ( $r^2$ ) between all pairs of markers on each chromosome. The plot of  $r^2$  values and genetic distance was  
6 done with the R package LDheatmap [50]. The Kinship matrix  $K$  was estimated by the Centered IBS  
7 method as described in [51]. The population structure data were estimated with a Principal Component  
8 Analysis (PCA) with 4 axes kept. The GWAS was conducted with a weighted mixed linear model  
9 (MLM) on a subset of 139 genotypes from the 159 that were phenotyped. Each GWAS was done with  
10 the same  $G$ ,  $K$ , and PCA data, for three phenotypic datasets:  $LSM^{N0}$ , LSmean of susceptibility in N0  
11 condition for each genotype,  $LSM^{N1}$ , same with N1 conditions, and the NISI, as calculated using the  
12 formula above.

13 The threshold to declare a significant association was set to  $-\log_{10} P = 5$ . A quantitative locus  
14 was identified if five SNPs were detected with a  $-\log_{10} P$  close to 5 in same LD block. Isolated  
15 significant SNPs are reported in an additional data file (Additional data file 8) but were not further  
16 investigated. Gene annotations for selected loci were made using the Nipponbare temperate japonica  
17 rice reference genome viewed with the Orygenesdb genome browser [52]. For the most significant QTL,  
18 haplotype groups were identified using SNP-seek [53] and then correlated to our genotypic dataset. We  
19 ran a new model including the haplotype effect to test the contrast test with a Tukey adjustment to  
20 estimate a haplotype group effect. The SNP-seek database was used to identify rice varieties carrying  
21 two corresponding haplotypes at *NIS3* locus in order to generate a validation set of twenty-six genotypes  
22 from four different subspecies: sixteen with the *NIS3-1* haplotype and ten with the *NIS3-3* haplotype  
23 (Table in Additional file 3). This validation panel was inoculated under the same conditions as those  
24 used for GWAS (high and low nitrogen followed by inoculation with *M. oryzae* CD203 isolate).

## 1 Results

### 2 **NIS is isolate-dependent in temperate japonica rice genotypes**

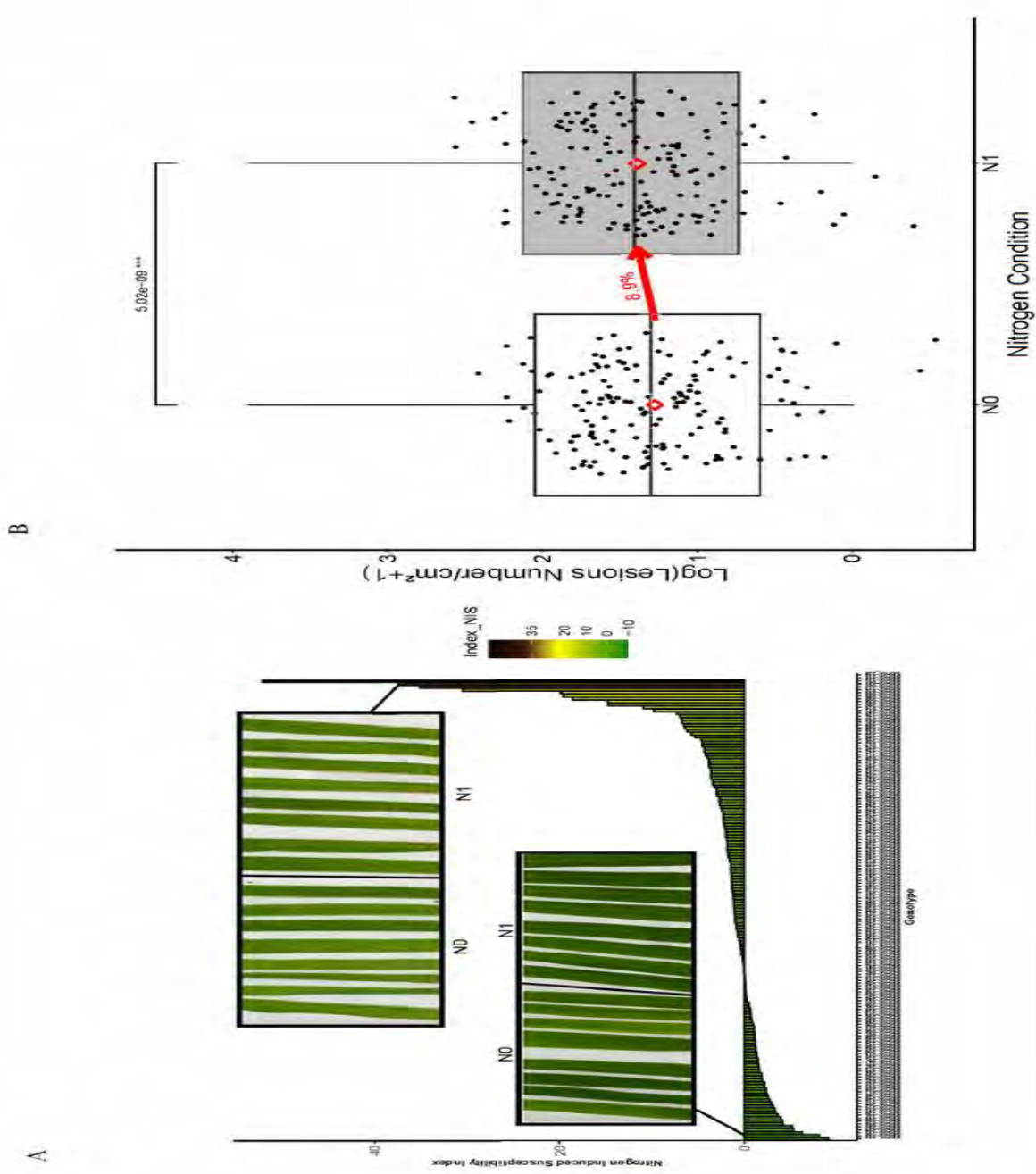
3 Partial resistance/susceptibility to rice blast was estimated under two nitrogen fertilization  
4 condition levels (low-level: N0; high-level: N1- see Methods) from a least-square means (Lsmeans)  
5 analysis of the density of blast lesions. We found 117 *temperate japonicas* (Additional file 3) genotypes  
6 that were susceptible to the blast fungus isolate CL26, but no evidence of a global effect nitrogen  
7 fertiliser treatment on susceptibility (Additional file4). There was a significant genotype by nitrogen  
8 treatment interaction, with four genotypes (3%) showing an increase of susceptibility under nitrogen  
9 treatment and ten (8%) showing a decrease.

10 We found 159 rice lines susceptible to the blast fungal isolate CD203. In this analysis, the  
11 nitrogen fertilizer treatment, genotype, and the genotype-by-treatment interaction were all significant  
12 (Additional file 5). The significant nitrogen treatment by genotype interaction implies that the impact of  
13 nitrogen on rice blast susceptibility depends on the rice genotype in this panel and thus that these data  
14 are suitable for a genome-wide association analysis.

15 The average increase in susceptibility to CD203 under the N1 condition was 8% (**Figure 49**).  
16 Nineteen genotypes (11%) were significantly more susceptible in N1 compared to N0 conditions and  
17 five were significantly less (3%). The maximum increase in lesion number was observed in the  
18 TRAMONTO genotype, with four times more lesions in N1 condition than in N0. Conversely, the  
19 MARENY genotype showed three times fewer lesions in N1 condition than in N0 condition. Thus, our  
20 results indicate that NIS is relatively rare (14% of the panel) in this temperate japonica population which  
21 makes it an interesting population to identify genes with robust resistance. Heritability of Lsmeans for  
22 rice blast resistance was 0.43 and 0.42 for N0 and N1 conditions respectively (Additional file 6),  
23 allowing for GWA analysis within each fertilization condition.

24 LSmeans of N1 and N0 condition were used for the calculation of a new NIS Index (NISI, see  
25 Methods). This index allows the detection of genotypes for which the change of susceptibility upon  
26 fertilization deviates from the norm of 8% found at the level of the panel (**Figure 49**). A genotype with  
27 a NISI of 1 has an increase of susceptibility equal to the global increase (8%). More robust genotypes  
28 will have NISI scores approaching zero, while less robust genotypes will have scores greater one.  
29 Twenty-seven percent of the genotypes showed a rather robust susceptibility with a NISI between -1  
30 and 1, and thirty percent had a NISI higher than three (Additional file 7).

31



**Figure 49 Disease susceptibility against CD203 isolate in two nitrogen environments**

Each point corresponds to the Lsmean of number of rice blast lesion for one genotype. In white, N0 corresponds to the low nitrogen condition, in grey N1 corresponds to the high nitrogen condition. Red diamonds corresponds to Lsmean for each treatment. The increase of Lsmean between the two conditions is indicated.

### 1 GWA analysis of rice blast resistance under different nitrogen fertilization

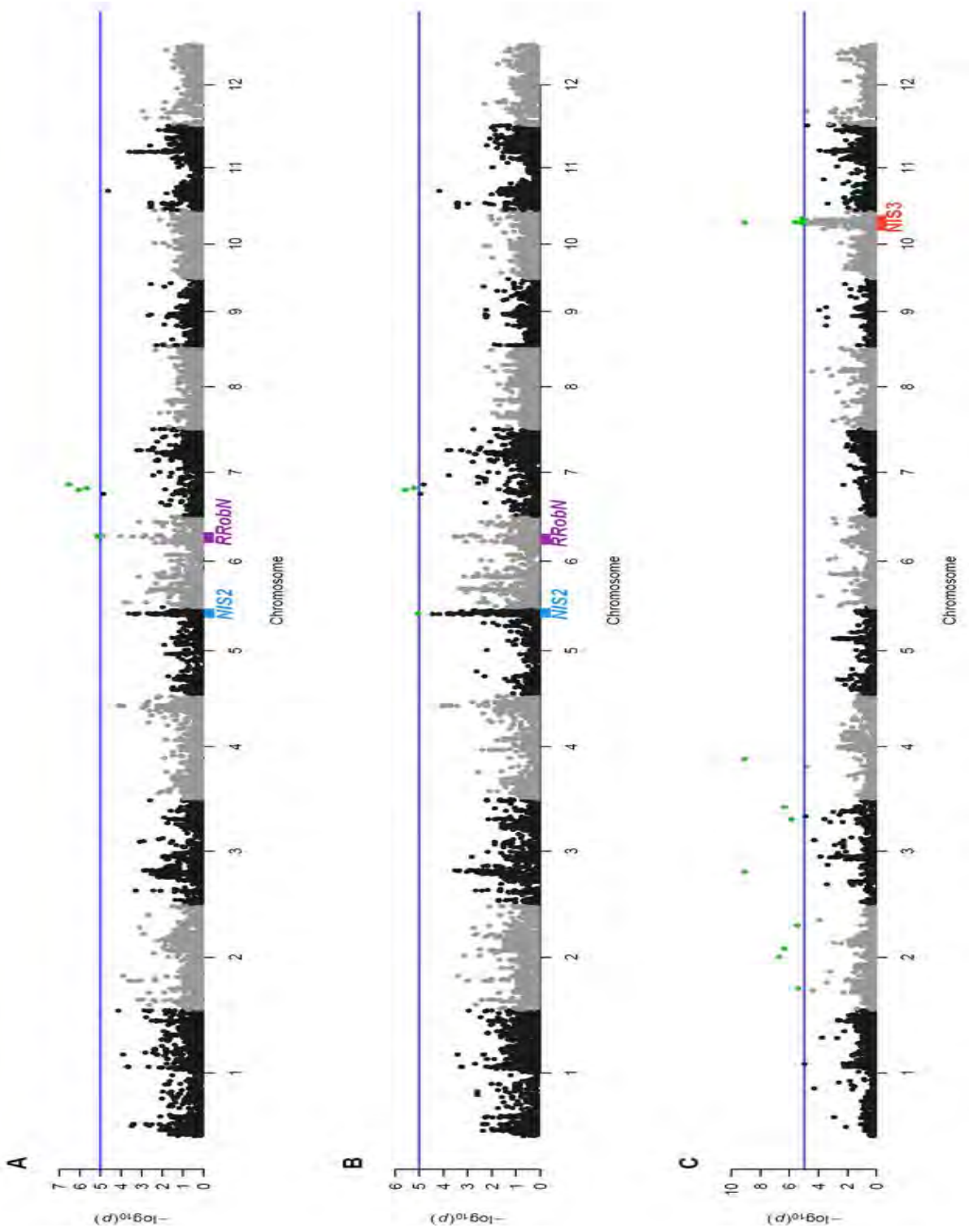
2 The GWA analysis identified fourteen significant SNPs in the N0 environment and three SNPs  
3 in the N1 environment (**Figure 50 A and B** respectively, and Additional file 8). To define a QTL, we  
4 only considered loci detected by several closely linked significant and sub-significant SNPs (see  
5 Methods). This excluded five SNPs found on chromosome seven that appeared to be scattered, with no  
6 other sub-significant SNP nearby. By contrast, the single SNP found on chromosome 5 appeared to  
7 represent a locus (*NIS2*) containing four sub-significant SNPs. Another locus, *RRobNI* on chromosome  
8 6, was defined by eleven significant SNPs.

9 Twenty-one significant SNPs were identified in the genome-wide association using the NIS  
10 Index score as the phenotype (heritability of NISI = 0.1) (**Figure 50 C** and Additional file 8). Among  
11 them, the four SNPs mapping on chromosome 2 and three on chromosome 3 were not considered further  
12 as they were scattered all along the chromosomes. A QTL (*NIS3*), defined by a block of 12 significant  
13 SNPs, was identified on chromosome 10. It is noteworthy that this QTL was not detected in the GWA  
14 analysis for lesion density, further demonstrating the usefulness of the NIS Index.

### 15 16 ***RRobNI*, a QTL conferring partial resistance not affected by nitrogen fertilization**

17 The *RRobNI* (Resistance Robust to Nitrogen 1) locus on chromosome 6 was initially identified  
18 in the GWA analyses by eleven SNPs significant in the N0 but not the N1 condition (Tables Additional  
19 file 8 and 9; and **Figure 51 A**). The haplotype associated with resistance is found in only four varieties  
20 of the panel: IRAT 268, IAC 26, GIGANTE VERCELLI, and RUBI. The level of resistance conferred  
21 by this locus is a reduction in lesion number of 75% in both N0 and N1 conditions (**Figure 51 A**).  
22 However, *RRobNI* does not confer resistance to the CL26 isolate (Additional file 10). Thus *RRobNI* is  
23 isolate-specific and confers robust resistance under high nitrogen, two characteristics found for classical  
24 major resistance genes [24], suggesting that this locus underlies a classical resistance gene. However,  
25 the *RRobNI* locus (650 kb between 23.90 to 24.2 Mb) on chromosome 6 does not contain any mapped  
26 or cloned resistance genes [55] and among the forty-two genes in the region there are no resistance gene  
27 analogs in the reference genome Nipponbare (Table Additional file 11). Thus the robust, elevated  
28 resistance associated with the *RRobNI* locus may not be conferred by a classical resistance gene analog.  
29 Two phospholipidase D genes involved in disease resistance [56, 57] could be good candidates, among  
30 others.

1



**Figure 50**  
**Manhattan plots**  
**from genome-wide**  
**association mapping**  
**of rice blast**  
**susceptibility under**  
**contrasted nitrogen**  
**fertilization and of**  
**the NIS Index**

*GWAS result of Lsmean of number of lesions by leaf area in N0 condition (A), NI condition (B) and Nitrogen Induced Sensitivity Index (C). The Y-axis represents  $-\log_{10}(p\text{value})$  and X-axis indicates the position of the SNP on the chromosome based on the Nipponbare reference genome. The CD203 isolate was used for the inoculations. Green points indicate significant SNPs with  $-\log_{10}(P) \geq 5$*

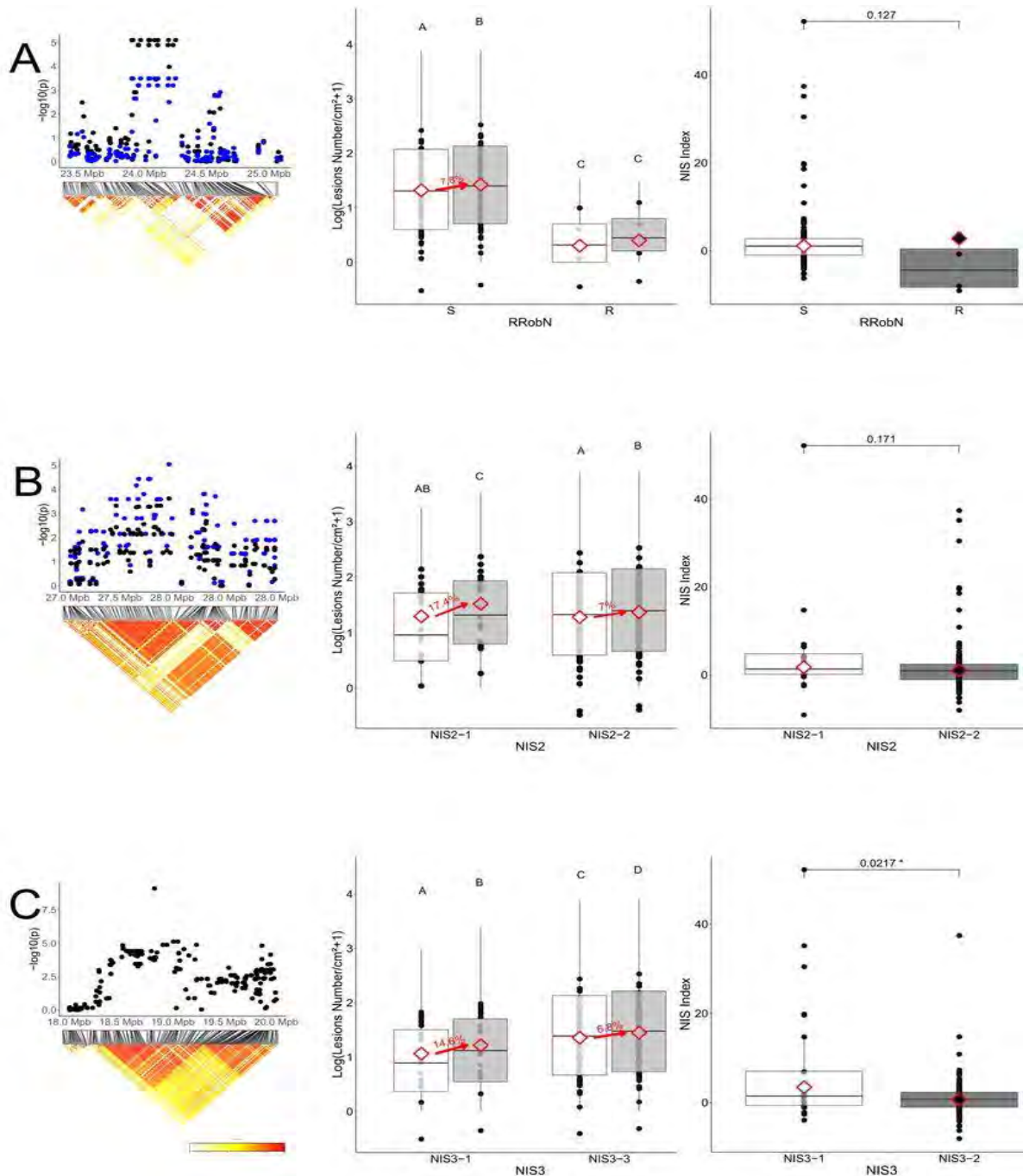
***NIS2*, a QTL associated with increased susceptibility under high nitrogen fertilization**

A second locus on chromosome 5, named *NIS2*, was only detected in the N1 condition against the CD203 isolate. There was no significant association of *NIS2* with the CL26 isolate (Additional file 10). *NIS2* was defined by a unique SNP in a strongly linked LD block (LD  $r^2$  around 0.9 from 27.55 to 27.96 Mb) containing five sub-significant SNPs (with  $-\log_{10} P$  greater than 4) and 69 annotated genes (**Figure 51 B**, Additional file 11). In fact, possibly two haplotypes could be defined at this locus, with the first haplotype (*NIS2-1*) found in 22 varieties (26% of the population). Plants with this *NIS2-1* haplotype showed a 17% increase in lesion number from low to high nitrogen conditions (**Figure 51 B**). The second haplotype, *NIS2-2*, showed a more modest increase of 7%, similar to the average effect of nitrogen in the population (**Figure 49**).

***NIS3*, a QTL conferring partial resistance strongly impacted by nitrogen fertilization**

In contrast to *RRoNI* and *NIS2*, *NIS3* was identified using the NIS index (NISI; see Methods and above). *NIS3* is located in an LD block of 800 Kb on chromosome 10 containing 126 annotated genes (**Figure 51 C** and Tables Additional file 8, 9 and 15). We could define three haplotypes at this locus using the nineteen SNPs available in the 3000 rice genomes (Table Additional file 13). We could not further characterize the *NIS3-2* haplotype because it was represented by only four genotypes in our panel. The *NIS3-3* haplotype was the most represented in our sample (112 genotypes or 79%) whereas the *NIS3-1* haplotype was less frequent, present in 25 genotypes. The mean NISI value of lines carrying the *NIS3-1* haplotype was 3.46, which was significantly greater than lines with the *NIS3-3* haplotype, which had a mean NISI value close to zero (**Figure 51 C**). *NIS3-1* genotypes were more resistant than *NIS3-3* genotypes, but also more sensitive under high nitrogen, with an increase of susceptibility of 14.6% (**Figure 51 C**).

1



**Figure 51 : Genetic details and phenotypic associations of the three loci controlling NIS to *M. oryzae* in temperate japonicas**

A and B Two loci were identified after GWAS analysis using disease levels against CD203 isolate: RRobN locus (23,9 Mpb -24,2Mpb on chromosome 6; A), NIS2 locus (27.55-27.96 Mb on chromosome 5; B). C One loci was identified using a NIS index: NIS3 locus (18,4 Mpb-19,2Mpb on chromosome 11).

For each locus, the figure on the left represents the physical position of the QTL on their respective chromosome. The figures in the middle show susceptibility to CD203 strain for each haplotype of each QTL, in each of the two nitrogen conditions (N0 in white, N1 in grey). Red diamonds corresponds to the mean for each treatment. The red arrow indicates the value of the increased susceptibility in case of significant effect of nitrogen condition.

The figures on the right represent the NIS index depending of each QTL haplotype. Although this Index was only used for the identification of NIS3, we also displayed it for RRobN1 and NIS2 for comparison.

P-Values were obtained from Wilcoxon test for A and B, and a Student Test after a logarithmic transformation for C.

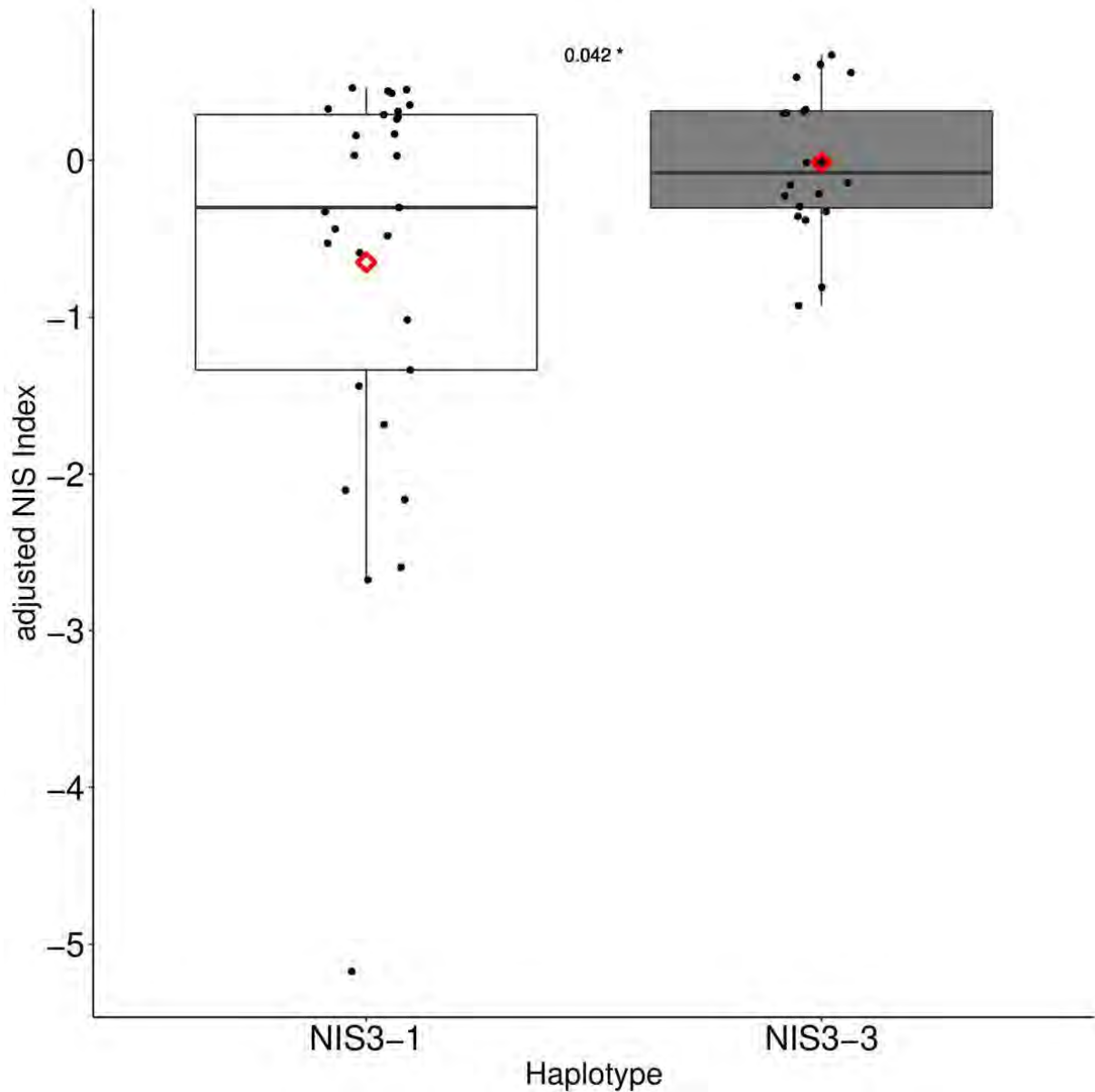
1 We built a new rice panel (See Methods) in order to specifically test if haplotypes at the *NIS3*  
2 loci were predictive of the phenotype across rice diversity. We chose twenty-six genotypes from  
3 different subspecies: sixteen with the *NIS3-1* haplotype and ten with the *NIS3-3* haplotype (Table in  
4 Additional file 2). This panel was inoculated with the CD203 isolate under the same conditions as those  
5 used for GWA. This experiment showed a significant interaction between nitrogen and genotypes (p-  
6 value= $4.33e^{-4}$ ) but no global nitrogen impact (p-value= 0.56). We did not use the NI because there was  
7 no global nitrogen effect in the ANOVA (NI=0, thus NISI has to be adjusted; see Methods). As we  
8 observed in the original GWA, plants with the *NIS3-3* haplotype were more robust to the effect of  
9 nitrogen treatment, with a mean adjusted NISI score of 0.68, compared to the adjusted NISI score of  
10 3.46 for plants with the *NIS3-1* haplotype. These results validate the involvement of *NIS3* in NIS to the  
11 CD203 isolate (**Figure 52**). There was no significant difference between the adjusted NIS index of  
12 haplotypes *NIS3-3* and *NIS3-1* (Additional file 14) in the panel of 117 genotypes susceptible to CL26  
13 strains.

14

15 The *NIS3-3* allele is common in temperate japonica (79% of the panel tested, Additional file  
16 16). We searched for interesting allelic variants of genes at the *NIS3* locus that could have been fixed  
17 in this population. We found that an allele of *RIPER6* (Ripening-related family protein), which is  
18 associated with cold tolerance [65], is observed in 90% of the cases in association with *NIS3-3*.

19





1

2 **Figure 52 : Adjusted NIS index for NIS3 in validation population**

3 *Twenty-six genotypes were selected from the 3000 genomes for validation of the QTL based on their NIS3 haplotype. The*  
 4 *CD203 strain was used for inoculation. Each point corresponds to the adjusted NIS index of one repetition of one genotype*  
 5 *calculated as:*

6  $1 - LS_{meanN1} / LS_{meanN0}$

7 *According to the formula, as values become more negative, there is a stronger effect of nitrogen in increasing susceptibility.*  
 8 *Positive values correspond to a decrease of susceptibility. P-Values were obtained from a Student Test*

9 .

## 1 Discussion

2           In this study, we demonstrated the negative impact (8% on average) of nitrogen fertilization on  
3 rice partial resistance to *M. oryzae* strain CD203. Until now, the Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS)  
4 phenotype had only been observed on a limited number of rice genotypes [24]. We thus extend the  
5 characterization of NIS to an entire rice subspecies. We have also demonstrated that this phenotype  
6 varies among genotypes, with a significant Genotype x Nitrogen interaction. We provide evidence that  
7 a very small number of genotypes show increased resistance under high nitrogen (Additional file 1), a  
8 promising finding for breeders. We also identified a QTL, *RRobNI*, with an allele conferring partial  
9 resistance even in the high nitrogen environment. These results indicate that genetic solutions for robust  
10 resistance to the blast fungus across nitrogen environments are available in rice temperate japonicas.

11           Moreover, in addition to the already known locus *NIS1* [24], we identified two QTL (*NIS2* and  
12 *NIS3*) implicated in NIS phenotype. Finally, we observed variation in the effects of the QTL depending  
13 on the pathogen strain, suggesting that the effect of nitrogen on plant resistance may vary from one  
14 fungal isolate interaction to another, like in other pathosystems [70-72].

15           The change in susceptibility to rice blast under nitrogen fertilisation was twice as large in plants  
16 carrying the *NIS2-1* allele than the mean reaction of the panel (a 17% increase instead of 8%, **Figure**  
17 **51 B**). Similarly, plants with the *NIS3-1* allele showed a greater increase (15%) in susceptibility  
18 following nitrogen treatment than *NIS3-3* genotypes (7% **Figure 51 C**). In this respect, the *NIS2-1* and  
19 *NIS3-3* alleles have similar consequences on susceptibility under high nitrogen. However, *NIS3* differs  
20 from *NIS2* because its impact on susceptibility is observed across the nitrogen environments. Indeed,  
21 plants with the *NIS3-1* haplotype were observed to be less susceptible than those carrying *NIS3-3*  
22 independent of nitrogen treatment, while *NIS2-1* differs from *NIS2-2* only under conditions of high  
23 nitrogen.

1           The use of NIS Index (NISI) proved useful for measuring changes in susceptibility following  
2 nitrogen treatment since the NIS3 locus was only detected in the GWAS using the NISI as our  
3 phenotype. Indeed, the NISI allowed us to recognize genotypes both more and less robust to the effects  
4 of nitrogen fertilization on susceptibility compared to the mean reaction of all the population. Such an  
5 index is particularly useful when a uni-directional effect is observed, as in the case of drought and  
6 salinity, which quite often have a similar effects on the whole panel but with varying intensity [43, 73,  
7 74]. Similar indexes were used in other association studies on the robustness of the yield to abiotic stress  
8 in various species [44, 75]. Other indexes of robustness that do not take into account an overall effect in  
9 the population do exist, and it would be interesting to examine their utility in cases such as NIS [43].  
10 Our study shows that using a robustness index is promising in GWA studies on disease susceptibility  
11 induced by perturbations of the environment. However, the results of the CL26 experiment calls for  
12 caution. Contrary to the global and unidirectional effects on yield of the abiotic stresses mentioned  
13 above, the addition of nitrogen does not always trigger population-wide changes in susceptibility across  
14 a panel of genotypes. Instead, genotypes can vary in both the magnitude and direction of changes in  
15 susceptibility following nitrogen treatment. These multi-directional effects could be due to another key  
16 element that is not present in abiotic stress models, which is the pathogen. It is the host/pathogen  
17 interaction that is impacted by nitrogen fertilization and not only the plant response. Nitrogen  
18 fertilization has an impact on pathogen effector expression [26]. This modification of the virulence of  
19 the pathogen may be isolate-dependent like in other pathosystems [76].

20           Understanding the underlying genetic control of NIS is difficult to determine due to a relatively  
21 weak effect of nitrogen (8%) and a relatively rare NIS phenotype in temperate japonica (14%).  
22 Moreover, the heritability of the NISI phenotype was relatively low (0.1). Traits measured under  
23 combined stress often have lower heritability, making QTL identification difficult [41]. Thus an elevated  
24 heritability of robustness is not easy to reach because it may not be related to a specific gene or genes  
25 of large or moderate effect, but instead due to many genes scattered throughout the genome contributing  
26 to a certain level of robustness to a stress [77]. Therefore, there might be other loci with modest effects  
27 on the phenotype not identify in this study. For example, in a robust genotype, the presence of functional  
28 redundancy between different genes could buffer the immune response to changes in the environment  
29 [77]. In that case, the resistance will be conferred by one gene in N0 environment and by the redundant  
30 gene in N1 environment.

1           The NIS phenotype is relatively rare (14%) in our panel. To understand why resistance in  
2 temperate japonica is so frequently robust to nitrogen fertilization, we searched for possible reasons why  
3 the *NIS3-3* allele is widespread in the temperate japonica sub-population. The *NIS3* locus contains the  
4 *RIPER6* gene, with a high-frequency allelic variant conferring cold-resistance in the temperate japonica  
5 population [65]. Among the 3000 genomes available for screening, this allelic variant of *RIPER6* was  
6 found in 90% of temperate japonica that had the detrimental *NIS3-3* allele (Additional file 16). Thus in  
7 temperate japonica, alleles promoting robustness may be linked with allelic variants of genes conferring  
8 high fitness in a temperate environment [78]. This suggests that robustness of susceptibility to rice blast  
9 may have arisen through a hitchhiking effect from selection for cold hardiness.

10           While a lack of study does not yet allow a full understanding of the mechanisms involved in  
11 robustness of resistance in variable environments, several hypotheses can be proposed. A first family of  
12 hypothesis to explain the increase in susceptibility in the presence of nitrogen could be the existence of  
13 biotic stress regulators that may be down-regulated by nitrogen or possibly regulating the cross-talk  
14 between primary metabolism and the defense response. Consistent with the later mechanism, a GWA  
15 study using the fold-change in expression of *PLANT DEFENSIN1.2* (*PDF1.2*) transcripts between  
16 combined and single hormonal treatments identified a locus involved in the cross-talk between biotic  
17 and abiotic stress [40]. Since some alleles of *NIS3* confer susceptibility *per se*, this locus could regulate  
18 blast susceptibility under nitrogen by such a mechanism. Indeed, molecular regulation at the  
19 transcriptional level is not necessarily the sum of the responses of each condition in a combined  
20 environment [79]. If an allele functions to allow the immune response to always exceed a sufficient  
21 threshold despite certain disturbances, this makes the final phenotype robust to those disturbances.

1 A second hypothesis is that NIS may be due to the presence of a regulator of primary metabolism  
2 targeted by *M. oryzae* to enhance its infection process. NIS2 contains the gene NADH-GOGAT2  
3 encoding a glutamate synthetase, an enzyme active in leaf plastids that converts glutamine to glutamate  
4 [80]. The reverse reaction is catalyzed by Glutamine Synthetase (GS) allowing the production of  
5 Glutamin from Glutamate and  $\text{NH}_4^+$  [81]. Several observations indicate that the NADH-GOGAT2  
6 enzyme could be a good candidate for NIS2. Indeed, the GS/GOGAT cycle has already been shown to  
7 be a determinant in plant-pathogen interactions, impacting different plant defense strategies [72].  
8 Moreover we have previously shown that the GS1-2 gene was differentially expressed upon blast  
9 infection under high nitrogen conditions and is involved in NIS [26]. In addition, the rice NIS1 locus  
10 that confers NIS contains the NADH-GOGAT1 gene [24]. Finally, glutamate has been shown to induce  
11 resistance to *M. oryzae* after root application in rice [82] and in *A. thaliana* [83]. All these results suggest  
12 that the Glutamate/Glutamine cycle has a strong impact on the rice-blast pathosystem. The addition of  
13 extra nitrogen the day before inoculation could disrupt this cycle, causing NIS in some genotypes.  
14 Genotypes with the NIS2-1 allele could have different NADH-GOGAT activities and thus be more  
15 sensitive to an input of nitrogen. Consistent with this hypothesis, the rice Kasalath genotype (from which  
16 NIS1 susceptible allele was isolated) is known to be more susceptible to rice blast in the N1 condition  
17 and to display less NADH-GOGAT protein than Nipponbare, a genotype where nitrogen is known to  
18 have less of an impact on resistance [84].

19

## 20 Conclusion

21 The rice blast/japonica temperate rice pathosystem is partially impacted by NIS. We have adapted an  
22 index traditionally used for the study of abiotic stress to the study of NIS. This NIS index was used in a  
23 GWA study, in parallel with traditional methods using susceptibility phenotypes. Three new QTL were  
24 identified with different effects. First, the R allele of *RRobNI* locus provided resistance that was robust  
25 to the different nitrogen fertilization regimes, and should be selected in breeding programs. Second, the  
26 *NIS2-1* allele enhanced NIS, an effect potentially arising from the actions of a *NADH\_GOGAT2* gene,  
27 and should be avoided in breeding programs. Third the *NIS3* locus, which was detected using the NIS  
28 index, confers susceptibility *per se* and enhances susceptibility under high nitrogen. The detrimental  
29 *NIS3-3* haplotype has possibly increased in frequency by genetic hitchhiking with an otherwise  
30 favorable allele for cold resistance, resulting in a reduced plasticity of susceptibility to nitrogen in the  
31 temperate japonica.

## Partie 3

### 1     *Abbreviations*

2     NIS: Nitrogen Induced Susceptibility; NISI: Nitrogen Induced Susceptibility Index; QTL: Quantitative  
3     trait locus; GWAS: Genome wide association study; N0: low nitrogen condition; N1: high nitrogen  
4     condition; LSM: Least Square Means; NI: Nitrogen Impact; h<sup>2</sup>: Heritability; SNP: Single nucleotide  
5     polymorphism; LD: Linkage disequilibrium; PCA: Principal Component Analysis; MLM: Mixed linear  
6     model.

### 7     *Declarations*

8     -Ethics approval and consent to participate: Not applicable

9     -Consent for publication: Not applicable

10    -Availability of data and material: phenotypic data are available on demand. Seeds can be obtained from  
11    Biological resource center for seeds (BRC GAMÈT) in Montpellier.

12    -Competing interests: the authors declare that they have no competing interests.

13    -Funding: This work was supported by a PhD grants from INRAE and Region Occitanie. The  
14    phenotyping experiments were supported by the SEPYA project from the FSOV program (Plant  
15    Breeding Support Fund). Salaries of EB and JBM are supported by French ministry of Agriculture.

16    -Authors' contributions: MF and MO took care of the plants, inoculation, and disease symptom analysis.  
17    AB and JF provided the plant population. MF conducted all statistical analyses, GWAS, and LD  
18    calculation. EB designed the experiments. MF drafted the manuscript. JF created and provided genomic  
19    data. EB and JBM supervised the experimental design, data analysis and participated in writing the  
20    manuscript. All authors approved the final manuscript.

21    -Acknowledgements: We are thankful to Loïc Fontaine and Henri Adreit for taking care of the plants  
22    and Aurélie Ducasse for lab management. We are thankful to François Bonnot, Brigitte Courtois and  
23    Jacques David for their support for data analysis.

## References

1. Kraehmer H, Thomas C, Vidotto F: Rice production in Europe. In: Rice production worldwide. 2017: 93-116.
2. Courtois B, Frouin J, Greco R, Bruschi G, Droc G, Hamelin C, Ruiz M, Clément G, Evrard J-C, van Coppenole S et al: Genetic Diversity and Population Structure in a European Collection of Rice. *Crop Science* 2012, 52(4):1663-1675.
3. Asibi AE, Chai Q, Coulter JA: Rice blast: a disease with implications for global food security. *Agronomy* 2019, 9(8):451.
4. Martin-Urdiroz M, Oses-Ruiz M, Ryder LS, Talbot NJ: Investigating the biology of plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Fungal Genetics and Biology* 2016, 90:61-68.
5. Srivastava D, Shamim M, Kumar M, Mishra A, Pandey P, Kumar D, Yadav P, Siddiqui MH, Singh KN: Current status of conventional and molecular interventions for blast resistance in rice. *Rice Science* 2017, 24(6):299-321.
6. Ashkani S, Rafii MY, Shabanimofrad M, Ghasemzadeh A, Ravanfar SA, Latif MA: Molecular progress on the mapping and cloning of functional genes for blast disease in rice (*Oryza sativa* L.): current status and future considerations. *Critical Reviews in Biotechnology* 2016, 36(2):353-367.
7. Wang B-h, Ebbole DJ, Wang Z-h: The arms race between *Magnaporthe oryzae* and rice: Diversity and interaction of Avr and R genes. *Journal of Integrative Agriculture* 2017, 16(12):2746-2760.
8. Zhao K, Tung C-W, Eizenga GC, Wright MH, Ali ML, Price AH, Norton GJ, Islam MR, Reynolds A, Mezey J: Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nature communications* 2011, 2:467.
9. Wang C, Yang Y, Yuan X, Xu Q, Feng Y, Yu H, Wang Y: Genome-wide association study of blast resistance in indica rice. *BMC plant biology* 2014, 14(1):311.
10. Huang X, Yang S, Gong J, Zhao Y, Feng Q, Gong H, Li W, Zhan Q, Cheng B, Xia J: Genomic analysis of hybrid rice varieties reveals numerous superior alleles that contribute to heterosis. *Nature communications* 2015, 6:6258.
11. Kang H, Wang Y, Peng S, Zhang Y, Xiao Y, Wang D, Qu S, Li Z, Yan S, Wang Z et al: Dissection of the genetic architecture of rice resistance to the blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Mol Plant Pathol* 2016, 17(6):959-972.
12. Zhu D, Kang H, Li Z, Liu M, Zhu X, Wang Y, Wang D, Wang Z, Liu W, Wang G-L: A genome-wide association study of field resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice. *Rice* 2016, 9(1):44.
13. Raboin L-M, Ballini E, Tharreau D, Ramanantsoanirina A, Frouin J, Courtois B, Ahmadi N: Association mapping of resistance to rice blast in upland field conditions. *Rice* 2016, 9(1):59.
14. Guo L, Guo W, Zhao H, Wang J, Liu H, Sun J, Zheng H, Sha H, Zou D: Association mapping and resistant alleles' analysis for japonica rice blast resistance. *Plant Breeding* 2015, 134(6):646-652.
15. Mgonja EM, Park CH, Kang H, Balimponya EG, Opiyo S, Bellizzi M, Mutiga SK, Rotich F, Ganeshan VD, Mabagala R: Genotyping-by-sequencing-based genetic analysis of African rice cultivars and association mapping of blast resistance genes against *Magnaporthe oryzae* populations in Africa. *Phytopathology* 2017, 107(9):1039-1046.
16. Lin H-A, Chen S-Y, Chang F-Y, Tung C-W, Chen Y-C, Shen W-C, Chen R-S, Wu C-W, Chung C-L: Genome-wide association study of rice genes and loci conferring resistance to *Magnaporthe oryzae* isolates from Taiwan. *Botanical Studies* 2018, 59(1):32.
17. Li C, Wang D, Peng S, Chen Y, Su P, Chen J, Zheng L, Tan X, Liu J, Xiao Y et al: Genome-wide association mapping of resistance against rice blast strains in South China and identification of a new Pik allele. *Rice* 2019, 12(1):47.
18. Lu Q, Wang C, Niu X, Zhang M, Xu Q, Feng Y, Yang Y, Wang S, Yuan X, Yu H et al: Detecting novel loci underlying rice blast resistance by integrating a genome-wide association study and RNA sequencing. *Molecular Breeding* 2019, 39(6):81.

19. Gallet R, Fontaine C, Bonnot F, Milazzo J, Tertois C, Adreit H, Ravigné V, Fournier E, Tharreau D: Evolution of Compatibility Range in the Rice–Magnaporthe oryzae System: An Uneven Distribution of R Genes Between Rice Subspecies. *Phytopathology*<sup>TM</sup> 2016, 106(4):348-354.
20. Bonman JM: Durable resistance to rice blast disease — environmental influences. In: *Breeding for Disease Resistance*. Edited by Johnson R, Jellis GJ. Dordrecht: Springer Netherlands; 1992: 115-123.
21. Wang G-L, Valent B: Durable resistance to rice blast. *Science* 2017, 355(6328):906-907.
22. Sester M, Raveloson H, Tharreau D, Dusserre J: Conservation agriculture cropping system to limit blast disease in upland rainfed rice. *Plant Pathology* 2014, 63(2):373-381.
23. Pooja K, Katoch A: Past, present and future of rice blast management. *Plant Science Today* 2014, 1(3):165-173.
24. Ballini E, Nguyen TT, Morel JB: Diversity and genetics of nitrogen-induced susceptibility to the blast fungus in rice and wheat. *Rice (N Y)* 2013, 6(1):32.
25. Talukder ZI, McDonald AJS, Price AH: Loci controlling partial resistance to rice blast do not show marked QTL × environment interaction when plant nitrogen status alters disease severity. *New Phytologist* 2005, 168(2):455-464.
26. Huang H, Nguyen Thi Thu T, He X, Gravot A, Bernillon S, Ballini E, Morel J-B: Increase of fungal pathogenicity and role of plant glutamine in Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS) to rice blast. *Frontiers in plant science* 2017, 8:265-265.
27. Arnold PA, Kruuk LEB, Nicotra AB: How to analyse plant phenotypic plasticity in response to a changing climate. *New Phytologist* 2019, 222(3):1235-1241.
28. Félix M-A, Barkoulas M: Pervasive robustness in biological systems. *Nature Reviews Genetics* 2015, 16(8):483-496.
29. Bhandari A, Bartholomé J, Cao-Hamadoun T-V, Kumari N, Frouin J, Kumar A, Ahmadi N: Selection of trait-specific markers and multi-environment models improve genomic predictive ability in rice. *PLoS One* 2019, 14(5):e0208871.
30. El-Soda M, Malosetti M, Zwaan BJ, Koornneef M, Aarts MGM: Genotype × environment interaction QTL mapping in plants: lessons from Arabidopsis. *Trends in Plant Science* 2014, 19(6):390-398.
31. Coolen S, Van Pelt JA, Van Wees SCM, Pieterse CMJ: Mining the natural genetic variation in Arabidopsis thaliana for adaptation to sequential abiotic and biotic stresses. *Planta* 2019, 249(4):1087-1105.
32. Proietti S, Caarls L, Coolen S, Van Pelt JA, Van Wees SCM, Pieterse CMJ: Genome-wide association study reveals novel players in defense hormone crosstalk in Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment* 2018, 41(10):2342-2356.
33. Thoen MPM, Davila Olivas NH, Kloth KJ, Coolen S, Huang P-P, Aarts MGM, Bac-Molenaar JA, Bakker J, Bouwmeester HJ, Broekgaarden C et al: Genetic architecture of plant stress resistance: multi-trait genome-wide association mapping. *New Phytologist* 2017, 213(3):1346-1362.
34. Fang N, Wei X, Shen L, Yu Y, Li M, Yin C, He W, Guan C, Chen H, Zhang H et al: Fine mapping of a panicle blast resistance gene Pb-bd1 in Japonica landrace Bodao and its application in rice breeding. *Rice* 2019, 12(1):18.
35. Nobori T, Tsuda K: The plant immune system in heterogeneous environments. *Current Opinion in Plant Biology* 2019, 50:58-66.
36. Mukherjee A, Nk M, Bose L, Jambhulkar N, Nayak P: Additive main effects and multiplicative interaction (AMMI) analysis of G×E interactions in rice-blast pathosystem to identify stable resistant genotypes. *African journal of agricultural research* 2013, 8:5492-5507.
37. Persaud R, Saravanakumar D: Screening for blast resistance in rice using AMMI models to understand G × E interaction in Guyana. *Phytoparasitica* 2018, 46(4):551-568.
38. Das A, Parihar AK, Saxena D, Singh D, Singha KD, Kushwaha KPS, Chand R, Bal RS, Chandra S, Gupta S: Deciphering genotype-by-environment interaction for targeting test environments and rust resistant genotypes in field Pea (*Pisum sativum* L.). *Frontiers in plant science* 2019, 10:825-825.



39. Gutiérrez L, Germán S, Pereyra S, Hayes PM, Pérez CA, Capettini F, Locatelli A, Berberian NM, Falconi EE, Estrada R et al: Multi-environment multi-QTL association mapping identifies disease resistance QTL in barley germplasm from Latin America. *Theoretical and Applied Genetics* 2015, 128(3):501-516.
40. Persaud R, Saravanakumar D, Persaud M: Identification of Resistant Cultivars for Sheath Blight and use of AMMI Models to Understand Genotype and Environment Interactions. *Plant Disease* 2019, 103(9):2204-2211.
41. Peyraud R, Cottret L, Marmiesse L, Genin S: Control of primary metabolism by a virulence regulatory network promotes robustness in a plant pathogen. *Nature Communications* 2018, 9(1):418.
42. Tahmasebi S, Heidari B, Pakniyat H, McIntyre CL: Mapping QTLs associated with agronomic and physiological traits under terminal drought and heat stress conditions in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 2017, 60(1):26-45.
43. Morton MJL, Awlia M, Al-Tamimi N, Saade S, Pailles Y, Negrão S, Tester M: Salt stress under the scalpel – dissecting the genetics of salt tolerance. *The Plant Journal* 2019, 97(1):148-163.
44. Wehner GG, Balko CC, Enders MM, Humbeck KK, Ordon FF: Identification of genomic regions involved in tolerance to drought stress and drought stress induced leaf senescence in juvenile barley. *BMC Plant Biology* 2015, 15(1):125.
45. Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, Gaillard S, Berger A, Dioh W, Lebrun MH, Tharreau D: Identification and fine mapping of Pi33, the rice resistance gene corresponding to the Magnaporthe grisea avirulence gene ACE1. *TAG Theoretical and applied genetics Theoretische und angewandte Genetik* 2003, 107(6):1139-1147.
46. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S: Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. 2015 2015, 67(1):48.
47. Lenth RV: Least-Squares Means: The R Package lsmeans. 2016 2016, 69(1):33.
48. Frouin J, Languillaume A, Mas J, Mieulet D, Boissard A, Labeyrie A, Bettembourg M, Bureau C, Lorenzini E, Portefaix M et al: Tolerance to mild salinity stress in japonica rice: A genome-wide association mapping study highlights calcium signaling and metabolism genes. *PLoS One* 2018, 13(1):e0190964-e0190964.
49. Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES: TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics (Oxford, England)* 2007, 23(19):2633-2635.
50. Graham J, McNeney B, Blay S, Shin J-H: LDheatmap: An R Function for Graphical Display of Pairwise Linkage Disequilibria Between Single Nucleotide Polymorphism. *Journal of Statistical Software* 2006, 16.
51. Endelman JB, Jannink J-L: Shrinkage estimation of the realized relationship matrix. *G3 (Bethesda, Md)* 2012, 2(11):1405-1413.
52. Vergne E, Ballini E, Droc G, Tharreau D, Nottoghem JL, Morel JB: ARCHIPELAGO: a dedicated resource for exploiting past, present, and future genomic data on disease resistance regulation in rice. *Mol Plant Microbe Interact* 2008, 21(7):869-878.
53. Mansueto L, Fuentes RR, Borja FN, Detras J, Abriol-Santos JM, Chebotarov D, Sanciangco M, Palis K, Copetti D, Poliakov A et al: Rice SNP-seek database update: new SNPs, indels, and queries. *Nucleic acids research* 2016, 45(D1):D1075-D1081.
54. Ballini E, Morel JB, Droc G, Price A, Courtois B, Nottoghem JL, Tharreau D: A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance. *Molecular plant-microbe interactions : MPMI* 2008, 21(7):859-868.
55. Ballini E, Morel J-B, Droc G, Price A, Courtois B, Nottoghem J-L, Tharreau D: A Genome-Wide Meta-Analysis of Rice Blast Resistance Genes and Quantitative Trait Loci Provides New Insights into Partial and Complete Resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions®* 2008, 21(7):859-868.
56. Qi J, Zhou G, Yang L, Erb M, Lu Y, Sun X, Cheng J, Lou Y: The Chloroplast-Localized Phospholipases D  $\alpha$ 4 and  $\alpha$ 5 Regulate Herbivore-Induced Direct and Indirect Defenses in Rice. *Plant Physiology* 2011, 157(4):1987-1999.
57. Yamaguchi T, Kuroda M, Yamakawa H, Ashizawa T, Hirayae K, Kurimoto L, Shinya T, Shibuya N: Suppression of a phospholipase D gene, OsPLD $\beta$ 1, activates defense responses and increases disease resistance in rice. *Plant Physiology* 2009, 150(1):308-319.

58. Nakashima A, Chen L, Thao NP, Fujiwara M, Wong HL, Kuwano M, Umemura K, Shirasu K, Kawasaki T, Shimamoto K: RACK1 functions in rice innate immunity by interacting with the Rac1 immune complex. *The Plant cell* 2008, 20(8):2265-2279.
59. Kashihara K, Onohata T, Okamoto Y, Uji Y, Mochizuki S, Akimitsu K, Gomi K: Overexpression of OsNINJA1 negatively affects a part of OsMYC2-mediated abiotic and biotic responses in rice. *Journal of Plant Physiology* 2019, 232:180-187.
60. Yamada S, Kano A, Tamaoki D, Miyamoto A, Shishido H, Miyoshi S, Taniguchi S, Akimitsu K, Gomi K: Involvement of OsJAZ8 in Jasmonate-Induced Resistance to Bacterial Blight in Rice. *Plant and Cell Physiology* 2012, 53(12):2060-2072.
61. Bao Y-M, Sun S-J, Li M, Li L, Cao W-L, Luo J, Tang H-J, Huang J, Wang Z-F, Wang J-F et al: Overexpression of the Qc-SNARE gene OsSYP71 enhances tolerance to oxidative stress and resistance to rice blast in rice (*Oryza sativa* L.). *Gene* 2012, 504(2):238-244.
62. El-Kereamy A, Bi Y-M, Ranathunge K, Beatty PH, Good AG, Rothstein SJ: The rice R2R3-MYB transcription factor OsMYB55 is involved in the tolerance to high temperature and modulates amino acid metabolism. *PLoS One* 2012, 7(12):e52030-e52030.
63. Yoneyama T, Tanno F, Tatsumi J, Mae T: Whole-Plant Dynamic System of Nitrogen Use for Vegetative Growth and Grain Filling in Rice Plants (*Oryza sativa* L.) as Revealed through the Production of 350 Grains from a Germinated Seed Over 150 Days: A Review and Synthesis. *Frontiers in plant science* 2016, 7:1151-1151.
64. Han C-s, Kim S, Lee S-e, Choi S, Kim S-h, Yoon Is, Hwang Y-s: Cross-talk between ABA and sugar signaling is mediated by the ACGT core and CE1 element reciprocally in OsTIP3;1 promoter. *Journal of Plant Physiology* 2018, 224-225:103-111.
65. Xiao N, Gao Y, Qian H, Gao Q, Wu Y, Zhang D, Zhang X, Yu L, Li Y, Pan C et al: Identification of Genes Related to Cold Tolerance and a Functional Allele That Confers Cold Tolerance. *Plant physiology* 2018, 177(3):1108-1123.
66. Hu Y, Wu Q, Peng Z, Sprague SA, Wang W, Park J, Akhunov E, Jagadish KSV, Nakata PA, Cheng N et al: Silencing of OsGRXS17 in rice improves drought stress tolerance by modulating ROS accumulation and stomatal closure. *Scientific reports* 2017, 7(1):15950-15950.
67. Yang C, Yu Y, Huang J, Meng F, Pang J, Zhao Q, Islam MA, Xu N, Tian Y, Liu J: Binding of the Magnaporthe oryzae Chitinase MoChia1 by a Rice Tetratricopeptide Repeat Protein Allows Free Chitin to Trigger Immune Responses. *The Plant cell* 2019, 31(1):172-188.
68. Kwon C-T, Kim S-H, Song G, Kim D, Paek N-C: Two NADPH: Protochlorophyllide Oxidoreductase (POR) Isoforms Play Distinct Roles in Environmental Adaptation in Rice. *Rice (New York, NY)* 2017, 10(1):1-1.
69. Anukul N, abilgos-ramos R, Mehrshahi P, Santoyo A, Parker H, Dievart A, Lanau N, Mieulet D, Tucker G, Guiderdoni E et al: Folate Polyglutamylolation is Required for Rice Seed Development. *Rice* 2010, 3:181-193.
70. Dordas C: Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 2008, 28(1):33-46.
71. Fagard M, Launay A, Clement G, Courtial J, Dellagi A, Farjad M, Krapp A, Soulie MC, Masclaux-Daubresse C: Nitrogen metabolism meets phytopathology. *J Exp Bot* 2014, 65(19):5643-5656.
72. Seifi HS, Van Bockhaven J, Angenon G, Hofte M: Glutamate metabolism in plant disease and defense: friend or foe? *Mol Plant Microbe Interact* 2013, 26(5):475-485.
73. Fischer R, Maurer R: Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research* 1978, 29(5):897-912.
74. Golabadi M, Arzani A, Maibody SM: Assessment of drought tolerance in segregating populations in durum wheat. *African Journal of Agricultural Research* 2006, 1(5):162-171.

75. Sukumaran S, Reynolds MP, Sansaloni C: Genome-Wide Association Analyses Identify QTL Hotspots for Yield and Component Traits in Durum Wheat Grown under Yield Potential, Drought, and Heat Stress Environments. *Frontiers in Plant Science* 2018, 9(81).
76. Abro MA, Lecompte F, Bryone F, Nicot PC: Nitrogen Fertilization of the Host Plant Influences Production and Pathogenicity of *Botrytis cinerea* Secondary Inoculum. *Phytopathology*<sup>TM</sup> 2013, 103(3):261-267.
77. de Visser JA, Hermisson J, Wagner G, Meyers L, Bagheri-Chaichian H, Blanchard J, Chao L, Cheverud J, Elena S, Fontana W et al: Evolution and detection of genetic robustness. *Evolution*. *Evolution* 2003, 57:1959.
78. DeWitt TJ, Sih A, Wilson DS: Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 1998, 13(2):77-81.
79. Rasmussen S, Barah P, Suarez-Rodriguez MC, Bressendorff S, Friis P, Costantino P, Bones AM, Nielsen HB, Mundy J: Transcriptome responses to combinations of stresses in *Arabidopsis*. *Plant physiology* 2013, 161(4):1783-1794.
80. Forde BG, Lea PJ: Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signalling. *Journal of Experimental Botany* 2007, 58(9):2339-2358.
81. Mifflin BJ, Habash DZ: The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. *Journal of Experimental Botany* 2002, 53(370):979-987.
82. Kadotani N, Akagi A, Takatsuji H, Miwa T, Igarashi D: Exogenous proteinogenic amino acids induce systemic resistance in rice. *BMC Plant Biol* 2016, 16:60.
83. Goto Y, Maki N, Ichihashi Y, Kitazawa D, Igarashi D, Kadota Y, Shirasu K: Exogenous Treatment with Glutamate Induces Immune Responses in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*<sup>®</sup> 2020, 33(3):474-487.
84. Obara M, Sato T, Yamaya T: High content of cytosolic glutamine synthetase does not accompany a high activity of the enzyme in rice (*Oryza sativa*) leaves of indica cultivars. *Physiologia Plantarum* 2000, 108(1):11-18.

## Additional files

All additional files are available on following link: <https://www.researchsquare.com/article/rs-35252/v2>

**Additional file 1:** *List of varieties phenotyped with CD203 strains and used for GWAS*

**Additional file 2:** *List of varieties phenotyped with CL26 strains*

**Additional file 3:** *List of varieties used as validation set*

Varieties have been selected for their k-group classification of 19 SNPs selected to characterize the NIS3 QTL.

**Additional file 4:** *Disease severity after inoculation with CL26 strain depending on Nitrogen conditions.*

Each point corresponds to the Lsmean of number of rice blast lesion for one genotype. In white, N0 corresponds to the low nitrogen condition, in grey N1 corresponds to the high nitrogen condition. Red diamonds corresponds to Lsmean for each treatment. The strains used for inoculation is CL26.

**Additional file 5:** *Analysis of Variance table of Nitrogen and Genotype effect on the number of lesion of rice blast by cm<sup>2</sup> of leaves.*

ANOVA calculated from linear model. Significance level at 0.05

**Additional file 6:** *Descriptive Statistic of Rice blast susceptibility by level of Nitrogen and NISI on the number of lesion of rice blast by cm<sup>2</sup> of leaves.*

**Additional file 7:** *Distribution of Nitrogen Induced Susceptibility Index.*

50% of panel has a NIS Index between -2 and 2.

**Additional file 8:** *Significant SNPs detected in each GWAS*

A SNP is considerate as significant when  $-\log(P) \geq 5$

**Additional file 9:** *QTLs detected from GWAS of Blast Susceptibility with nitrogen interaction*

Each QTL is given with the traits that led to its identification, the number of significant ( $-\log(P) \geq 5$ ) and sub-significant ( $4 \leq -\log(P) < 5$ ) SNPs contained, the maximum LOD score of the pics associated, and the number of genes present in the region.

**Additional file 10:** *RRobN and NIS2 effect on Number of lesions of CL26 strains infection*

Each point corresponds to the number of rice blast lesion on one leaf. N0 corresponds to the low nitrogen condition, and N1 is the high nitrogen condition. Red Diamond correspond to the LSmean of each allele of each QTL. Groups from a pairwise comparison with an independent Tukey adjustment for each QTL based on a model with Trials and genotype as covariates. The strains used is CL26.

**Additional file 11:** *Genes list present in RRobN QTL*

Gene functions from FunRiceGenes database. Thirteen unidentified genes, five retrotransposon genes, and two transposons have been omitted of this list

**Additional file 12:** *Genes list present in NIS2 QTL*

Genes function was annotated from FunRiceGenes data base and Orygenes database. Nineteen unidentified genes, three retrotransposon genes, and three transposons have been omitted from this list

**Additional file 13:** *2 major haplotypes for NIS3 present in the sample susceptible to CD203 determinate by k-group calculation with rice 3000 genomes database references*

**Additional file 14:** *Adjusted NIS Index by NIS3 allele with CL26 M.o strains infection.* Each point correspond to the adjusted *NIS index* of one repetition of one genotype calculated as :

$$1 - LS_{meanN1} / LS_{meanN0}$$

P-values are from a wilcoxon test

**Additional file 15:** *Genes list present in NIS3 QTL with*

Gene function from FunRiceGenes data base and Orygenes database. The fifth column correspond to the gene differentially expressed in Huang et al 2017. Nineteen unidentified genes, three retrotransposon genes, and three transposons have been omitted from this list.

## Partie 4 : Mise en relation de la NIS avec l'état physiologique en lien avec le métabolisme azoté

Dans la **Partie 1** nous avons mis en évidence une relation potentielle entre la NIS (mesurée en laboratoire) et l'efficacité de prélèvement post floral ainsi que l'efficacité de remobilisation (mesurées au champ). Ces résultats préliminaires, combinés à ceux de la diversité d'utilisation de l'azote décrite dans la **Partie 2** amènent à la proposition suivante : les variétés étudiées ont des profils d'utilisation de l'azote diversifiés et cela semble, en partie, correspondre à leur phénotype NIS. Ainsi il serait possible de mettre en relation les composantes de la NUE, un caractère global qui résulte de nombreux processus mis en place tout au long du cycle, avec la NIS, un trait ponctuel qui est mesuré dans nos expériences à quatre semaines de croissance. Or il a déjà été montré que dès le stade tallage, des gènes clefs pour la remobilisation ou la NUE pouvaient être différentiellement exprimés (Liang et al. 2014; Wada et al. 2015). Ces éléments nous amènent à faire l'hypothèse suivante : des cultivars avec des profils d'utilisation de l'azote contrastés pourraient réagir différemment au stimulus de l'ajout ponctuel de fertilisation au stade tallage, aboutissant à un phénotype NIS variable. Des variétés ayant une tendance à un fort prélèvement post floral et moins efficaces en remobilisation mettraient en place un processus particulier (mesurable par des analyses biochimiques et d'expression de gènes) en réponse à l'ajout d'azote au stade jeune qui pourrait déclencher la NIS.

Compte-tenu des résultats de biochimie de (Huang et al. 2017), de génétique de (Ballini et al. 2013) et du GWAS de la **Partie 3**, approfondir l'étude des effets de la fertilisation sur le métabolisme primaire (acides aminés et sucres) de la plante et les gènes associés serait un des moyens de tester cette hypothèse. Toutefois ces résultats ont été obtenus d'après les observations faites pour la seule feuille malade. Or l'ajout de l'azote induit une réaction systémique de la plante entière. En effet la concentration de certains acides aminés et/ou sucres est souvent liée à des phénomènes de remobilisation ou de transfert direct depuis les racines et varient selon l'âge de la feuille (Yoneyama et al. 2016). Il est donc nécessaire d'observer l'effet d'une telle fertilisation dans différents étages foliaires. C'est pourquoi en 2019 l'évaluation de la NIS et les analyses biochimiques et d'expression de gènes ont été faites sur trois rangs de feuilles, à l'image de l'étude de (Zhiyong Zhang et al. 2017).

L'objectif est d'évaluer si les compositions en sucres et acides aminés et l'expression de gènes de chaque feuille varient entre feuilles et d'un cultivar à l'autre, et comment ces profils évoluent avec l'ajout de fertilisation. Ces mesures de métabolites et leurs variations nous ont permis d'estimer l'état physiologique et les flux d'une feuille à l'autre. L'attendu est l'observation de profils différents en fonction des composantes de la NUE des variétés retenues. Cet état physiologique serait alors mis en parallèle des profils d'utilisation de l'azote et des phénotypes NIS.

Ainsi cette Partie est consacrée aux expériences de phytopathologie, aux analyses d'expression de gènes et aux dosages de métabolites réalisées en parallèle, ceci dans les mêmes conditions expérimentales et les mêmes génotypes que l'expérience décrite dans le **Chapitre III** de la Partie 2. L'objectif est de décrire les variations d'expression et de concentration dans chaque feuille en réponse à la fertilisation pour les confronter à la sensibilité induite par cette même fertilisation. La démarche se décompose en trois points: l'évaluation de la NIS, l'analyse d'expression de certains gènes de défense ou liés au métabolisme azoté sur deux années (2018 et 2019), et l'état physiologique global estimé par l'analyse de l'ensemble des données biochimiques acquises en 2019 sur un sous-panel de quatre variétés.

## Matériel et Méthodes

### **Mise en place des essais**

Les expériences effectuées ont été effectuées dans le dispositif serre mis en place en 2018 et 2019. Ainsi la localisation, la liste des géotypes, le protocole de semis, le réglage des conditions climatiques et l'irrigation ont été strictement les mêmes que ceux décrits **page 123**. Pour simplifier le discours nous définissons le lot de plantes inoculées comme l'expérience PATHO, et le lot de plantes dont les feuilles ont été analysées pour l'expression de gènes et en biochimie comme l'expérience METABO.

En 2018 le lot PATHO comprenait deux lots de plantes, un lot dont l'inoculation s'est faite à tallage et l'autre à floraison. Le cas des plantes inoculées à floraison a été traité **page 69**. Pour le lot inoculé à tallage, deux plantes ont été cultivées par pot, en suivant le protocole décrit **page 69**. Chaque géotype était répété 12 fois, avec 6 pots traités avec le traitement N et 6 avec le traitement N+1 (voir plus bas). Le lot de plantes METABO a été mis en place exactement de la même façon. Les deux lots de plantes ont été installés ensemble de manière randomisée.

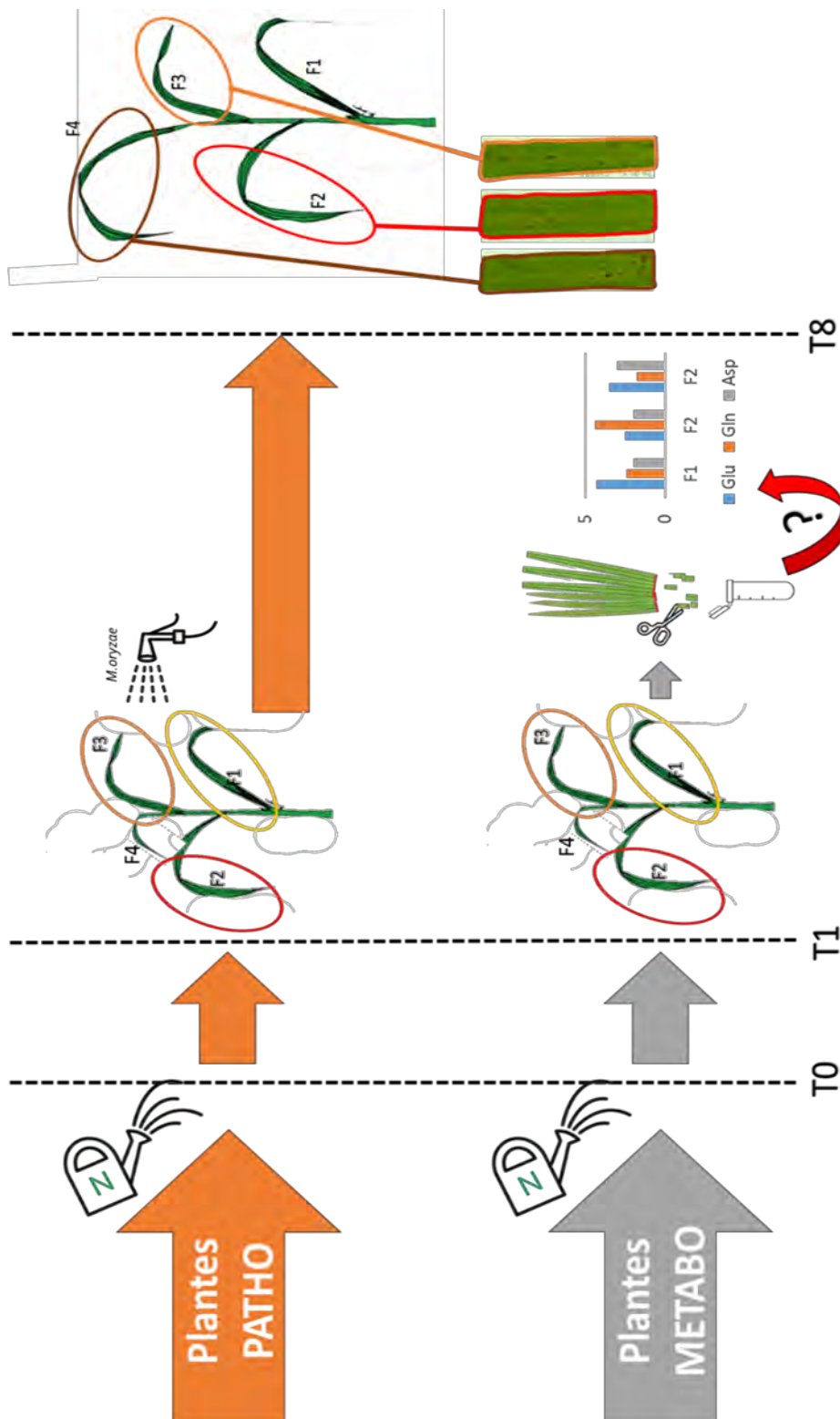
En 2019 le lot PATHO comprenait 8 répétitions (4 en N et 4 en N+1) tandis que le lot METABO comprenait 12 répétitions (6 pour N et 6 pour N+1). Pour cet essai les lots METABO et PATHO ont été placés et randomisés indépendamment.

L'étude de 2018 ne portant que sur la dernière feuille ligulée, les résultats de la combinaison des deux années ne porteront que sur le rang de feuille en commun.

### **Fertilisation différentielle**

Une fertilisation différentielle a été faite sur l'ensemble des deux lots de plantes le matin, après quatre semaines de croissance. Deux solutions fertilisantes ont été appliquées avec 200 ml apportés par pot : le traitement N avec la solution 0N et le traitement N+1 avec la solution N2 (composition en **Annexe 7**). Afin de favoriser l'absorption de cet apport, aucune irrigation n'a été effectuée la veille. Par la suite nous qualifierons le jour de fertilisation comme le T0.





**Figure 53 : Dispositif expérimental**

Les deux lots de plantes (PATHO et METABO) ont été cultivés dans les mêmes conditions, en serre en 2019, pendant quatre semaines avant d'être traités différemment avec ou sans azote (N+1 et N) à T0. Les plantes PATHO ont été inoculées 24h après (T1) par une suspension de spores de *M. oryzae*, et les feuilles F1, F2 et F3 des plantes METABO ont été prélevées pour analyse. La feuille F4 n'a pas été prélevée car trop jeune. Après sept jours (T8) les feuilles F2, F3 et F4 ont été récoltées pour en mesurer la sensibilité. Les symptômes ne sont pas mesurés sur la feuille F1 car trop âgée.

Les solutions N et N+1 sont fabriquées en laboratoire suivant le protocole en **Annexe 8**. Les deux solutions partagent la même composition en potassium, phosphore et micro- nutriments et ne diffèrent que pour leur composition en azote. Ainsi la solution N ne comprend aucun élément azoté, tandis que la solution N+1 contient 80mg/L d'amono-nitrate. Au final la modalité N comprend des plantes cultivées avec 1,7 g d'azote (3,5 g engrais retard pour 1 l de terreau), dont on estime la diffusion journalière d'azote à 14 mg ; la modalité N+1 correspond à des plantes cultivées dans les mêmes conditions que N mais avec un ajout de 16 mg supplémentaire via l'apport d'une solution fertilisante.

#### Protocole d'évaluation de la NIS

La souche de *M. oryzae* utilisée pour les inoculations des lots PATHO était la souche française *FR94*. Cette souche a été préalablement cultivée sur milieu de culture composé de 2% farines de riz, 2% agar, et 0,2% levures. Au bout d'une dizaine de jours les spores ont été récoltées et mises en suspension dans une solution de conservation (savoir-faire secret INRAE-Cirad) pour ensuite être conservées à -80°C. Le jour de l'inoculation les spores stockées ont été remises en suspension dans une solution de gélatine à 0,1% à une concentration de 50 000 spores.l<sup>-1</sup> via un comptage sur cellule de Malassez.

L'inoculation des plantes PATHO a eu lieu le lendemain du traitement azoté (T1). Les plantes ont été transférées de la serre à la chambre d'inoculation le matin pour être inoculées l'après-midi. L'inoculation s'est faite par l'aspersion de 50 ml de suspension de spores sur neuf pots en 2018. En 2019 pour optimiser l'inoculation de chaque feuille, les aspersion ont été faites avec 10 ml de suspension, pot par pot, en prenant garde d'asperger chaque feuille. Une fois les plantes inoculées, ces dernières sont placées 12 h dans une chambre obscure à 100 % humidité, et ensuite mises en phytotron jusqu'à l'analyse des symptômes.

Une fois les symptômes apparus (T8), les feuilles infestées sont scannées avec une résolution de 600dpi. En 2018 seule la dernière feuille complètement formée a été scannée (F4), tandis qu'en 2019 les trois dernières feuilles complètement développées de chaque plante ont été scannées (F4 ;F3,F2). La F1 était trop âgée pour que sa sensibilité soit correctement phénotypée (**Figure 53**). Les scans obtenus ont été analysés par le logiciel développé par le laboratoire, LeafTool (<https://rdr.io/github/sravel/LeAFtool/f/README.md>). Ce logiciel fournit un nombre de lésions détectées rapporté à la surface de chaque feuille scannée. La valeur NIS à proprement parler est définie comme l'augmentation de sensibilité en condition N+1 rapporté à la condition N tel que :

$$NIS = \frac{Nb.lésions_{N+1} - Nb.lésions_N}{Nb.lésions_N}$$

Molécules aminés détectées	Molécules non détectées
Alpha-Alanine	Beta-Alanine
Ammonium	Cystine
Arginine	Histidine
Asparagine	Hydroxyproline
Aspartate	Tryptophane
GABA	Raffinose
Glutamate	Arabinose
Glutamine	Cellobiose
Glycine	Dulcitol
Isoleucine	Fumarate
Leucine	Galactinol
Lysine	Galactose
Methionine	Gentiobiose
Methylcysteine	Glycolate
Ornithine	Glyoxylate
Phenylalanine	Maltose
Proline	Mannose
Serine	Melezitose
Threonine	Melibiose
Tyrosine	Raffinose
Citrate	Sorbitol
Fructose	Tréhalose
Glucose	Xylitol
Glycérate	Xylose.
Malate	
Mannitol	
Myo-Inositol	
Quinate	
Saccharose	
Succinate	

**Tableau 13 : Liste des molécules recherchées et détectées par l'analyse HPLC métabolomique .**

**Tableau 14 : Liste des gènes dont l'expression est mesurée par analyse RT-qPCR**

*L'expression de ces gènes a été déterminée par RT-qPCR par comparaison avec l'expression du gène constitutif de l'actine. L'identifiant des gènes dans la variété de référence Nipponbare est précisé sous « Gene code ».*

Nom	Nom complet	Gene code	Sequence F	Sequence R	2018	2019
Fd-GOGAT	Fd-dependent glutamate synthétase	Os07g46460	ATCGGATATGGTCCAGTGC	GCATCTCCGTTCCGATC	non	oui
NADH-GOGAT2	NADH dependent glutamate synthétase	Os05g48200	AAGGCCCTTGAGTAATACGTG	TTGTTAGCAACAGTCGCTCGG	oui	oui
OsAlaAT	Alanine Amino Transferase	Os10g25130	CCTCGTCATGAATCCACCAAGGC	TTGCACGGCGACTAATGATTG	non	oui
OsASN1	Asparagine synthetase	Os12g38630	TGGGCTTTGATATACTGGCAGAAG	CAGGTGATGGCCAATGTACCAAG	non	oui
OsASN2	Asparagine synthetase	Os06g15420	TGCGAGCGATTATATCTCTCC	TGTACCATCTCTTAGGCCACCTG	non	oui
OsGS1-1	Glutamine Synthetase cytosolique 1	Os02g50240	ACAGTGAGGTCATCCTGTACCC	GCAGATTGTGCCTCTTGTTG	oui	non
OsGS1-2	Glutamine Synthetase cytosolique 2	Os03g12290	AGCGAAGTGATCCTCTACCC	AGCAGTCGCACATCACAAG	oui	non
OsGS1-3	Glutamine Synthetase cytosolique 3	Os03g50490	GTTTGCCGGCATCAACATCAGC	GCCAGCAATCTCAGTGATCCTCTC	oui	oui
OsNIR	Nitrite reductase	Os01g25484	CAAGCTCTCCAAGGAGGACATC	GCATCATGAACCGCCCACTG	oui	oui
OsPOX223	Précurseur peroxidase	Os07g48020	ACGACGCCCAAGGCCTTC	CTCCAGCAACGAAGCATCC	oui	oui
OsPBZ1	pathogenesis-related Bet v I family protein	Os12g36880	CCTGCCGAATACGCCTAAGATG	AGAACACATTGAGACTTGCCCTCTC	oui	oui

### Prélèvement des échantillons pour le lot METABO

Pour chaque modalité génotype/azote nous avons à notre disposition douze plantes réparties deux par deux dans six pots. Un réplica biologique a représenté le prélèvement de trois feuilles de même rang issues de trois plantes différentes dans des pots différents. Ainsi pour une modalité azote/génotype, quatre répliques biologiques ont été effectués; seule la partie médiane des feuilles a été prélevée. Une fois prélevé, le pool de trois feuilles a été débité en petits morceaux et réparti dans deux tubes, le premier destiné à l'extraction d'ARN et le second à l'extraction des métabolites. Les tubes ont été placés immédiatement dans l'azote liquide après chaque prélèvement. En 2018 seule la dernière feuille ligulée a été prélevée (F3). En 2019 les deux étages foliaires précédents ont également été prélevés (F2 et F1). A ce moment du prélèvement la F4 n'était pas complètement formée et n'a donc pas été prélevée (**Figure 53**).

### Analyse des échantillons

Les mesures métabolomiques ont été effectuées sur un jeu restreint de génotypes. La composition de ce panel a été faite par rapport aux premiers résultats obtenus en NIS (2 NIS : et 2 non NIS) et au contraste de leur utilisation de l'azote (Discussion Générale Chapitre 2 **page 143**):

- ✓ *Cigalon*: NIS (Nitrogen Induced Susceptibility), qui a un profil très post floral avec peu de capacités à remobiliser
- ✓ *Gines*: NIS, qui prélève en post floral mais remobilise davantage que *Cigalon*
- ✓ *Brio*: non NIS, qui est intermédiaire mais prélève globalement moins que les autres avec un bon taux de remobilisation
- ✓ *Paco*: NIR (Nitrogen Induced Resistance), qui ne fait que très peu de prélèvement post floral et est presque exclusivement remobilisatrice.

Les échantillons destinés à l'analyse biochimique ont été lyophilisés. Par la suite, ces échantillons ont été broyés par un broyeur à billes de 5 mm de diamètre, sur six cycles de 60 s à 1300 mouvements par minute. Enfin les échantillons broyés ont été pesés pour obtenir 10 mg. Les échantillons ont ensuite été envoyés au Plateau de Profilage Métabolique et Métabolomique de l'INRAE de Rennes qui a assuré le dosage par HPLC des principaux acides aminés et sucres. La liste des métabolites mesurés est présentée dans le **Tableau 13**.

Les échantillons destinés à l'analyse d'expression ont été broyés à froid, puis les ARN ont été extraits pour ensuite être reverse-transcrits en ADNc selon le protocole en **Annexe 8**. L'expression des gènes listés dans le **Tableau 14**. Les neuf premiers gènes du **Tableau 14** sont des gènes liés au métabolisme azoté, les deux derniers (*PBZI* et *POX223*) sont des gènes de défenses connus.

## Analyses des données obtenues

*Cas de la NIS*

La NIS a été évaluée de deux manières : la première avec l'ensemble des données 2018/2019 obtenues pour la dernière feuille ligulée, la deuxième avec uniquement les données de 2019 mais en tenant compte du rang de la feuille. Ainsi deux modèles linéaires ont été utilisés :

$$(1) Y_n = \mu + \gamma_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_n$$

$$(2) Y_n = \mu + l_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha l)_{ik} + (\beta l)_{jk} + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\beta l)_{ijk} + \varepsilon_n$$

Avec  $Y_n$  le nombre de lésions observées par unité de surface;  $\mu$  la moyenne théorique,  $\gamma_k$  l'effet Année;  $\alpha_i$  l'effet génotype;  $\beta_j$  l'effet du traitement azote;  $(\alpha\beta)_{ij}$  l'interaction génotype:azote;  $l_k$  l'effet rang de la feuille;  $(\alpha l)_{ik}$  l'effet de l'interaction génotype:feuille;  $(\beta l)_{jk}$  l'interaction azote:feuille;  $(\alpha\beta l)_{ijk}$  l'interaction génotype:azote:feuille; et enfin  $\varepsilon_n$  l'effet résiduel. Dans ces modèles l'individu statistique correspond à une feuille scannée.

*Cas des analyses d'expression et biochimiques.*

Nous avons dans un premier temps rassemblé les données d'expression communes à 2018 et 2019. Ce jeu de données a été analysé de sorte à vérifier l'effet de l'azote sur l'expression de nos gènes d'intérêt ainsi que sur le différentiel d'expression d'un génotype à l'autre. Cette analyse s'est faite suivant le modèle (1) présenté précédemment avec  $Y_n$  prenant la valeur d'expression du gène étudié. Afin de réduire le bruit dû à l'année de mesure, les données ont été centrées réduites par bloc expérimental pour chaque année.

Dans un second temps nous avons mis en commun les données d'expression et de biochimie de 2019. La première étape fut de retirer les variables mesurées avec des valeurs nulles. Ensuite nous avons effectué une analyse clairsemée discriminante par moindres carrés partiels (sparse Partial Least Squares -Discriminant Analysis, ou sPLS-DA). Il s'agit d'une classification linéaire qui permet une discrimination dirigée selon les groupes pré-établis dans lesquels on déclare chaque individu. Ce type d'analyse permet un meilleur discernement des groupes déclarés qu'une ACP : les projections des variables par ce type d'analyse permettent d'identifier les variables discriminant les groupes. L'analyse clairsemée permet de sélectionner les variables les plus prédictives ou discriminantes dans les données qui aident à classer les échantillons (Lê Cao et al. 2011). Les variables les plus pertinentes ont ensuite été analysées statistiquement via un modèle linéaire similaire au modèle (2) où  $Y_n$  prend la valeur de la variable étudiée (expression de gène ou concentration d'un métabolite).

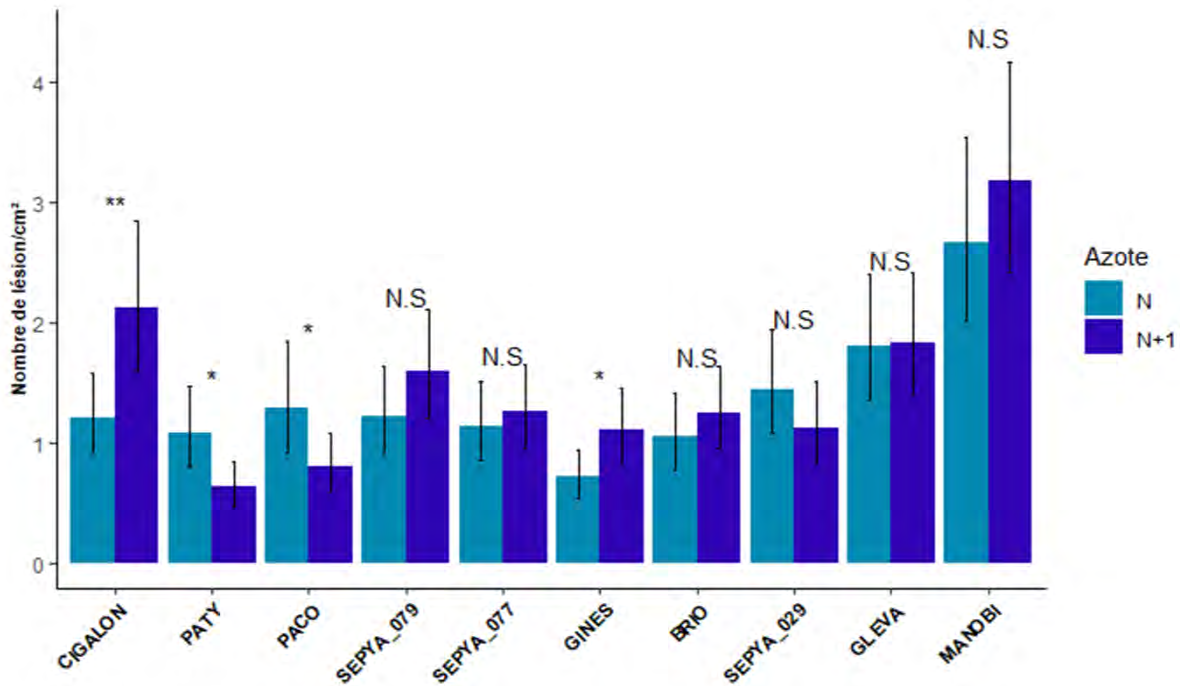
Les analyses ont été conduites sous le logiciel R. Les modèles linéaires et les moyennes ajustées issues de ces modèles ont été compilées via les package *lme4* et *emmeans*. Les sPLS-DA ont été calculées via le package *mixomics*.

## Résultats

**Le niveau de NIS varie au sein du panel, et est lié à la diversité des efficacités de prélèvement post-floral.**

Le cumul des résultats des expérimentations NIS des deux années n'a pas montré d'effet global du traitement avec une moyenne de 1,28 lésions par cm<sup>2</sup> en N et 1,35 en N+1. Cependant une interaction génotype:traitement (0,00168 \*\*) est constatée. a été constaté. Ainsi parmi les dix génotypes évalués, seuls *Cigalon* et *Gines* étaient significativement plus sensibles dans la condition N+1 (phénotype NIS) avec des augmentations de 77% et 54% du nombre de lésions par surface. A l'opposé deux autres génotypes, *Paty* et *Paco*, ont montré une résistance accrue en condition N+1 avec en moyenne 40% de lésions en moins dans la condition azotée (phénotype NIR: Nitrogen-Induced Resistance; (**Figure 54**)). Les 6 autres génotypes ont été déclarés "no NIS". Il est intéressant de constater que l'augmentation de sensibilité induite par l'azote n'était pas liée au niveau de sensibilité de base. De même, on constate que l'azote n'a pas eu d'effet sur l'expression des gènes de défense testés et que les variétés NIS avaient des niveaux d'expression significativement plus forts que les variétés no NIS ou NIR, confirmant l'hypothèse que la NIS n'est pas causée par une réduction des défenses comme précédemment démontré par Huang et al (2017) (**Figure 54**).

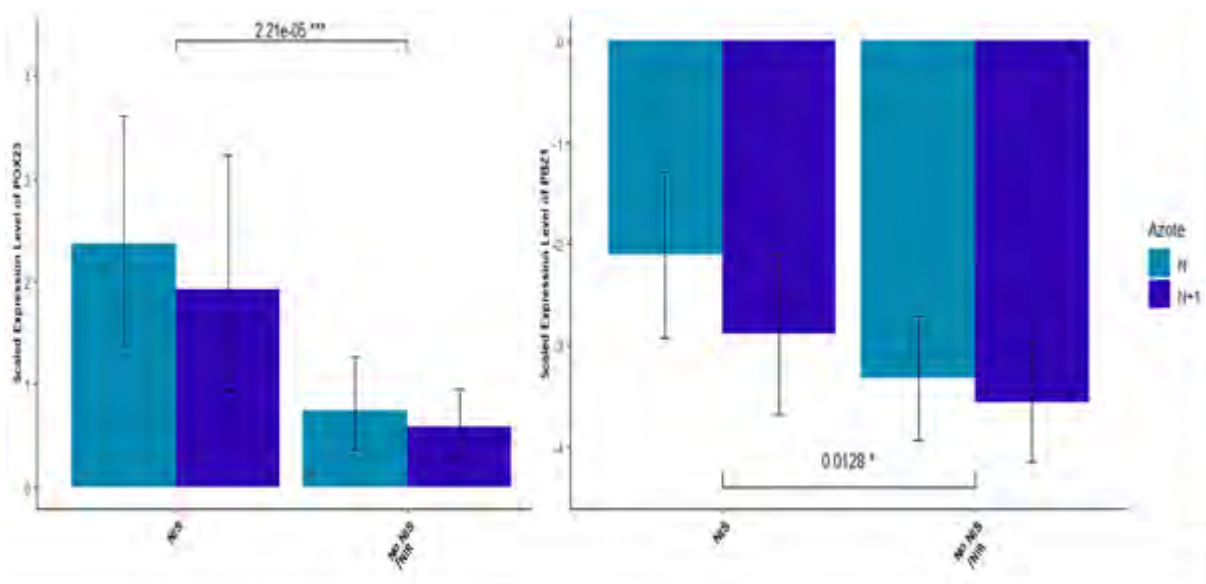
Quand on met en lien ces résultats avec ceux obtenus dans les mêmes conditions décrites dans le **Matériel et Méthodes** du chapitre III de la Partie 2, on constate que la valeur NIS (le rapport entre la sensibilité en N+1 et N) est significativement corrélée avec l'efficacité de prélèvement post-florale (**Figure 56**). Ainsi il semblerait que les variétés qui ont montré une capacité à prélever l'azote en fin de cycle ont également montré une augmentation plus importante de sensibilité à la pyriculariose après un ajout ponctuel d'azote à un stade jeune. Ce résultat laisse supposer que l'ajout d'azote précoce sur une plante à forte efficacité post-florale aurait des conséquences sur la NIS différentes de celles sur une plante à forte efficacité pré-florale et remobilisatrice. Ces observations laissent penser que la capacité de prélèvement *après* floraison implique un fonctionnement particulier *avant* floraison qui impacterait la mise en place de la NIS lors d'un apport ponctuel d'azote. Pour vérifier cela, quatre génotypes (en vert sur la (**Figure 56**)).



**Figure 54 : Variation de sensibilité à la pyriculariose selon le niveau d'azote apporté**

Les valeurs illustrées correspondent aux moyennes ajustées et aux erreurs standards du nombre de lésions par cm<sup>2</sup> de la dernière feuille ligulée de 2018 et 2019 calculées à partir du modèle (1) décrit dans le matériel et méthodes. Chaque contraste a été calculé par t-test apparié par génotypes et corrigé par un ajustement de Tukey. N : pas de shoot d'azote, N+1 : shoot d'azote

Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*



**Figure 55: Niveau d'expression des gènes *POX223* et *PBZ1***

Les valeurs illustrées correspondent aux moyennes ajustées et aux erreurs standards de l'expression relative des gènes *POX223* et *PBZ1* de la dernière feuille ligulée de 2018 et 2019 calculées à partir du modèle (1) modifié. L'effet génotype a été remplacé par le phénotype NIS. Aucun effet interaction NIS\*Azote n'a été détecté mais les p-values significatives entre les NIS et les no NIS/NIR ont été annotées. N : pas de shoot d'azote, N+1 : shoot d'azote

Significativité établie tel que : p-value > 0.1 NS ; p-value < 0.1 Sub.S ; p-value < 0.05 \* ; p-value < 0.01 \*\* ; p-value < 0.001 \*\*\*

### En condition N+1, des gènes clefs du métabolisme azoté sont différenciellement exprimés chez les variétés NIS

Un des onze gènes testés a montré un impact significatif de l'apport d'azote selon le génotype ( $p$ -value= 0,05) : *OsGS1;3*, *Os03g50490*. Lorsqu'on rassemble les données obtenues à partir des cultivars classés comme NIS face aux cultivars classés comme non NIS et NIR, on observe que l'ajout d'azote chez les variétés NIS a provoqué une diminution significative de l'expression de ce gène (**Figure 57**). Ainsi *Cigalon* et *Gines*, les deux cultivars NIS, sont caractérisés par une expression de *OSGS1;3* réduite de 93%

De plus, quand on met en relation la NIS et le ratio d'expression du gène *OsAlaAt* ( $(\text{Expression en N+1} - \text{Expression en N}) / \text{Expression en N}$ ) dans les feuilles F2 et F3 de *Cigalon*, *Gines*, *Paco* et *Brio*, on constate que ce ratio d'expression a augmenté dans les feuilles dont la sensibilité a diminué (**Figure 58 A**.) Ainsi seules les plantes ne faisant pas de NIS ont montré une augmentation significative de l'expression d'*OsAlaAT* après l'ajout d'azote (**Figure 58 B**), autrement dit une expression forte d'un gène d'*AlaAT* pourrait réduire le phénotype NIS.

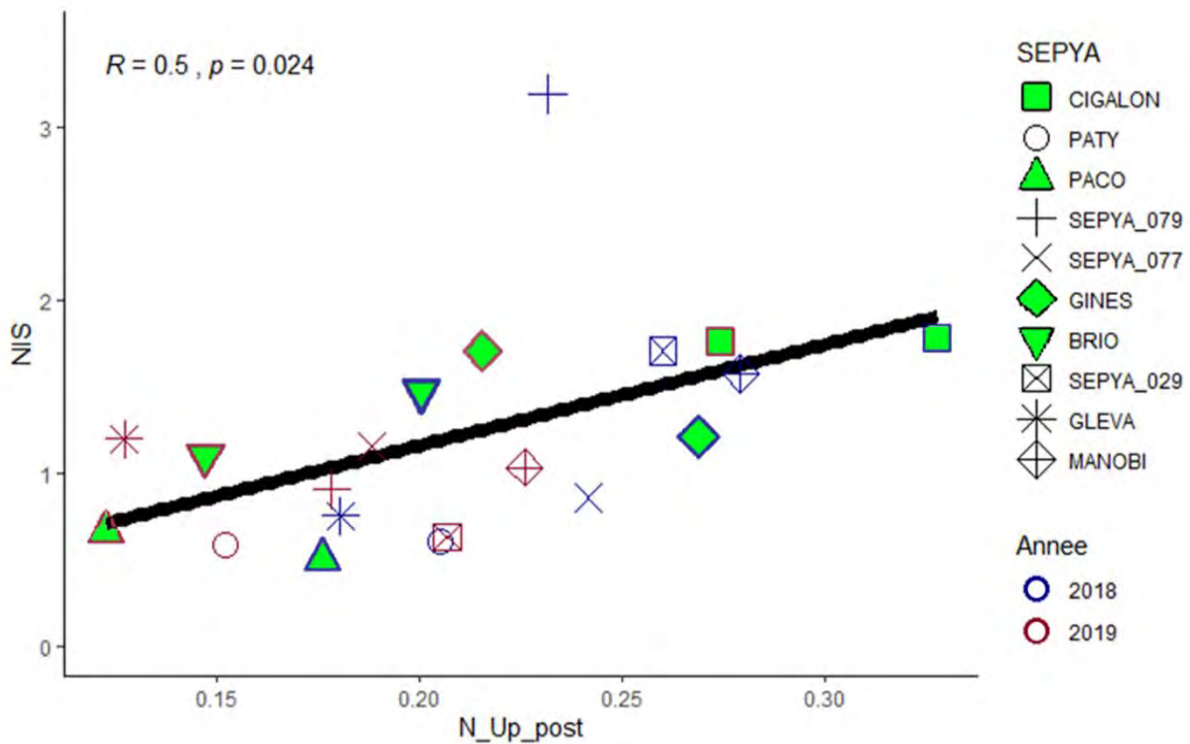
Afin de tester cette hypothèse, une expérimentation d'évaluation de NIS a été mise en place sur une lignée de riz transformée par le gène *HvAlaAT* dérivé de l'orge et exprimé de façon constitutive (Good et Beatty 2011; Beatty et al. 2013). Ainsi nous avons pu observer une induction de sensibilité chez les plantes sauvages suite à l'apport d'azote, tandis que la sensibilité des lignées transformées avec *HvAlaAT* est restée (**Figure 58 C**). Cette expérience nous indique que la surexpression de l'*AlaAT* supprimerait l'induction de sensibilité en condition N+1 (**Figure 59**).

### L'ajout d'azote induit des variations de concentration de métabolites corrélées à une modification de sensibilité

Dans un premier temps nous avons calculé les corrélations d'une sélection de variables entre elles (**Figure 60**). On constate que plus les feuilles avaient des taux de glucose, de fructose et d'asparagine élevés et moins elles étaient sensibles. On constate aussi des corrélations inverses entre l'expression de *PBZI* et les taux de quinate, glycerate et myo.inositol.

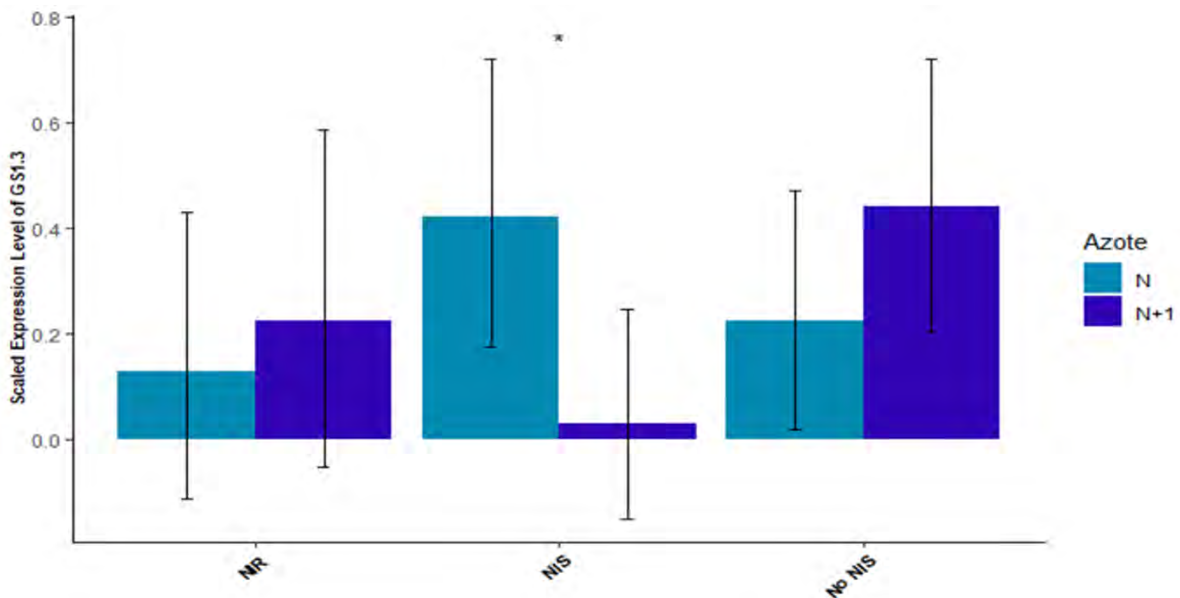
Toutefois ces corrélations ne nous informent pas de l'impact du traitement azoté sur ces variables. De fait la NIS a été mise en relation avec les inductions dues à l'azote des 26 variables retenues dans les feuilles F2 et F3 avec la NIS de ces mêmes feuilles. On constate alors que la NIS était significativement associée à la diminution des ratios de quatre métabolites : l'aspartate, le glucose, le quinate, et la thréonine. Autrement dit, une plante ayant un phénotype NIS avait tendance à avoir une chute de concentrations pour ces métabolites (**Figure 61**)





**Figure 56 : Relation entre la NIS et la quantité d'azote prélevée après floraison**

Chaque point représente la valeur NIS estimée à partir des données de sensibilité ainsi que la quantité d'azote prélevée après floraison. Les points cerclés de bleu correspondent aux estimations de 2018, et ceux cerclés de rouge correspondent aux estimations de 2019. La valeur de corrélation a été établie selon la méthode de Pearson. Les génotypes retenus pour les analyses de métabolomiques sont indiqués par un fond vert.



**Figure 57 : Niveau d'expression de *OsGS1;3* selon le phénotype NIS et la quantité d'azote apportée**

Les valeurs illustrées correspondent aux moyennes ajustées et aux erreurs standards de l'expression relative du gène *GS1;3* de la dernière feuille ligulée (données de 2018 et 2019) calculées à partir du modèle (1) modifié décrit dans le matériel et méthode. Il s'agit d'un niveau d'expression relatif par rapport au niveau d'expression de l'Actine pris comme gène de référence. L'effet génotype a été remplacé par le type NIS. Chaque contraste a été calculé par t-test appariés par phénotype et corrigé par un ajustement de Tukey. N : pas de shoot d'azote, N+1 : shoot d'azote

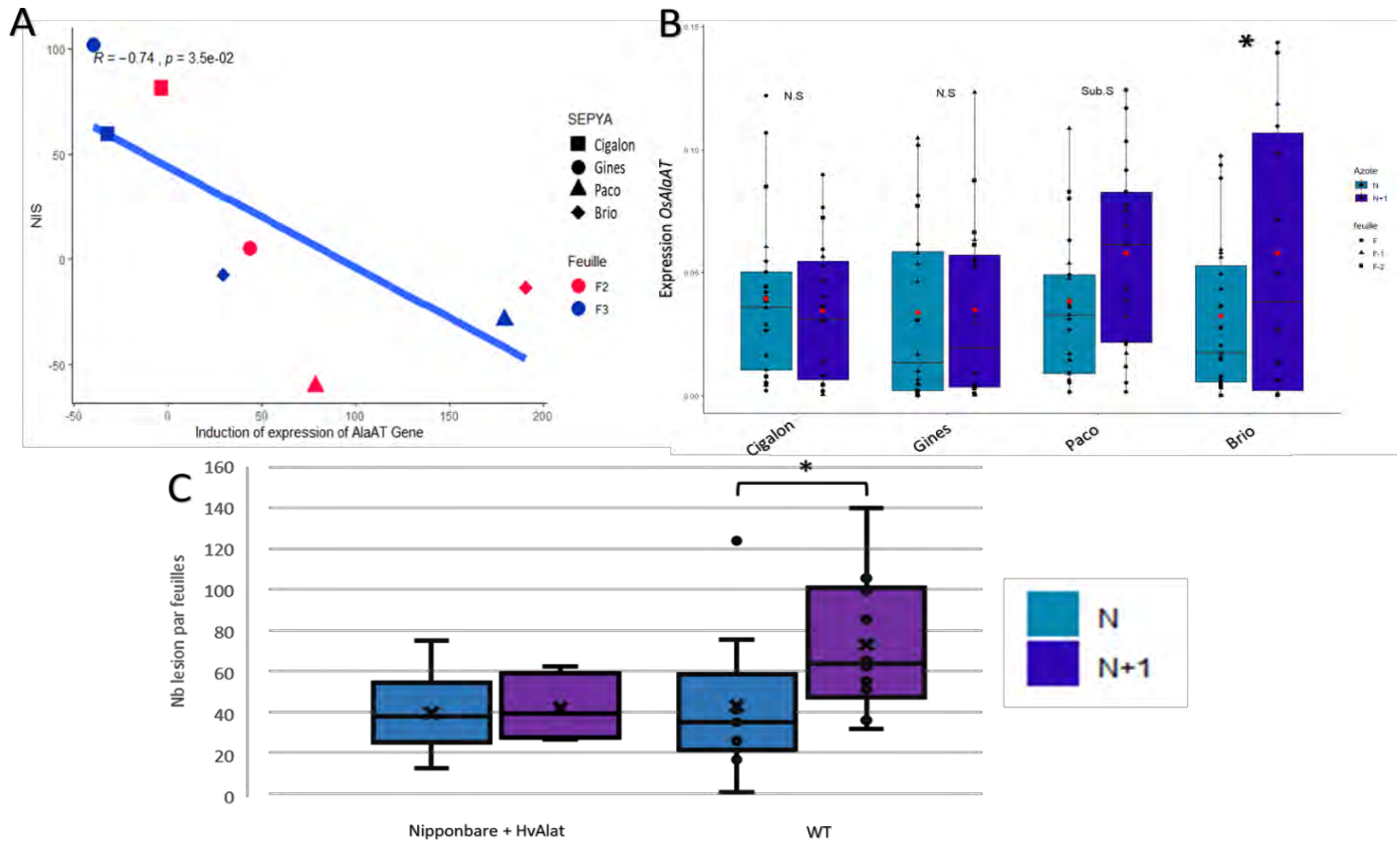
Significativité établie tel que :  $p\text{-value} < 0.05$  \*

N : pas de shoot d'azote, N+1 : shoot d'azote

**Il semble exister un « profil » métabolique associable à la NIS opposant le taux de myo-inositol et la glutamine.**

Deux premières PLSDA ont été effectuées avec l'ensemble des données d'expression et de mesures de métabolites. La première a été construite avec l'association génotype/traitement comme groupe discriminant, la deuxième avec le rang de feuille. Les projections respectives de ces analyses (**Annexe 9**) nous indiquent qu'avec l'ensemble des données, la meilleure discrimination entre individus se fait par le rang de feuille, là où les groupes génotypes/traitements sont peu différenciés. Ainsi dans le but de différencier nos groupes génotypes/traitements, trois PLSDA ont été effectuées, chacune calculée à partir des données acquises sur un niveau de feuille. Les PLSDA par rang de feuille (**Figure 62**) montrent des contrastes entre génotypes mais les groupe du traitement N+1 ne semblent pas montrer de séparation nette avec les groupes du traitement N. Le contraste semble également s'atténuer avec l'âge de la feuille. Toutefois pour chaque rang de feuille on constate que *Cigalon* et *Gines* sont regroupés d'un côté de la projection à l'opposé de *Brio* et *Paco*. Il est intéressant de noter que cette séparation correspond aux tendances NIS (**Figure 62**). Cette séparation des individus NIS et No NIS/NIR semble ainsi se faire selon les taux de myo-inositol, plus élevé chez *Cigalon* et *Gines*, pour les trois rangs de feuilles. D'autres variables permettent de décrire cette séparation selon le rang de feuille. Pour la feuille la plus jeune (F3) les taux de myo-inositol sont opposés aux taux de glutamine, d'alpha alanine, d'aspartate et de tyrosine selon la première dimension (axe horizontal). La deuxième dimension (axe vertical) de cette projection est décrite par l'arginine et la glycine qui s'opposent à la méthionine et l'isoleucine (**Figure 62**). On peut distinguer que les groupes N sont légèrement séparés des autres par rapport à ces variables, laissant entendre que les individus N+1 ont un taux d'arginine et de glycine qui a diminué légèrement. Des tendances similaires mais moins marquées sont observées pour les deux autres rangs de feuille. L'apport de la fertilisation modifie différemment les concentrations de métabolites d'une feuille à l'autre entre *Cigalon* et *Paco* et semble indiquer un phénomène de remobilisation sachant la tendance à la baisse de nombreux éléments dans la F1.

Si les profils décrits ci-dessus semblent correspondre au phénotype NIS et décrire la diversité pour chaque feuille, ils ne nous permettent pas de conclure sur les modifications que le "shoot" d'azote entraîne à l'échelle de la plante. De nouvelles PLSDA ont été alors effectuées sur les données filtrées par génotypes, en utilisant comme groupe discriminant les rangs de feuilles + le traitement. Ces analyses (**Annexe 10**) associées aux observations des paragraphes précédents nous ont permis de sélectionner 16 métabolites pertinents dans l'illustration de l'état physiologique de chaque génotype. Quand on compare *Cigalon* (NIS) et *Paco* (NIR) qui sont les génotypes les plus contrastés en NIS et dans leur utilisation de l'azote, on constate des profils de concentration de métabolites différents (**Figure 63**)



**Figure 58 : Implication de l'alanine dans la NIS**

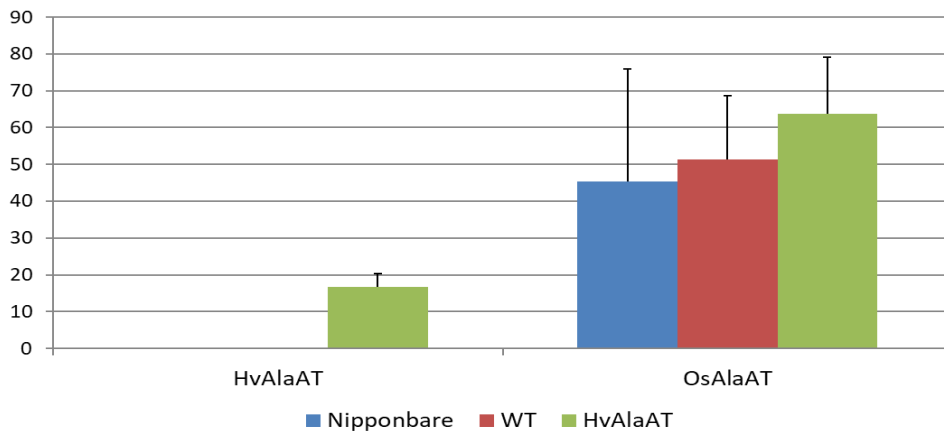
A. Relation entre l'induction d'expression du gène codant pour l'Alanine aminotransférase (*OsAlaAT*), en réponse à l'ajout d'azote, et la NIS. Un rapport d'expression entre la condition 1N et 0N est mis en regard du rapport de sensibilité entre 1N et 0N. Les points rouges sont issus des mesures des feuilles F2 et les points bleus des feuilles F3. Les corrélations ont été calculées selon la méthode de Pearson.

B. Niveaux d'expression d'*OsAlaAT* par rapport à l'expression du gène de référence, chez les quatre cultivars retenus. Les points rouges correspondent au moyennes ajustées issues du modèle (2) du matériel et méthode. Chaque contraste a été calculé par t-test apparié par génotypes et corrigé par un ajustement de Tukey.

C. Evaluation de la sensibilité à la souche FR94 chez des plantes Nipponbare sauvages et transformées. Les croix correspondent aux moyennes de sensibilité. Chaque contraste a été calculé par t-test par génotype. La lignée « Nipp+HvAlaAT » a été transformée avec le gène de l'orge *HvalaAT*. La lignée « WT » a été transformée par un vecteur vide.

N : pas de shoot d'azote, N+1 : shoot d'azote

Significativité établie tel que :  $p\text{-value} > 0.1$  NS ;  $p\text{-value} < 0.1$  Sub.S ;  $p\text{-value} < 0.05$  \*



**Figure 59 : Evolution du niveau d'expression de *OsAlaAT* et de *HvAlaAT***

Niveau d'expression du gène endogène de riz *OsAlaAT* et du gène transformé *HvAlaAT*. La lignée « *HvAlaAT* » a été transformée avec le gène de l'orge *HvalaAT*. La lignée « WT » a été transformée par un vecteur vide. La lignée Nipponbare est une lignée non transformée. A gauche l'expression du gène *HvAlaAT* n'est détecté que dans les lignées transformées. A droite, l'insertion n'a pas d'impact significatif sur l'expression de *OsAlaAT* endogène.

Ainsi on remarque que pour toutes les conditions et feuilles, *Paco* a des feuilles globalement plus riches que *Cigalon* pour la plupart des éléments (**Figure 63**). Etage foliaire par étage foliaire, plusieurs éléments ressortent.

Au niveau de la feuille la plus âgée (F1), le “shoot” d’azote a globalement provoqué une baisse de concentration pour la plupart des éléments de cette feuille, et plus particulièrement chez *Paco*. En effet la baisse des taux de glutamate, d’alanine, de glucose, de citrate, de quinate, de threonine et de leucine s’est retrouvée chez les deux cultivars mais était nettement plus prononcée chez *Paco*. De plus ce cultivar était caractérisé par la chute de ses taux de myo-inositol, glutamine, serine, isoleucine, tyrosine, glycerate et arginine. A l’inverse les taux de myo-inositol de *Cigalon* sont restés stables d’un traitement à l’autre. Un seul élément, la glycine, a montré une augmentation de concentration après un shoot d’azote et uniquement chez *Paco* (**Figure 63**)

Le “shoot” d’azote a globalement eu un impact moindre sur l’étage foliaire supérieur (F2). Le contraste le plus fort était l’augmentation du taux de glucose dans cette feuille chez *Paco*, à l’inverse de la feuille précédente. On retrouve également chez *Paco* une plus légère augmentation d’alanine, de thréonine, d’aspartate, de citrate, de tyrosine, de leucine et d’isoleucine après le shoot. Il est intéressant de noter que la plupart des éléments (alanine, thréonine, isoleucine, citrate, leucine, tyrosine et glucose) dont la concentration a diminué chez *Paco* après le “shoot” dans la feuille F1, sont ceux dont la concentration a augmenté dans la feuille F2 (**Figure 63**)

Enfin on constate pour la dernière feuille (F3) que l’effet du “shoot” d’azote a eu un effet global similaire entre les deux génotypes. Ainsi cet apport supplémentaire a provoqué la diminution des métabolites aux taux initiaux les plus élevés : glutamate, aspartate, glutamine, thréonine, et arginine chez les deux cultivars. Les deux génotypes s’opposent par leur taux d’alpha alanine, de citrate et de glucose qui ont diminué chez *Cigalon* et augmenté chez *Paco*, mais aussi par le quinate qui a diminué chez *Cigalon* mais qui est resté stable pour *Paco*. Seuls les taux de glycérate et de sérine semblaient augmenter avec le traitement d’azote chez *Cigalon* alors qu’ils diminuaient chez *Paco* (**Figure 63**).

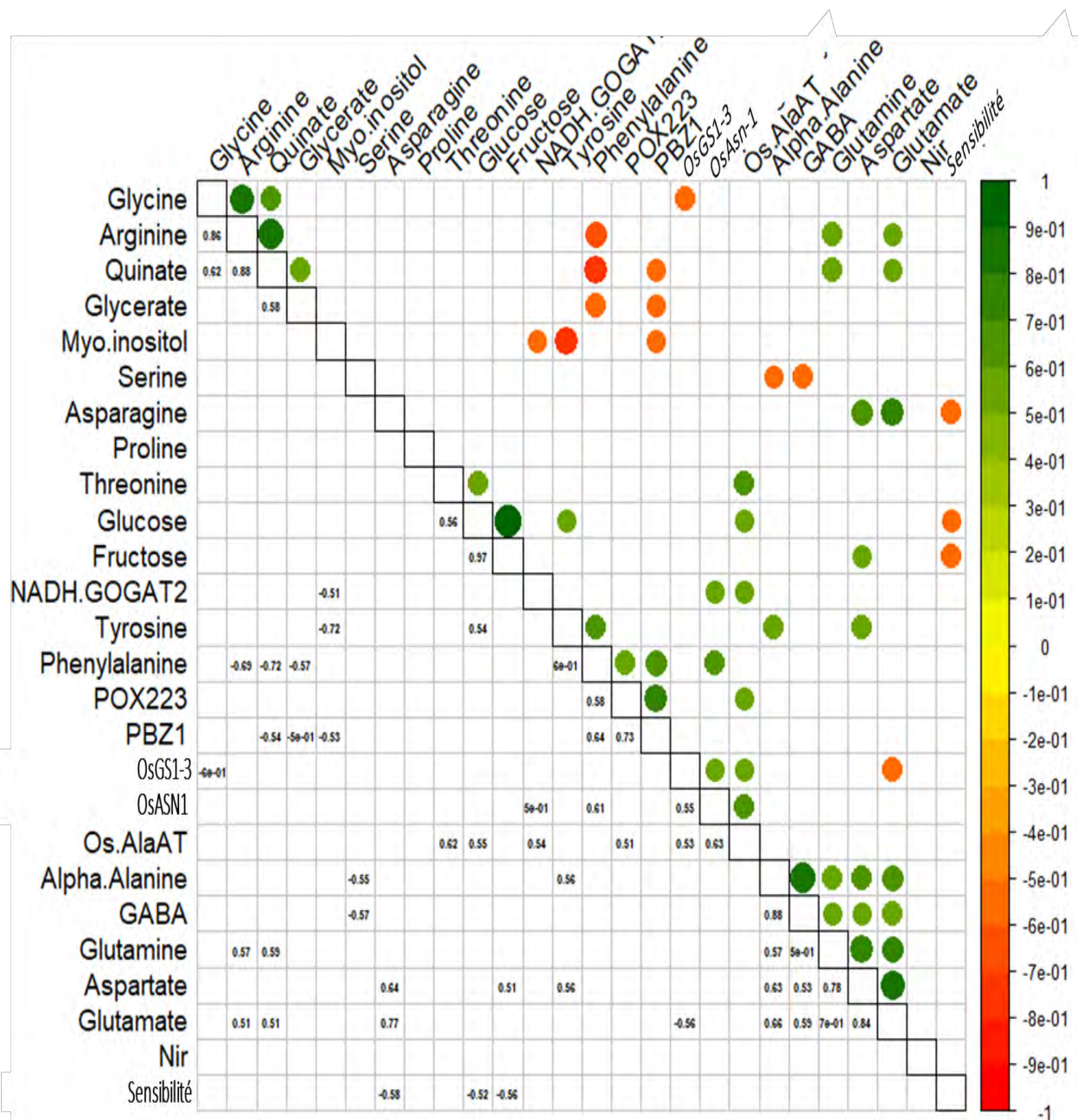
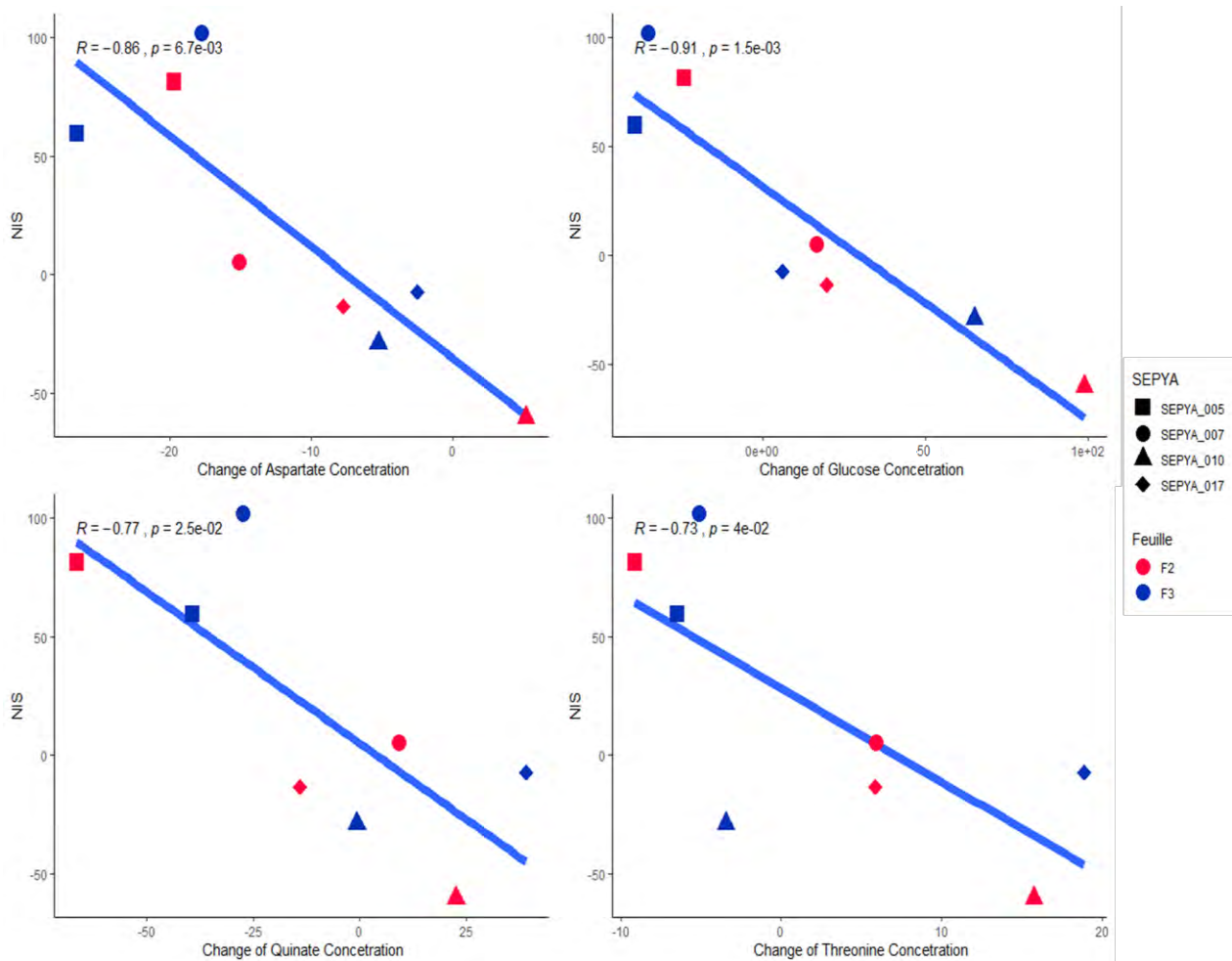


Figure 60 : Matrice de corrélation d'un sous-ensemble des variables mesurées

Les variables représentées ont été sélectionnées selon leur pertinence. Chaque point représente une corrélation notée significative au seuil de 99%. L'échelle de couleur décrit la valeur du  $r^2$  de la corrélation. Chaque valeur a été calculée à partir des 2 niveaux de feuilles des 4 génotypes, ceci pour chaque modalité de traitement. Les variables ont été classées selon leurs proximités dans une classification hiérarchique

Globalement chez *Paco*, la concentration de 90% des 16 métabolites mesurés a diminué après fertilisation dans la feuille F1. A contrario, la concentration de 30% de ces métabolites a augmenté dans les feuilles F2 ou F3. Ce schéma en miroir entre la feuille F1 et les feuilles F2/F3 nous laisserait penser que l'ajout d'azote provoque le déplacement des métabolites qui ont diminué, de la feuille la plus jeune (F1) vers les feuilles les plus âgées (F2 et F3). Cela s'illustrerait bien avec les taux de glucose, d'alanine, de tyrosine et de citrate. Ce comportement pourrait correspondre à la bonne capacité à remobiliser de *Paco* mis en évidence dans la Partie 2. Ces concentrations ont également diminué dans les feuilles F1 de *Cigalon* (50% des métabolites mesurés), mais avec très peu d'augmentation dans les feuilles F2/F3 (seulement 20%); on peut donc se poser la question de la destination de ces métabolites dont les concentrations ont chuté en N+1.



**Figure 61 : Relations entre la modification en concentration des métabolites suite à l'apport azoté et la NIS**

*Corrélations entre les variations suite à l'apport azoté entre la NIS et le taux d'aspartate (en haut à gauche), de glucose (en haut à droite), de quinate (en bas à gauche) ou de threonine (en bas à droite). Les points rouges sont issus des mesures des feuilles F2 et les points bleus des feuilles F3. Les corrélations ont été calculées selon la méthode de Pearson*

## Discussion

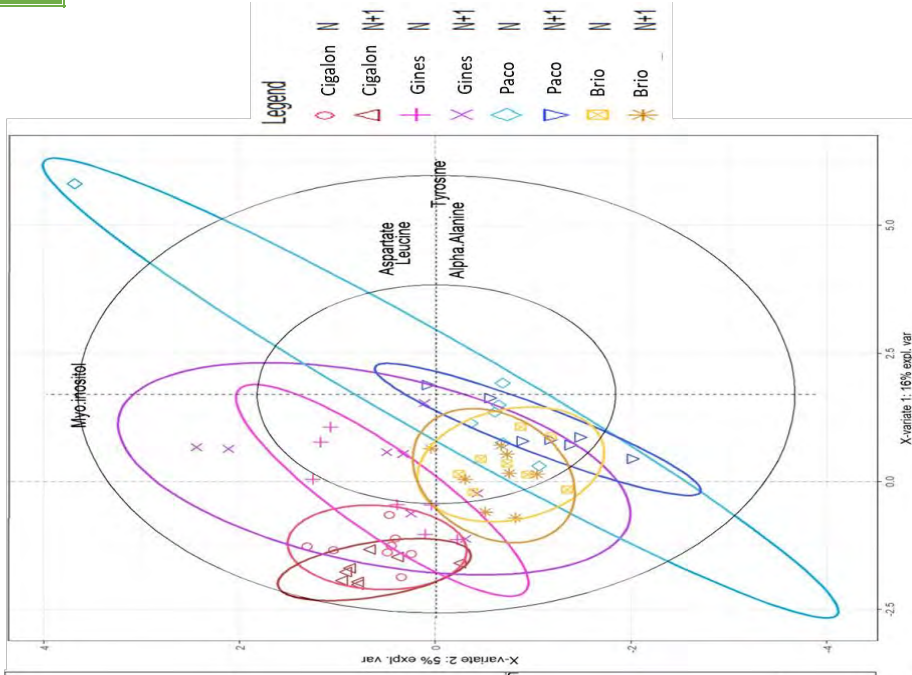
Dans cette partie nous avons cherché à mettre en évidence un lien entre la NIS et l'état physiologique du riz. Plusieurs résultats prometteurs sont ressortis des différentes expériences décrites dans cette partie et les précédentes. Cette discussion a pour objectif de poser les bases d'un raisonnement associant la NIS, la NUE et les mécanismes métaboliques et d'amener de nouvelles hypothèses pour expliquer les liens observés. L'ensemble du raisonnement est illustré schématiquement sur la **Figure 67**.

### **Un lien confirmé entre NIS et NUE**

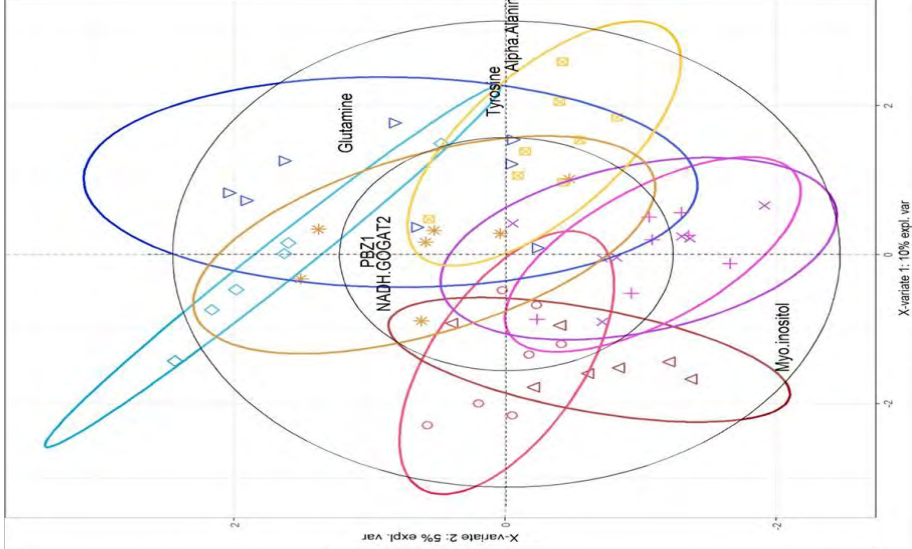
Dans ce chapitre nous avons tenté de mettre en relation des composants du métabolisme et les données de sensibilité consécutives à une fertilisation azotée chez le riz. Le premier résultat majeur de notre étude est la relation entre l'induction de sensibilité provoquée par un apport d'azote (NIS) sur des plants de quatre semaines et la capacité des génotypes à prélever de l'azote après floraison. Cette corrélation est inattendue car elle lie un événement ponctuel qui intervient très tôt dans le cycle à un processus global qui est le résultat de la somme de nombreux facteurs. Un de ces facteurs est la quantité (et donc la force) de puits mise en place par la plante. En effet nous avons montré dans le chapitre 2 que les génotypes qui avaient les capacités de prélèvement post-floral les plus élevées étaient ceux ayant une production de talles (puits) le plus élevé. Or nous avons aussi émis l'hypothèse que certains des génotypes étudiés étaient capables très tôt d'adapter leur dynamique de tallage en fonction de leur environnement, comme cela a été montré chez de nombreuses espèces dans diverses conditions. Ces génotypes produiraient davantage d'organes puits tel que les talles "en prévision" des prélèvements de fin de cycle, en cohérence avec des travaux précédents (Luquet et al. 2006). Ainsi les deux génotypes NIS ont été associés à ce comportement d'adaptation aux conditions favorables : *Cigalon* et *Gines*. Ils ont été décrits, en serre et au champ, comme des cultivars avec des capacités de production supérieures aux autres lorsque l'azote était disponible à la fin du cycle. A l'inverse des cultivars tel que *Brio* et *Paco* favorisent davantage leur prélèvement pré-floral. Chez ces derniers, nous avons relié ces observations à leur faible capacité à prélever de l'azote post-floral, une caractéristique qui favorise alors la remobilisation, la sénescence et réduit la production de biomasse (**Discussion Générale** Partie 2). Ces cultivars peu efficaces en fin de cycle ne sont globalement pas associés au phénotype NIS, le phénotype associé à *Paco* est même caractérisé par une augmentation de résistance en réponse à l'apport d'azote. Enfin les tendances d'utilisation de l'azote des autres génotypes sont plutôt intermédiaires, sans pour autant être associées à une NIS significative.



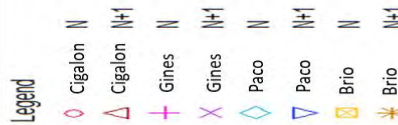
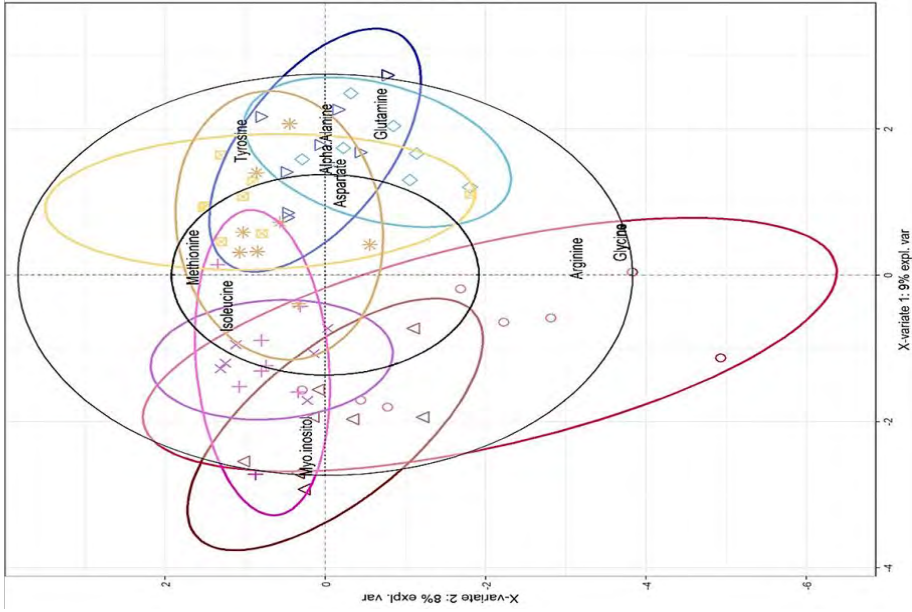
F1



F2



F3



**Figure 62 : Projections combinées des individus et des variables des PLSDA calculées pour chaque rang de feuille**

Chaque PLSDA a été optimisée pour ne conserver que les variables les plus discriminantes. Les variables les mieux représentées sont celles qui se rapprochent du cercle noir extérieur. Les projections ont été calculées en déclarant l'association génotype/traitement en tant que groupe discriminant.

N : pas de shoot d'azote. N+I : shoot d'azote

*Paco* et *Brio* ont réagi faiblement au différentiel azoté avec de faibles différences morphologiques entre les conditions azotées (tallage identique, peu de talles non-productives etc..., **Discussion Générale** Partie 2); on en a conclu que ces variétés étaient très peu plastiques en réponse au changement d'environnement. Toutefois sachant que le volume racinaire se développe au dépend de la biomasse aérienne (Vinod et Heuer 2012; S. Ogawa, Valencia, et al. 2014) on pourrait penser que les variétés comme *Paco* et *Brio* développent préférentiellement leurs racines. De plus lorsqu'on compare les données racinaires disponibles (communication Brigitte Courtois, CIRAD) aux données issues de la GWAS (**Discussion** Chapitre 3) on remarque que les haplotypes favorisant la NIS (*NIS2-1* et *NIS3-1*) sont également ceux dont les volumes racinaires sont les plus faibles (**Figure 64**). Un faible niveau de développement racinaire (et donc par extension un fort développement aérien) serait un facteur favorisant la NIS. Une très forte réactivité en terme du nombre de panicules produites dans la condition optimale est associée avec *Cigalon* et *Gines*. Ces observations nous amènent à penser que les variétés de notre panel adaptent leur stratégie selon les conditions en faisant un compromis entre :

- (i) un pari sur le futur qui implique une production de nouveaux organes puits et donc l'utilisation des nutriments prélevés, quitte à perdre une partie de cette biomasse si les conditions se dégradent (*Cigalon* et *Gines*)
- (ii) la sécurité de l'épargne, c'est-à-dire la limitation de production d'organes puits, favorisant le stockage en vue d'une remobilisation tardive, et potentiellement le développement racinaire, générant une force de puits pas assez élevée en fin de cycle pour ne nécessitant pas de nouveau prélèvement d'azote (*Paco* et *Brio*).

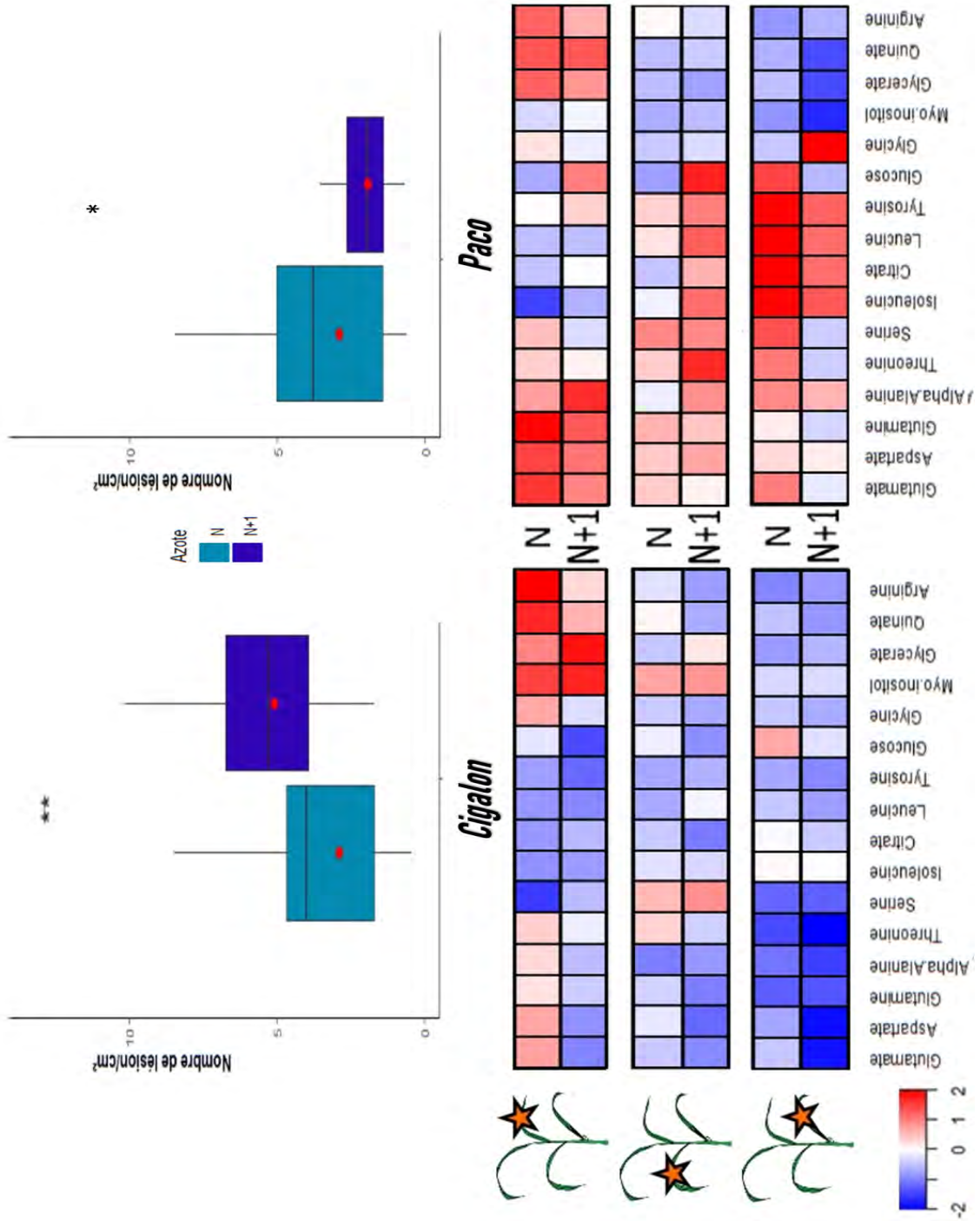
Notre hypothèse est que l'ajout d'azote pourrait provoquer une réaction similaire à celle que provoque le traitement différentiel décrit dans la **Discussion Générale** de la Partie 2. Cette réaction pourrait alors être liée à l'utilisation des nutriments déjà présents dans la plante pour la production et le maintien des talles. La régulation du tallage chez le riz par l'ajout d'azote a déjà été montrée chez les *Japonica* via l'expression du gène *OsNPF7.7-2* dans les méristèmes (W. Huang et al. 2018). Cette régulation pourrait être particulière chez *Cigalon* et *Gines* et provoquer la NIS. Au vu de nos résultats il semblerait que les mécanismes de remobilisation des nutriments soient les principaux candidats pouvant agir de diverses manières sur la relation plante-pathogène : lutte pour les nutriments via la régulation hormonale, régulation de la pathogénicité, et régulation des défenses.

**Figure 63 :**  
**Comparaison de la sensibilité et des profils métaboliques de Cigalon et Paco avec une partie de leur métabolome**

Les boxplot représentent la sensibilité de chaque génotype sur l'ensemble de la plante dans les deux conditions. Les valeurs illustrées sur les heatmap correspondent aux moyennes issues des mesures centrées réduites en ne prenant compte que les deux génotypes. Les métabolites ont été retenus selon leur pertinence dans la discrimination des modalités azote par niveau de feuilles chez ces deux génotypes

N : pas de shoot d'azote, N+I : shoot d'azote

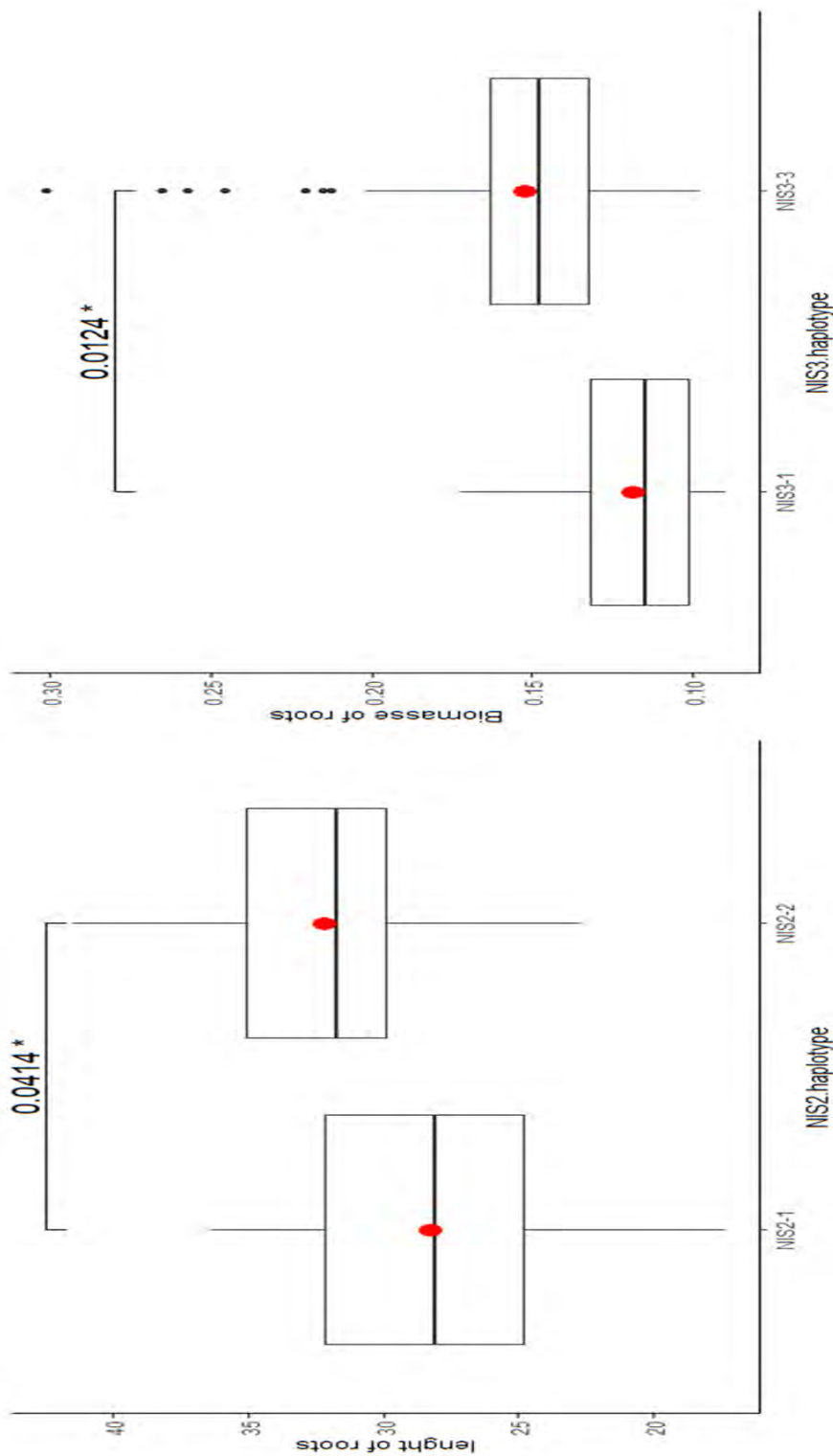
Significativité établie tel que :  
 p-value < 0.05 \* p-value < 0.01 \*\*



### Un rôle possible des cytokinines dans le lien NIS/NUE

Ainsi une plante NIS aurait une réaction physiologique à l'apport d'azote différente d'une plante non NIS, réaction qui pourrait être liée à la dynamique de tallage. Il y aurait donc une régulation différente dans la dynamique de production selon l'apport d'azote amené. Or ces mécanismes de régulation sont en grande partie contrôlés par les niveaux de phytohormones. Ainsi il a été montré à plusieurs reprises que les niveaux de cytokinines (CK) avaient un impact sur la production de talles et plus généralement sur le développement de la biomasse aérienne et sur la répression du développement racinaire (J.-G. Chen et al. 1998; Werner et al. 2001; McSteen 2009; Hudson et al. 2013; Zhuang et al. 2019). De plus les CK sont impliquées dans la régulation des flux d'azote. En effet l'ajout d'azote provoque un signal de CK des racines vers les organes aériens régulant alors les métabolismes azotés et carboné (Sakakibara, Takei, et Hirose 2006; Rubio et al. 2008; Ruffel et al. 2016; Roche et al. 2017). Chez des plantules de CK au niveau des racines reproduit les effets d'une fertilisation et réduit les mécanismes de remobilisation, ce qui se manifeste par l'augmentation des teneurs en protéine, en Rubisco, en sucre et en chlorophylle dans les feuilles les plus âgées (Criado et al. 2009). Ce mécanisme de réduction de la remobilisation est également retrouvé chez le riz (Jianchang Yang et al. 2002), le raygrass (Roche et al. 2017) et le blé favorisant le caractère stay green de ce dernier (Guitman, Arnoz, et Barneix 1991). De manière générale les CK modifient les relations source/puits par l'activation des mécanismes qui maintiennent des niveaux de nutriments élevés. Cette accumulation permet un accroissement de la tolérance à divers stress abiotiques (Criado et al. 2009; Peleg et al. 2011; Merewitz et al. 2012).

Dans notre expérience, l'observation de l'évolution de concentration de certains métabolites et des dynamiques de production de biomasse chez *Cigalon* et *Paco* nous laisse supposer que la différence de réaction au traitement azoté pourrait être liée à un signal différent de CK. Ainsi dans notre cas il se pourrait que l'apport d'azote provoque une augmentation des quantités de CK dans la plus jeune feuille de *Paco* induisant une accumulation plus importante de plusieurs éléments. A l'opposé on peut penser que le taux de CK chez *Cigalon* n'est pas modulé dans ses feuilles mais augmente dans les méristèmes, provoquant possiblement la remobilisation des métabolites dans cette zone, et expliquant sa dynamique de tallage. Cet éventuel contraste dans la réponse hormonale en CK peut également être relié à la réaction de ces génotypes à *M. oryzae*. Il a été montré que *M. oryzae* pouvait produire ses propres cytokinines lors de l'infection grâce au gène *CKS1*. Une souche mutante de ce gène, *cks1*, montre un développement significativement moins important que la souche sauvage *in planta* (Chanclud et al. 2016). Dans cette même étude l'ajout de CK exogène avant une infection par le mutant *cks1* rétablit sa pathogénicité, prouvant que la présence de CK dans les tissus infectés est un élément nécessaire au développement de la maladie. Paradoxalement il a également été montré que les CK étaient impliquées dans l'induction des défenses du riz en synergie avec la voie du SA (C.-J. Jiang et al. 2013).



**Figure 64 : Différence de développement racinaire de 56 génotypes en fonction des haplotypes majoritaires de QTLs détectés dans la Partie 3**

*A gauche : Différence de la longueur maximale des racines selon les haplotypes de NIS2*

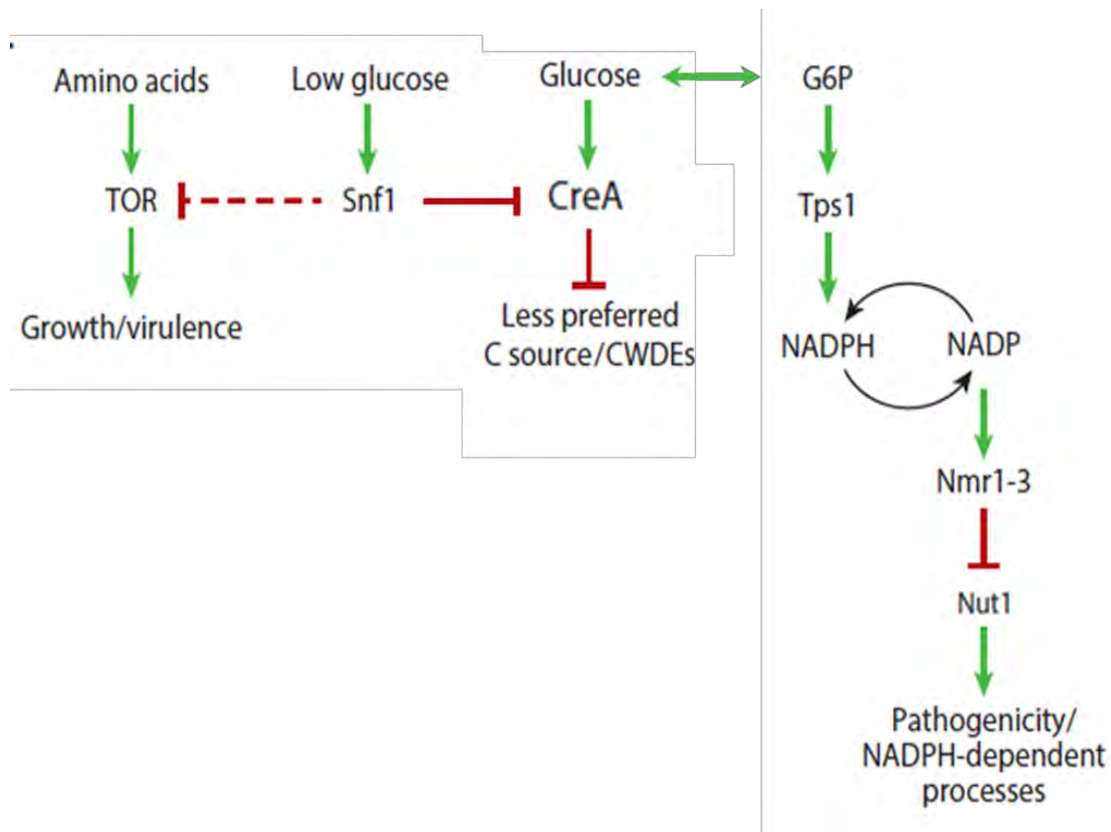
*A droite : Différence de la biomasse des racines selon les haplotypes des NIS3*

*Significativité établie tel que : p-value < 0.05 \* après un test de Wilcoxon*

Ainsi il est possible que le riz associe l'augmentation du taux de CK à un signal d'infection, d'où l'augmentation des défenses. Nous avons supposé précédemment que le traitement azoté avait eu un impact positif sur les taux de CK des feuilles de *Paco* par rapport à *Cigalon*, ce qui aurait pu provoquer une induction de ses défenses en amont de l'inoculation expliquant alors la résistance accrue de *Paco*. Cette hypothèse corrobore également l'induction des gènes de défense en condition NIS observée par (H. Huang et al. 2017). Toutefois aucun des deux gènes de défense observés (*PBZ1* et *POX223*) dans cette étude n'a été impacté par l'azote, malgré un différentiel basal d'expression à la faveur des plantes NIS. Cependant nous n'avons pas d'informations sur leur niveau d'induction après inoculation. D'après ces éléments nous pouvons émettre l'hypothèse suivante : les réactions impliquant les CK dans les mécanismes de remobilisation lors d'un ajout d'azote pourraient interférer dans les réactions mises en place lors de l'infection, aboutissant alors au phénotype NIS. Il serait alors intéressant dans un premier temps de mesurer l'expression des gènes de défense, mais aussi des gènes liés aux CKs sur plusieurs jours dans le cadre d'un protocole NIS. Dans un second temps on pourrait générer des plantes initialement NIS mais en désactivant certains gènes liés aux CKs afin d'observer l'évolution du phénotype

#### Un rôle probable du champignon dans la NIS

Les phénomènes de diminution des concentrations en métabolites observés ont été associés à un phénomène de remobilisation plus ou moins important selon les génotypes. De plus nous avons montré que la diminution de certains métabolites, notamment le glucose, était corrélée à l'augmentation de sensibilité. Or comme de nombreux autres champignons, la virulence de *M. oryzae* est modulée par la disponibilité en sucre du milieu (Fernandez et al. 2012; Fernandez et al, 2014; Morkunas et Ratajczak 2014; Kumar et al. 2016). Ainsi Fernandez et al, (2014) ont passé en revue plusieurs études *in vitro* soulignant les différents mécanismes mis en place par *M. oryzae* et régulés par l'abondance en sucres et en acides aminés (**Figure 65**). D'une part, ils ont décrit le mécanisme impliquant le glucose-6-phosphate (G6P, composé dérivé du glucose, précurseur pour la glycolyse, représentant l'essentiel du glucose libre de la cellule) et son impact sur l'expression du gène *Tps1* : ceci induit une production de NADPH nécessaire à l'expression de nombreux gènes impliqués dans la répression de l'utilisation des autres sources de carbones par les *cell wall-degrading enzymes* (CWDEs) et la pathogénicité. Ce mécanisme régule également le métabolisme azoté de *M. oryzae* via le gène *Nut1* (Fernandez et al. 2012). *Nut1* joue un rôle global dans la répression du métabolisme azoté (NMR) en agissant comme régulateur positif à des gènes nécessaires pour l'utilisation de sources alternatives d'azote (autres que  $\text{NH}_4^+$  et Gln). D'autre part, ces auteurs ont détaillé comment le glucose et/ou la présence d'acides aminés active la voie de ciblage de la rapamycine (TOR) qui active la croissance et la pathogénicité (López-Berges et al. 2010; Loewith et Hall 2011). La voie TOR est connue pour être un régulateur clé du passage du catabolisme à l'anabolisme dans les cellules hôtes.



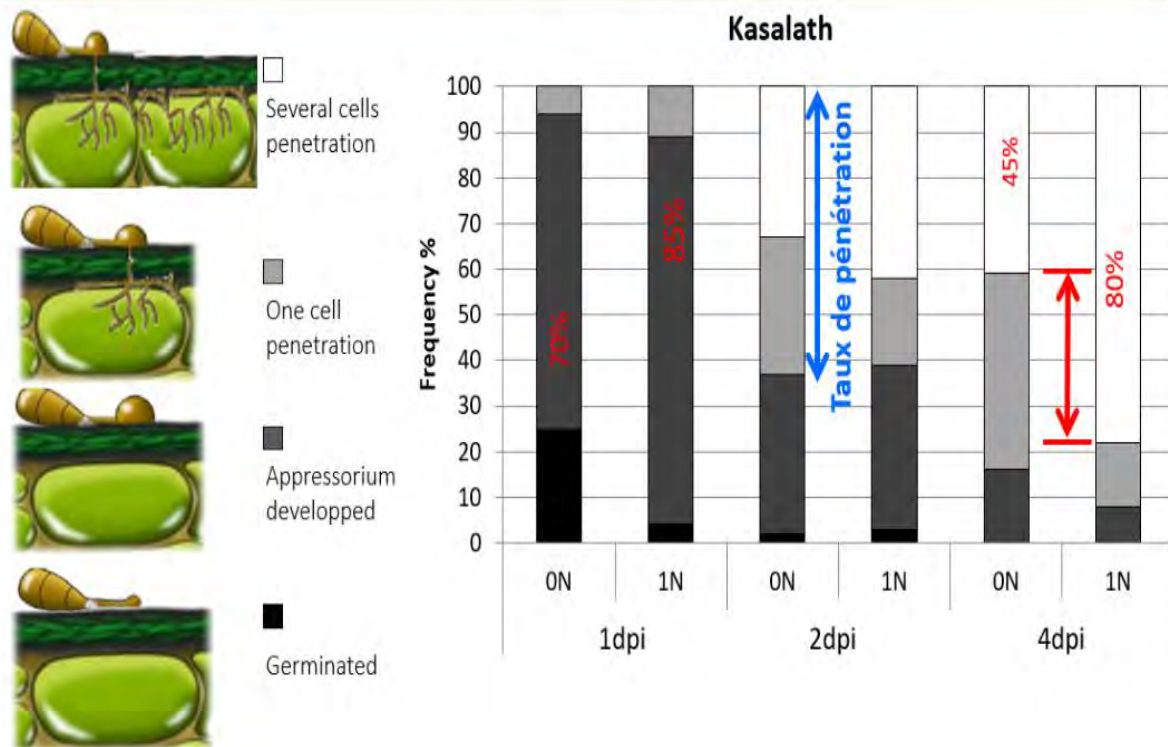
### Figure 65 : Impact de l'environnement sur les mécanismes de développement de *M. oryzae*

Dans des conditions optimales en nutriments (présence de sucres et d'AA, principalement la Gln), la voie de la rapamycine (TOR) est activée, ce qui entraîne une croissance mycélienne et la pathogénicité. Chez la levure, dans des conditions de faible teneur en glucose, le Snf1 inhibe indirectement la TOR. CreA régule négativement les gènes nécessaires à l'utilisation de sources de carbone autres que le glucose, y compris les composants de la paroi cellulaire. L'homologue de CreA est inactivé par Snf1 dans des conditions où les taux de glucose sont faibles chez la levure. Une interaction comparable entre les homologues de Snf1 et de CreA dans les champignons filamenteux est supposée mais n'a pas été démontrée.

La protéine Tps1 contrôle les processus nécessitant du NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate), y compris dans l'utilisation des nitrates, et est essentielle pour la virulence. En réponse à la détection du glucose-6-phosphate (G6P) par Tps1, la production de NADPH est augmentée et les protéines inhibitrices Nmr1-3 dépendantes du NADP sont inactivées car le NADP est converti en NADPH. Cela atténue l'inhibition de Nmr1-3 de Nut1 entraînant l'expression de gènes codant pour des enzymes NADPH-dépendantes et nécessaires à la pathogénicité.

D'après ces études il semblerait que *M. oryzae* favorise sa croissance en phase biotrophe dans des milieux riches en glucose, ce qui lui permet de (i) prélever des AAs non préférentiels avec le gène *Nut1*, et (ii) inactiver les mécanismes de dégradation des éléments structuraux de la cellule hôte et donc de la préserver. Toutes ces réactions semblent indiquer que ce champignon aurait une capacité à s'adapter à l'appauvrissement des ressources de son environnement, et qu'il pourrait être impliqué dans le passage à la phase nécrotrophique (Fernandez, Marroquin-Guzman, et Wilson 2014). En effet, un orthologue de *Nut1* chez *Colletotrichum lindemuthianum*, hémibiotrophe causant l'antracnose du pois, a été montré comme indispensable au passage en phase nécrotrophe de ce champignon (Pellier et al. 2003). De plus il a été montré que le passage à la nécrotrophie était précédé de l'envahissement préalable des cellules voisines (Kankanala, Czymmek, et Valent 2007). Dans notre étude il est apparu que les variétés NIS (i) avaient des taux de glutamine, l'AA préférentiel de *M. oryzae*, plus faibles que les autres et (ii) subissaient une chute plus importante de leur taux de glucose associée à leur augmentation de sensibilité. On peut alors supposer que le champignon se retrouve chez les variétés NIS dans des conditions qui lui sont défavorables, ce qui est paradoxal compte-tenu du phénotype observé. Les capacités d'adaptation du champignon décrites ci-dessus pourraient aboutir à une accélération de l'infection des cellules hôtes et du passage à la nécrotrophie. Ainsi *M. oryzae* accélérerait sa diffusion et déclencherait sa phase nécrotrophe plus rapidement chez les variétés NIS dont les éléments sont appauvris. Cela pourrait expliquer comment *Cigalon* et *Gines* ont développé plus de lésions en 7 jours par rapport à *Paco* ou *Brio*. On retrouve cette dynamique dans l'étude de Ballini et al (2013) et H. Huang et al. (2017) où le champignon avait un taux de pénétration supérieur dans la condition azote (**Figure 66**). Ce rôle de la biologie du champignon pourrait aussi expliquer les résultats contrastés des diverses souches utilisées dans le GWAS (Partie 1 et 3), toutes les souches n'ayant pas la même réactivité vis-à-vis des changements d'environnement. Il est toutefois nécessaire de rester prudent sur ces hypothèses. En effet si les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des phases biotrophe et nécrotrophe sont bien établies, les mécanismes déclenchant le passage entre ces deux modes de vie restent peu connus (Kankanala, Czymmek, et Valent 2007). Des études fonctionnelles plus poussées sont donc nécessaires. Cependant l'impact d'une fertilisation sur le développement de *M. oryzae* pourrait être testé par microscopie sur des plantes NIS (H. Huang et al. 2017). On pourrait alors dénombrer les cellules de *M. oryzae* par cellule de plante et ainsi déterminer si le champignon a envahi plus ou moins rapidement son hôte. Enfin la plupart des réactions de *M. oryzae* décrites dans ce paragraphe proviennent d'études *in vitro*. De ce fait les hypothèses émises ne prennent pas, ou peu, en compte, l'ensemble des réactions de la plante qui sont aussi impactées par la fertilisation.





**Figure 66 : Croissance de *M. oryzae* augmentée par l'azote (Ballini et al. 2013)**

Ces résultats sont issus de l'observation au microscope du développement du champignon sur une feuille du génotype, Kasalath, une variété NIS. Ils illustrent le pourcentage de spores ayant germé (noir), développé leur appressorium (gris foncé), pénétré une cellule (gris clair), ou pénétré plusieurs cellules (blanc). Ces mesures ont été effectuées à différents temps après inoculation (1 jour, 2 jours et 4 jours). A gauche le schéma représente les différents stades observés au niveau cellulaire. Il a été mis en valeur deux différences significatives ( $p < 0.001$ ) d'une part la fréquence de l'appressorium développé à 1dpi ; et d'autre part, la fréquence d'infection de plusieurs cellules à 4 dpi.

0N : condition faible en azote ; 1N : condition forte en azote : dpi : jours après infection

**Niveaux de base de la glutamine et du myo-inositol: une condition nécessaire à la NIS?**

Un autre résultat nous permet d'avoir une vision cohérente des quatre géotypes testés. Ainsi la diminution d'expression de la *GS1;3* chez les variétés NIS, associée avec la position de ces cultivars sur les PLSDA, est en faveur de la théorie selon laquelle la glutamine serait un nutriment régulateur de la NIS. A ce jour le gène *OsGS1;3* était connu pour être impliqué dans la remobilisation de l'azote, s'exprimant préférentiellement dans les grains lors de la phase de maturation (Xu, Fan, et Miller 2012). Toutefois nos observations indiquent que les taux de glutamine et de glutamate ont diminué dans tous les géotypes après fertilisation azotée et ces observations ne sont pas cohérentes avec celles faites par l'équipe (Huang et al, 2017) dans un autre fond génétique, Kasalath. Le taux de glutamine étant relié à celui du glutamate, nos observations se rapprochent davantage de la conclusion de (Seifi et al. 2013) sur l'implication du glutamate et du GABA dans la défense du riz face à *M. oryzae*.

L'autre métabolite mis en évidence comme marqueur de la NIS est le myo.inositol. Cette molécule, dérivée du glucose, est impliquée dans plusieurs mécanismes de signalisation lipidique, notamment la formation de la membrane, la perception de l'auxine, la réponse au stress et la régulation de la mort cellulaire (Loewus et Murthy 2000). Cette molécule est également impliquée dans la synthèse de l'ascorbate qui piège les espèces réactives de l'oxygène et protège les cellules et les organites des dommages oxydatifs (Torabinejad et al. 2009). Les implications de cette molécule dans les mécanismes de défense face à la pyriculariose restent méconnus et contradictoires. En effet Madhavan et al. (2019) ont montré que la production de myo.inositol était plus importante dans des cultures cellulaires d'une variété de riz sensible sept jours après les avoir mis en présence d'éliciteurs de *M. oryzae*. A l'opposé cette molécule semble s'accumuler davantage chez un riz dont un gène de défense, *MoSDT1*, est sur-exprimé 72 h après infection (Duan 2020, en révision). Toutefois ces études ont en commun une variation de myo.inositol plusieurs jours post infection sans connaissance des quantités initiales dans les tissus. Il serait intéressant de voir comment ces quantités varient dans le temps après une fertilisation suivie d'une inoculation.

Cependant il se pourrait que la réponse NIS ne soit pas due à un seul facteur, mais à une combinaison de changements. En effet l'interaction *M. oryzae*-riz implique de très nombreux changements métaboliques chez l'hôte dus à la lutte pour les nutriments et l'utilisation des métabolites dans les mécanismes de défenses (Parker et al. 2009; F. Chen, Ma, et Chen 2019). De ce fait de nombreux mécanismes pourraient entrer en conflit avec le message de remobilisation que l'ajout d'azote semble déclencher. Ce message pourrait alors soit favoriser les réactions de luttes contre le champignon (*Paco*), ou bien entrer en conflit avec cette lutte aboutissant à la NIS (*Cigalon et Gines*).

Cette perturbation des mécanismes pourrait complètement modifier l'expression des gènes de défense mesurée ou modifier l'agressivité de *M. oryzae*. Un suivi dans le temps de l'évolution des métabolites et de l'expression de davantage de gènes chez des variétés contrastées et inoculée suivant notre protocole NIS pourrait améliorer notre compréhension du phénomène.

#### Un nouveau mécanisme derrière la NIR?

Nous avons observé une induction d'expression du gène codant pour l'Alanine Aminotransférase dans les plantes no NIS et NIR. Cette enzyme est à l'intersection des métabolismes carbonés et azotés par son action sur les différentes formes d'alanine. L'alanine aminotransférase est capable de transférer le groupement amine de l'acide glutamique sur l'acide pyruvique avec formation d'une molécule d'acide  $\alpha$ -cétoglutarique et d'alanine (Raychaudhuri 2015). Or il a été montré qu'une sur-expression de ce gène induit également une augmentation de l'activité enzymatique (Beatty et al. 2013). Dans notre cas, on ne peut que supposer que l'activité de l'alanine aminotransférase a augmenté. Ceci pourrait alors correspondre à l'augmentation d'alanine observée dans les feuilles de *Paco* (ainsi que la baisse de glutamate). (Shrawat et al. 2008; Good et Beatty 2011; Beatty et al. 2013; Ahmed et al. 2020). De plus cette enzyme a été associée à des capacités de prélèvement d'azote importantes associées à une capacité à remobiliser le carbone vers les racines (Beatty et al. 2013). Cela pourrait laisser supposer que les éléments dont les concentrations auraient diminué dans les feuilles de *Cigalon* auraient été transférés dans les racines. Cette augmentation d'alanine est cohérente avec l'implication de ce métabolite dans la réponse d'hyper-sensibilité, comme observé chez *V. labrusca* (J. Chen et al. 2006).

# Conclusion Générale

Nous avons exploré la diversité d'utilisation de l'azote chez des riz de la sous-espèce des *japonica tempérés* et mis en relation cette diversité avec l'induction de sensibilité face à *M. oryzae*. Ainsi nous avons pu confirmer les trois hypothèses formulées au début de ce manuscrit. Dans un premier temps nous avons montré qu'il existait une hétérogénéité dans les dynamiques d'utilisation de l'azote au sein d'un panel de riz restreint. Cette diversité s'est maintenue dans l'ensemble des conditions évaluées. La composante de la NUE la plus discriminante était la capacité de prélèvement post-florale. De plus nous avons pu associer ces contrastes dans le prélèvement de l'azote avec la phénologie et des caractères morphologiques : capacité de tallage, maintien des feuilles vertes en fin de cycle, et la surface foliaire individuelle de la feuille drapeau. Dans un deuxième temps nous avons montré à l'échelle de la sous-espèce qu'il existait bien un contrôle génétique de la NIS par l'étude d'association présentée dans la troisième partie. Ainsi 2 QTLs lié à la NIS ont été mis en évidence : *NIS2* et *NIS3*. Enfin, dans un troisième temps, nous avons apporté des éléments qui montrent que l'ajout d'azote perturbe la relation entre *M. oryzae* et le riz par la modification globale des transports de nutriments qu'il provoque. Toutefois la description fonctionnelle de la NIS ne semble pas encore complète, notamment à cause du manque d'informations sur les événements post inoculation. Nous avons néanmoins réussi à mettre en place un profil physiologique qui permettrait au moins de prédire le phénomène : (i) des capacités de prélèvement post-florales importantes, (ii) des taux de myo.inositol élevés (iii) un métabolisme de la glutamine peu efficient et (iv) une diminution de concentration de plusieurs métabolites qui pourrait changer la physiologie de l'agent pathogène et l'amener à être plus virulent. Ces différents éléments sont illustrés dans le schéma bilan de ce manuscrit (**Figure 67**). Enfin de nombreux éléments restent à éclaircir comme : le potentiel rôle des phytohormones, et principalement les cytokinines ; la destination des nutriments qui diminue chez *Cigalon* (accumulés dans les racines ou les méristèmes ?) ; les altérations de la pathogénicité du champignon ; et la diversité de la NIS dans des pathosystèmes impliquant d'autres isolats de *M. oryzae* et d'autres familles de riz.

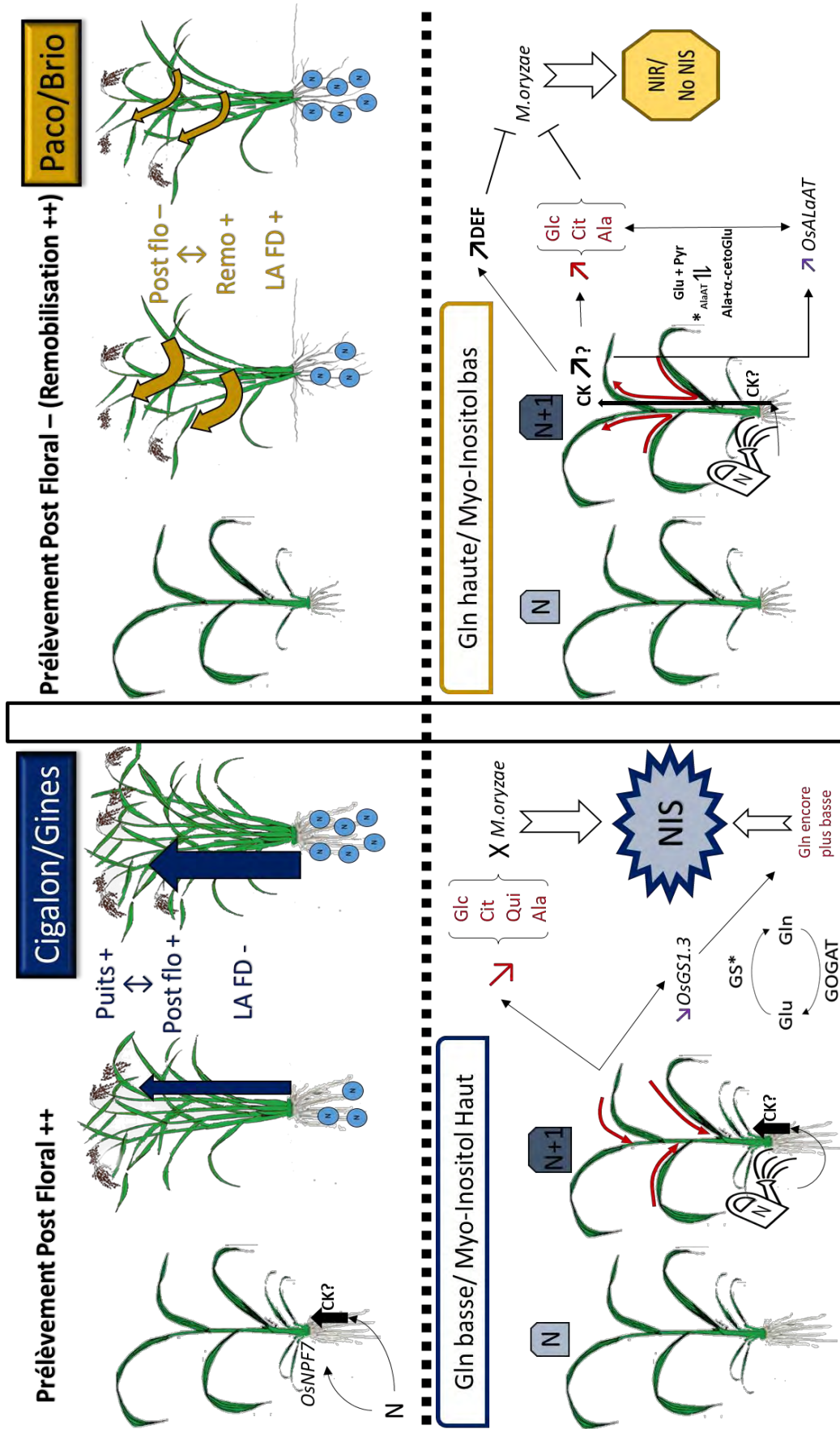


Figure 67 : Hypothèse des liens physiologiques entre l'utilisation de l'azote et la NIS

Légende page suivante

## Conclusion Générale

### Figure 67 : Hypothèse des liens physiologiques entre l'utilisation de l'azote et la NIS chez le riz

*Ce schéma illustre l'ensemble des résultats et des éléments de discussion nous permettant d'établir des profils physiologiques différents entre des phénotypes NIS et Non NIS*

*Un \* illustre une activité enzymatique supposée importante dans la NIS. Les flèches rouges illustrent les mouvements de métabolites supposés d'après les teneurs mesurées dans chaque niveau de feuille. Les flèches noires indiquent les potentiels signaux basés sur les cytokinines (CK)*

*La partie supérieure illustre les réactions de Cigalon et Gines (à gauche) et de Paco et Brio (à droite) à des teneurs en azote différentes sur l'ensemble de leur cycle. Sommairement, les premiers ont une dynamique de tallage ajustée à la disponibilité en azote, et produisent davantage d'organes puits. Ceci résulte en des capacités de prélèvement post-floral très contrastés directement reliées aux capacités de remobilisation.*

*La partie inférieure montre le contraste entre les teneurs en métabolites entre chacun des deux profils ainsi que les modifications moléculaires que chaque profil subit après l'ajout d'azote et comment cela pourrait impacter la NIS :*

*Cigalon et Gines ont des taux basaux bas de Gln et des taux élevés de myo.inositol, et inversement pour Paco et Brio. Ces taux ne sont pas modulés par l'azote.*

*Le traitement provoque une diminution des concentrations de plusieurs métabolites dans les feuilles de Cigalon et Gines. Chez Paco et Brio ces concentrations augmentent dans la feuille la plus jeune et diminuent dans la feuille la plus âgée, ce que nous avons associés à de la remobilisation.*

*Ces mouvements de métabolites sont en liens avec d'autres réactions (CK, GS, GOGAT, AlaAT) qui pourrait expliquer le phénotype de NIS.*



## Annexe 2 : Cultivars used for Nitrogen use experiment

Cultivars registred are noted with their usual names.  
Cultivars still in breeding process are noted with intern code SepyaXXX. Type of grains depend of its color (not precised for white grain) and shape :

Round Length  $\leq$  5.2 mm Length/width  $<$  2

Medium 5.2 mm  $<$  Length  $<$  6 mm Length/width  $<$  3

Long A Length  $\geq$  6 mm Length/width  $<$  3

Long B Length  $\geq$  6 mm Length/width  $\geq$  3

Cultivar	origin	Type of grain
CIGALON	France	Round
MANOBI	France	Medium
PATY	France	Long B
BRIO	Italy	Round
GINES	France	Long B
GLEVA	Spain	Medium
PACO	France	Long A
SEPYA016	France	Round
SEPYA024	France	Round
SEPYA029	France	Round
GAGERON	France	Round
MAMBO	France	Long B and Black

## Annexe 3 : Phenologies observed for 12 cultivars and classification made

The date of flowering correspond to the observation stamens visible on more than 50% of the plot. Maturity date was determined when 80% of grains were yellow-colored. The number of days correspond to the difference of each stage date with the sowing date May 9th 2018 and May 7th for 2019. The filling duration correspond to the times between flowering date and maturity date. Scale color have been establish by column to highlight difference of flowering and grain filling duration.

Group of phenologies have been made empirically with the mean of precocity of two year :

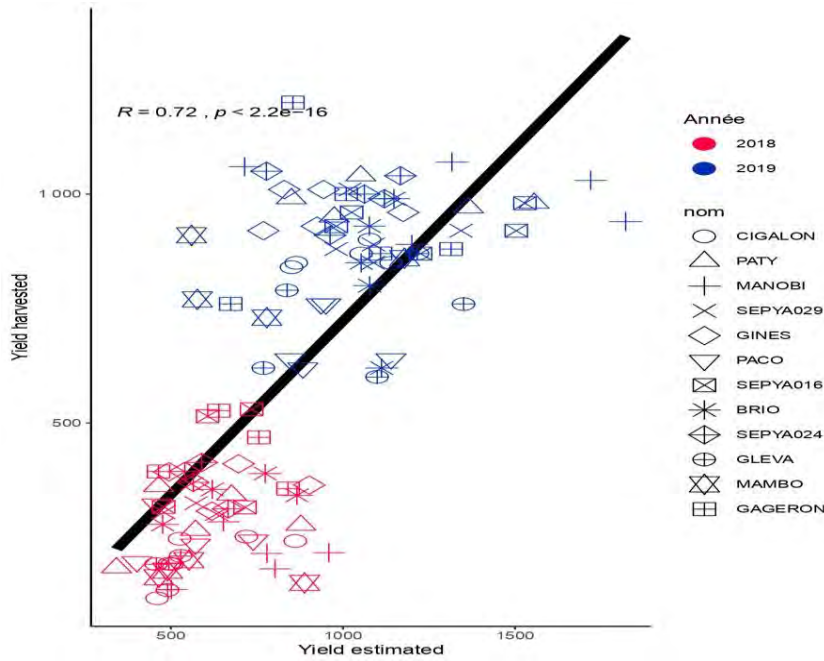
Early:  $<$  95 days

Intermediate:  $<$ 100 days

Late:  $>$ 100 days

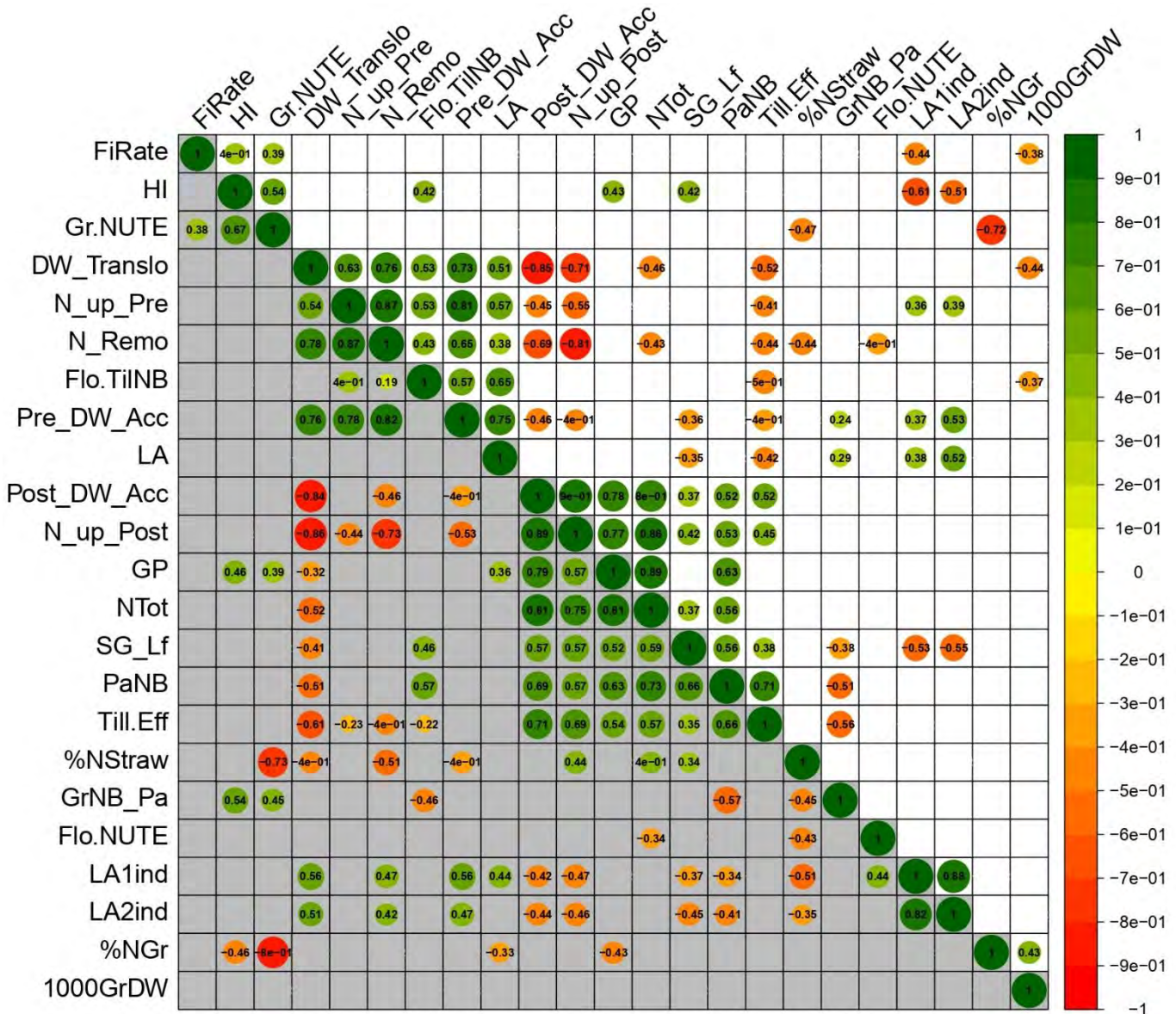
Cultivar	Years	Group	DATE flo	Nb days flo	DATE mat	Nb days mat	Filling duration	Mean pre Flo time	Mean filling time
CIGALON	2018	early	01/08/2018	84	14/09/2018	128	44	86	48
PATY	2018	early	03/08/2018	86	21/09/2018	135	49		
MANOBI	2018	early	06/08/2018	89	26/09/2018	140	51		
PACO	2018	intermediate	10/08/2018	93	27/09/2018	141	48		
SEPYA_029	2018	intermediate	10/08/2018	93	27/09/2018	141	48	95	46
GINES	2018	intermediate	13/08/2018	96	27/09/2018	141	45		
BRIO	2018	intermediate	13/08/2018	96	26/09/2018	140	44		
GLEVA	2018	intermediate	13/08/2018	96	03/10/2018	147	51		
SEPYA_016	2018	intermediate	14/08/2018	97	26/09/2018	140	43		
SEPYA_024	2018	intermediate	14/08/2018	97	26/09/2018	140	43		
MAMBO	2018	late	14/08/2018	97	26/09/2018	140	43		
GAGERON	2018	late	21/08/2018	104	03/10/2018	147	43		
CIGALON	2019	early	02/08/2019	87	18/09/2019	134	47	91	50
PATY	2019	early	08/08/2019	93	26/09/2019	142	49		
MANOBI	2019	early	09/08/2019	94	01/10/2019	147	53		
SEPYA_024	2019	intermediate	12/08/2019	97	10/10/2019	156	59		
SEPYA_029	2019	intermediate	12/08/2019	97	04/10/2019	150	53	98	55
GLEVA	2019	intermediate	12/08/2019	97	10/10/2019	156	59		
PACO	2019	intermediate	13/08/2019	98	01/10/2019	147	49		
SEPYA_016	2019	intermediate	13/08/2019	98	04/10/2019	150	52		
BRIO	2019	intermediate	13/08/2019	98	10/10/2019	156	58		
GINES	2019	intermediate	14/08/2019	99	10/10/2019	156	57		
GAGERON	2019	late	19/08/2019	104	04/10/2019	150	46		
MAMBO	2019	late	19/08/2019	104	26/09/2019	142	38		
								104	42





### Annexe 4 : Correlation between yield estimated by transect sampling and yield obtained by mechanical harvest

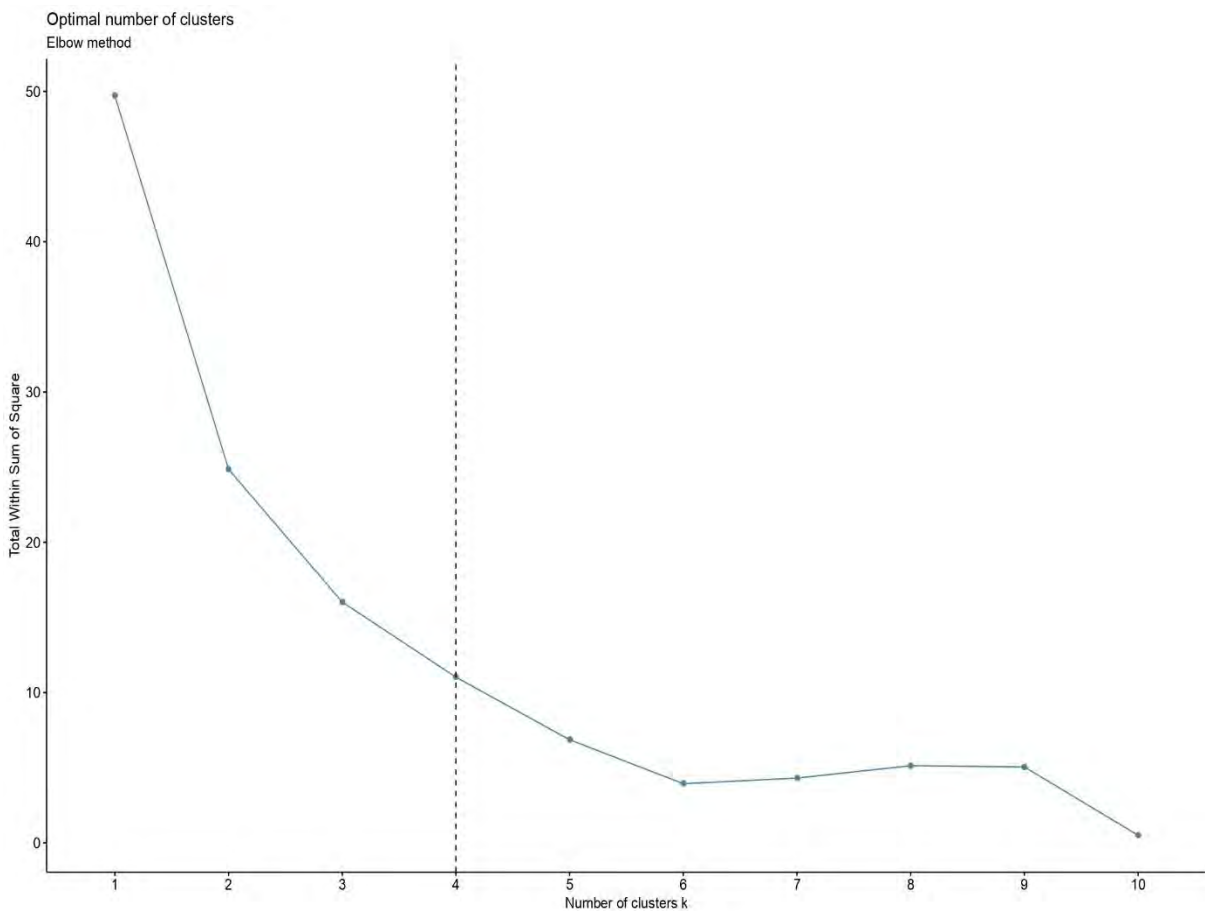
Each point corresponds to the yield (estimated and harvested, expressed in  $g \cdot m^{-2}$ ) of one micro plot. A significant linear correlation calculated on the pool of two year are plotted illustrates the significant relationship between our estimation and real yield



**Annexe 5 : Correlation Matrix of Physiological Traits by years**

The matrix show Pearson correlation calculated on 2018 (grey background) and 2019 (white background) independently. Each value showed corresponds to the  $r^2$  in case of significant correlation ( $P < 0,01$ ), Color and size of circle illustrate the  $r^2$  value (green as positive and red as negative). Variables have been ordered by a complete hierarchical clustering method.

*DW\_Translo* : Dry weigh translocation; *FiRate*: Rate of filled grains ; *Flo.LA* : Leaves area at flowering; *Flo.NUTE* : Nitrogen Utilisation Efficiency of biomass production at flowering *Flo.TilNB* : Number of tillers at flowering; *Gr.NUTE* : Nitrogen Utilisation Efficiency of GP: Grains production; *GrNB\_Pa* : Number of grain by panicles; *HI* : Harvest index; *LAIind* : Mean of individual leaf area of flag leaf; *LA2ind* : Mean of individual leaf area of the flag above the flag leaf; *N\_Remo* : Nitrogen remobilized; *N\_up\_Pre* : Nitrogen uptake pre flowering; *N\_up\_Post* : Nitrogen uptake post flowering; *NTot* : Total of Nitrogen uptake; *PaNB* : Number of panicles; *Post\_DW\_Acc*: Post flowering dry weight accumulation ; *Pre\_DW\_Acc* : Pre flowering DW accumulation; *SG\_Lf* : Number of leaves stayed green; *Till.Eff*: Tillering Efficiency; *%NStaw* : Nitrogen concentration in straws; *%NGr* : Nitrogen concentration in grains; *1000GrDW* : 1000 grains dry weight.



**Annexe 6 : Determination of optimum number of cluster by Elbow method's**

The sum square of individuals barycenter coordinate on the free first dimension of PCA have been calculated from one to ten clusters. It seems to slow down its decrease after four cluster (vertical line). Thus, we use this number of cluster to calculate group with PCA results

**Annexe 7 : Composition des solutions utilisées pour la fertilisation différentielle**

*La solution 0N est appliquée sur les plantes de la condition N, et la solution 2N sur les plantes de la solution N+1.*

Macronutrient		C solution mère (mM)	V (ml) pour 3l	
			2N	0N
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Potassium sulfate	67.14	12	12
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potassium phosphate	98.46	12	12
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	Nitrate d'ammonium	24.99	12	0
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	Magnanese sulfate	76.67	6	6
Micronutrient				
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Boric acid	0.456		
MnSO <sub>4</sub>	Manganese sulfate	0.252		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> , 4H <sub>2</sub> O	Ammonium molybdate	0.004		
CuSO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	Cuproc sulfate	0.039		
ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	Zinc sulfate	0.153		
Total			4	4
Ferveg			4	4
H <sub>2</sub> O osmosée			10	12

**Annexe 8 : Protocole d'extraction d'ARN****Broyage :**

- \_ Stockage des échantillons dans des tubes de 2ml à -80°C
- \_ Broyage avec un broyeur à bras, à froid
- \_ Deux sessions de 60sec à 30Htz.

**Extraction ARN :*****Lyse des cellules et composants cellulaires***

- \_ Ajout de 1mL de Tri-reagent par tubes
- \_ Agitation modérée pendant 1 min 30

***Séparation des acides nucléiques***

- \_ Ajout de 200µL de Chloroforme par tube
- \_ Agitation forte pendant 6 s
- \_ Incubation 10 min
- \_ Centrifugation de 15min à 4°C à 13000g.

***Précipitation des acides nucléiques (à froid)***

- \_ Transfert de 630µL de la phase supérieure dans un tube 1,5mL
- \_ Ajout de 560µL d'Isopropanol 100% froid (-20°C).
- \_ Homogénéisation par inversion des tubes
- \_ Incubation à -20°C 10min.
- \_ Centrifugation 20 min à 13000g à 4°C.
- \_ Retrait du surnageant + séchage

***Rinçage***

- Ajout de 500µL d'éthanol 70% froid (4°C).
- Centrifugation 5 min à 13000g à 4°C.
- \_ Retrait du surnageant + séchage

***Suspension***

- \_ Resuspension, avec 50µL d'eau ultrapure.

**Traitement DNase (kit Fermentas):**

Mix DNase de sorte à répartir dans chaque puits 6µL du mix :

-Suspension ARN	→ 50µL	}	Mix
-Tampon 10X	5,6µL		
-Eau	0,20µL		
-DNase (50U/µL)	0,20µL		
	= 56 µL		

36. Incubation 30min à 37°C.

37. Ajout de 5,6µL de EDTA 25mM.

38. Incubation 10 min à 65°C.

**Dosage et RT des ARN:**

Dosage des ARN au Nanodrop.

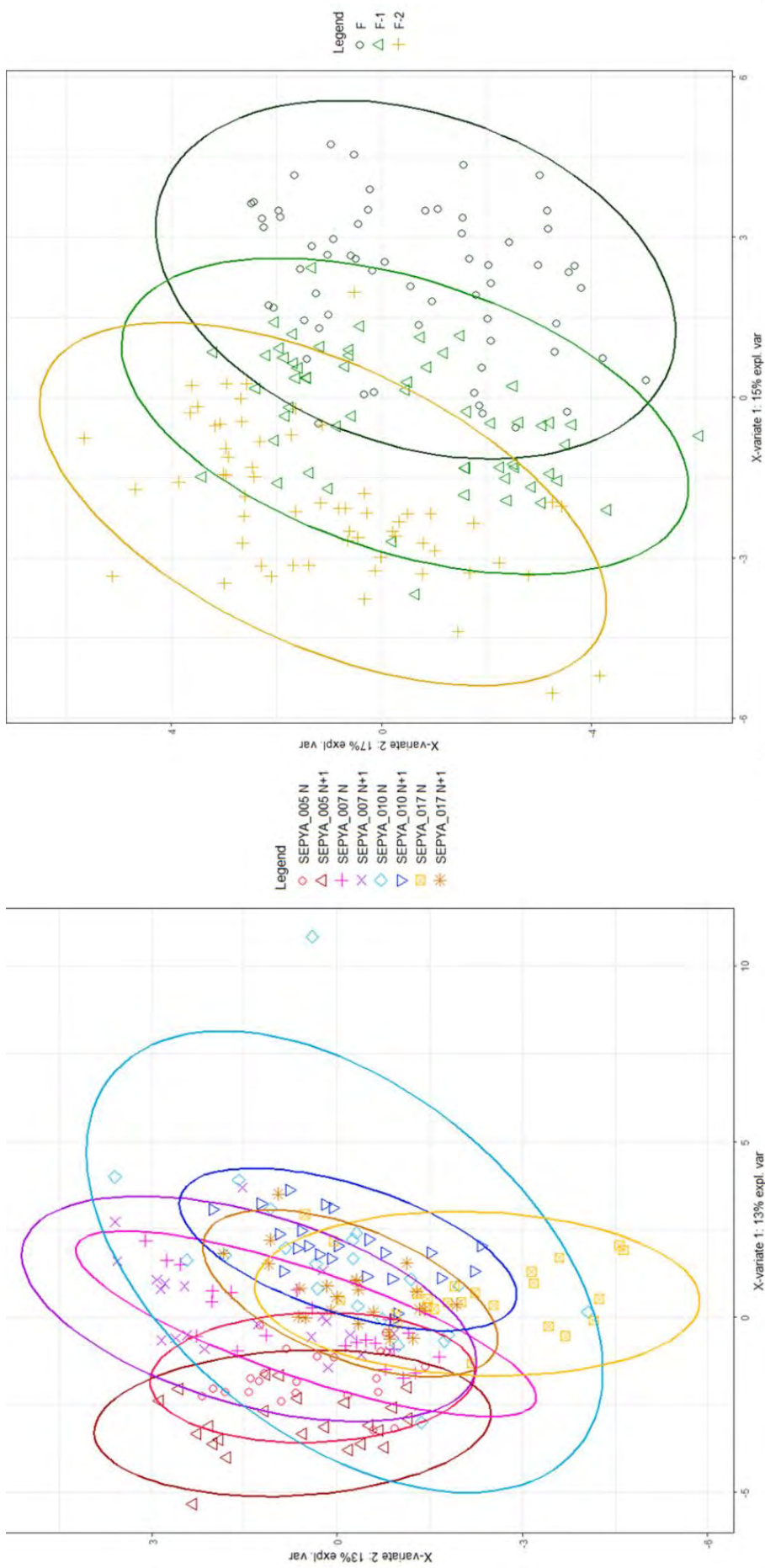
Dilution avec de l'eau ultrapure pour avoir 5µg dans 8µL tel que

- x µL ARN = 5000ng
  - 8-x µL eau
  - 2 µL mix oligo dt
  - 3 µL eau
- }
- = 13µL

\_ Dénaturation pendant 5min à 95°C puis mettre immédiatement sur glace

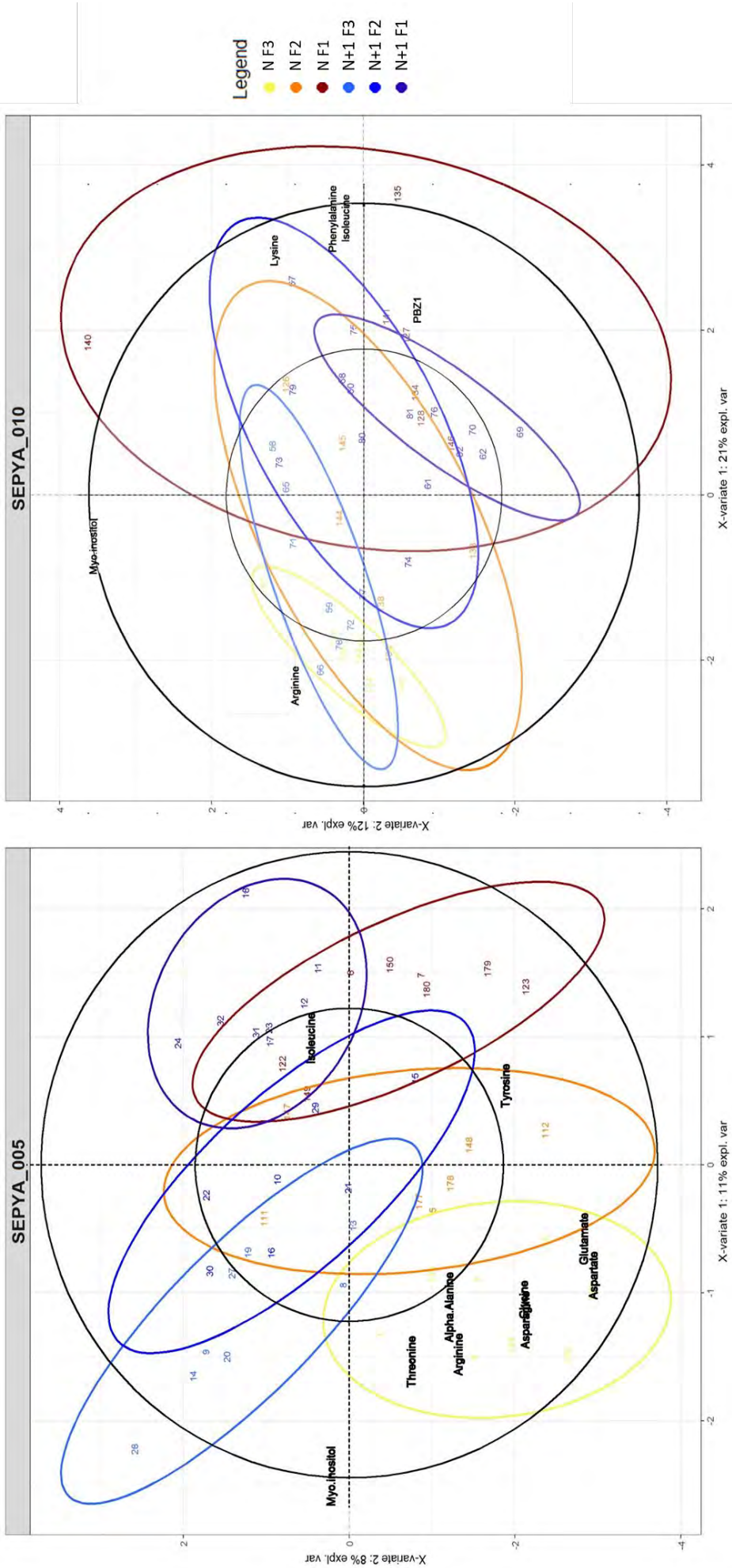
Ajouter :

- 4µL tampon 5X
  - 2µL dNTP 10mM
  - 1µL RT-MMVL (Promega)
- = 20µL
- \_ Incubation 1h15 min à 37°C



### Annexe 9 : PLSDA préliminaires

Les deux projections ont été calculées avec l'ensemble des données disponibles. La projection de gauche a été faite en tenant compte de la combinaison génotype+traitement comme groupe discriminant. La projection de droite a été faite en tenant compte du niveau de feuille comme groupe discriminant



### Annexe 10 : PLSDAs calculées par génotypes

Chaque PLSDA a été calculée à partir des données filtrées par génotype en tenant compte de la combinaison niveau de feuille+traitement comme groupe discriminant.



## Références Bibliographiques

- Achuo, E. A., E. Prinsen, et M. Höfte. 2006. « Influence of Drought, Salt Stress and Abscisic Acid on the Resistance of Tomato to *Botrytis Cinerea* and *Oidium Neolycopersici* ». *Plant Pathology* 55 (2): 178-86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01340.x>.
- Adriani, Dewi E., Tanguy Lafarge, Audrey Dardou, Aubrey Fabro, Anne Clément-Vidal, Sudirman Yahya, Michael Dingkuhn, et Delphine Luquet. 2016. « The QTSN Positive Effect on Panicle and Flag Leaf Size of Rice Is Associated with an Early Down-Regulation of Tillering ». *Frontiers in Plant Science* 6 (janvier). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01197>.
- Adriani, Dewi Erika, Michael Dingkuhn, Audrey Dardou, Hélène Adam, Delphine Luquet, et Tanguy Lafarge. 2016. « Rice Panicle Plasticity in Near Isogenic Lines Carrying a QTL for Larger Panicle Is Genotype and Environment Dependent ». *Rice* 9 (1). <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0101-x>.
- Ahmed, Moddassir, Nasir Ahmad Saeed, M Yasin Ashraf, Zahid Mukhtar, et Shahid Mansoor. 2020. « Improving Nitrogen Use Efficiency In Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Through Transformation Of Codon Optimized Alanine Aminotransferase Gene ». *Pak. J. Agri. Sci.*, 57: 707-14.
- Albar, L., M. Lorieux, N. Ahmadi, I. Rimbault, A. Pinel, A. A. Sy, D. Fargette, et A. Ghesquière. 1998. « Genetic Basis and Mapping of the Resistance to Rice Yellow Mottle Virus. I. QTLs Identification and Relationship between Resistance and Plant Morphology ». *Theoretical and Applied Genetics* 97 (7): 1145-54. <https://doi.org/10.1007/s001220051003>.
- Andolfo, Giuseppe, et Maria R. Ercolano. 2015. « Plant Innate Immunity Multicomponent Model ». *Frontiers in Plant Science* 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00987>.
- Arunrat, Noppol, et Nathsuda Pumijumnong. 2017. « Practices for Reducing Greenhouse Gas Emissions from Rice Production in Northeast Thailand ». *Agriculture* 7 (1): 4. <https://doi.org/10.3390/agriculture7010004>.
- Athira, G., A. Bahurudeen, et Srinivas Appari. 2019. « Sustainable Alternatives to Carbon Intensive Paddy Field Burning in India: A Framework for Cleaner Production in Agriculture, Energy, and Construction Industries ». *Journal of Cleaner Production* 236 (novembre): 117598. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.073>.
- Atkinson, Nicky J., et Peter E. Urwin. 2012. « The Interaction of Plant Biotic and Abiotic Stresses: From Genes to the Field ». *Journal of Experimental Botany* 63 (10): 3523-43. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers100>.
- Aver'yanov, Andrey A., Vera P. Lapikova, et Vitaliy G. Djawakhia. 1993. « Active Oxygen Mediates Heat-Induced Resistance of Rice Plant to Blast Disease ». *Plant Science* 92 (1): 27-34. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(93\)90063-6](https://doi.org/10.1016/0168-9452(93)90063-6).
- Baccar, Rim, Christian Fournier, Tino Dornbusch, Bruno Andrieu, David Gouache, et Corinne Robert. 2011. « Modelling the effect of wheat canopy architecture as affected by sowing density on *Septoria tritici* epidemics using a coupled epidemic–virtual plant model ». *Annals of Botany* 108 (6): 1179-94. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr126>.
- Baggs, Erin L., J. Grey Monroe, Anil S. Thanki, Ruby O'Grady, Christian Schudoma, Wilfried Haerty, et Ksenia V. Krasileva. 2020. « Convergent Loss of an EDS1/PAD4 Signaling Pathway in Several Plant Lineages Reveals Coevolved Components of Plant Immunity and Drought Response[OPEN] ». *The Plant Cell* 32 (7): 2158-77. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00903>.
- Baker, J.T., L.H. Allen, K.J. Boote, P. Jones, et J.W. Jones. 1990. « Developmental Responses of Rice to Photoperiod and Carbon Dioxide Concentration ». *Agricultural and Forest Meteorology* 50 (3): 201-10. [https://doi.org/10.1016/0168-1923\(90\)90054-A](https://doi.org/10.1016/0168-1923(90)90054-A).



- Ballini, Elsa, Jean-Benoît Morel, Gaétan Droc, Adam Price, Brigitte Courtois, Jean-Loup Notteghem, et Didier Tharreau. 2008. « A Genome-Wide Meta-Analysis of Rice Blast Resistance Genes and Quantitative Trait Loci Provides New Insights into Partial and Complete Resistance ». *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21 (7): 859-68. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-7-0859>.
- Ballini, Elsa, Thuy Thi Thu Nguyen, et Jean-Benoit Morel. 2013. « Diversity and genetics of nitrogen-induced susceptibility to the blast fungus in rice and wheat ».
- Bari, Rajendra, et Jonathan D. G. Jones. 2009. « Role of Plant Hormones in Plant Defence Responses ». *Plant Molecular Biology* 69 (4): 473-88. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>.
- Barnwal, M. K., A. Kotasthane, N. Magculia, P. K. Mukherjee, S. Savary, A. K. Sharma, H. B. Singh, et al. 2013. « A Review on Crop Losses, Epidemiology and Disease Management of Rice Brown Spot to Identify Research Priorities and Knowledge Gaps ». *European Journal of Plant Pathology* 136 (3): 443-57. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0195-6>.
- Barracough, Peter B., Rafael Lopez-Bellido, et Malcolm J. Hawkesford. 2014. « Genotypic Variation in the Uptake, Partitioning and Remobilisation of Nitrogen during Grain-Filling in Wheat ». *Field Crops Research* 156 (février): 242-48. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.10.004>.
- Bastiaans, L. (Wageningen Agricultural Univ. 1991. « Quantifying the Effect of Rice Leaf Blast on Leaf Photosynthesis, Crop Growth, and Final Yield Using Ecophysiological Model of Crop Growth ». In . IRRI. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PH9111293>.
- Beatty, Perrin H., Rebecka T. Carroll, Ashok K. Shrawat, David Guevara, et Allen G. Good. 2013. « Physiological analysis of nitrogen-efficient rice overexpressing alanine aminotransferase under different N regimes ». *Botany* 91 (12): 866-83. <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0171>.
- Beau, J.-P. 1975. « La culture du riz en Camargue, aspects techniques et commerciaux actuels ». *Méditerranée* 22 (3): 53-68. <https://doi.org/10.3406/medit.1975.1622>.
- Berens, Matthias L., Katarzyna W. Wolinska, Stijn Spaepen, Jörg Ziegler, Tatsuya Nobori, Aswin Nair, Verena Krüler, et al. 2019. « Balancing Trade-Offs between Biotic and Abiotic Stress Responses through Leaf Age-Dependent Variation in Stress Hormone Cross-Talk ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116 (6): 2364-73. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817233116>.
- Bhaskar, C Vija Ya, G Rama Rao, et K B Reddy. 2001. « EFFECT OF NITROGEN AND POTASSIUM NUTRITION ON SHEATH ROT INCIDENCE AND PHENOL CONTENT IN RICE (ORYZA SATIVA L.) ». . . *Plant Physiol.* 6: 4.
- Bidzinski, Przemyslaw, Elsa Ballini, Aurélie Ducasse, Corinne Michel, Paola Zuluaga, Annamaria Genga, Remo Chiozzotto, et Jean-Benoit Morel. 2016. « Transcriptional Basis of Drought-Induced Susceptibility to the Rice Blast Fungus Magnaporthe Oryzae ». *Frontiers in Plant Science* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01558>.
- Bittel, Pascal, et Silke Robatzek. 2007. « Microbe-Associated Molecular Patterns (MAMPs) Probe Plant Immunity ». *Current Opinion in Plant Biology*, Special Issue on Biotic Interactions, 10 (4): 335-41. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.021>.
- Bloem, Elke, Anja Riemenschneider, Julia Volker, Jutta Papenbrock, Ahlert Schmidt, Ioana Salac, Silvia Haneklaus, et Ewald Schnug. 2004. « Sulphur Supply and Infection with Pyrenopeziza Brassicae Influence L-Cysteine Desulphhydrase Activity in Brassica Napus L. » *Journal of Experimental Botany* 55 (406): 2305-12. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh236>.
- Bocco, R., M. Lorieux, P. A. Seck, K. Futakuchi, B. Manneh, H. Baimey, et M. N. Ndjiondjop. 2012. « Agro-Morphological Characterization of a Population of Introgression Lines Derived from Crosses between IR 64 (Oryza Sativa Indica) and TOG 5681 (Oryza Glaberrima) for Drought Tolerance ». *Plant Science* 183 (février): 65-76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.09.010>.
- Bogard, Matthieu, Vincent Allard, Maryse Brancourt-Hulmel, Emmanuel Heumez, Jean-Marie Machet, Marie-Hélène Jeuffroy, Philippe Gate, Pierre Martre, et Jacques Le Gouis. 2010a. « Deviation from the Grain Protein Concentration–Grain Yield Negative Relationship Is Highly Correlated to Post-Anthesis N Uptake in Winter Wheat ». *Journal of Experimental Botany* 61 (15): 4303-12. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq238>.

- Bogard, Matthieu, Matthieu Jourdan, Vincent Allard, Pierre Martre, Marie Reine Perretant, Catherine Ravel, Emmanuel Heumez, et al. 2011. « Anthesis Date Mainly Explained Correlations between Post-Anthesis Leaf Senescence, Grain Yield, and Grain Protein Concentration in a Winter Wheat Population Segregating for Flowering Time QTLs ». *Journal of Experimental Botany* 62 (10): 3621-36. <https://doi.org/10.1093/jxb/err061>.
- Bolton, Melvin D. 2009. « Primary Metabolism and Plant Defense—Fuel for the Fire ». *Molecular Plant-Microbe Interactions*® 22 (5): 487-97. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-5-0487>.
- Bonman, J. M. 1992. « Durable resistance to rice blast disease—environmental influences ». In *Breeding for Disease Resistance*, 115-23. Springer.
- Bonnett, D.G., G.J. Rebetzke, et W. Spielmeyer. 2005. « Strategies for Efficient Implementation of Molecular Markers in Wheat Breeding ». *Molecular Breeding* 15 (1): 75-85. <https://doi.org/10.1007/s11032-004-2734-5>.
- Bönnighausen, Jakob, Daniel Gebhard, Cathrin Kröger, Birgit Hadel, Thomas Tumforde, Reinhard Lieberei, Jörg Bergemann, Wilhelm Schäfer, et Jörg Bormann. 2015. « Disruption of the GABA Shunt Affects Mitochondrial Respiration and Virulence in the Cereal Pathogen *Fusarium Graminearum* ». *Molecular Microbiology* 98 (6): 1115-32. <https://doi.org/10.1111/mmi.13203>.
- Borrell, Andrew, Graeme Hammer, et Erik Van Oosterom. 2001. « Stay-Green: A Consequence of the Balance between Supply and Demand for Nitrogen during Grain Filling? » *Annals of Applied Biology* 138 (1): 91-95. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2001.tb00088.x>.
- Borrell, Andrew K., et Graeme L. Hammer. 2000. « Nitrogen Dynamics and the Physiological Basis of Stay-Green in Sorghum ». *Crop Science* 40 (5): 1295-1307. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4051295x>.
- Bos, Huibert J., et JAN H. Neuteboom. 1998. « Morphological Analysis of Leaf and Tiller Number Dynamics of Wheat (*Triticum Aestivum*L.): Responses to Temperature and Light Intensity ». *Annals of Botany* 81 (1): 131-39. <https://doi.org/10.1006/anbo.1997.0531>.
- Bossio, Deborah A, William R Horwath, Randall G Mitters, et Chris van Kessel. 1999. « Methane Pool and Flux Dynamics in a Rice Field Following Straw Incorporation ». *Soil Biology and Biochemistry* 31 (9): 1313-22. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00050-4](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00050-4).
- Boudreau, Mark A. 2013. « Diseases in Intercropping Systems ». *Annual Review of Phytopathology* 51 (1): 499-519. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102246>.
- Brooks, David M., Carol L. Bender, et Barbara N. Kunkel. 2005. « The *Pseudomonas Syringae* Phytotoxin Coronatine Promotes Virulence by Overcoming Salicylic Acid-Dependent Defences in *Arabidopsis Thaliana* ». *Molecular Plant Pathology* 6 (6): 629-39. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00311.x>.
- Bueno, C.S., E. Pasuquin, B. Tubaña, et T. Lafarge. 2010. « Improving Sink Regulation, and Searching for Promising Traits Associated with Hybrids, as a Key Avenue to Increase Yield Potential of the Rice Crop in the Tropics ». *Field Crops Research* 118 (3): 199-207. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.04.004>.
- Cai, Kunzheng, Dan Gao, Shiming Luo, Rensen Zeng, Jianyuan Yang, et Xiaoyuan Zhu. 2008. « Physiological and Cytological Mechanisms of Silicon-Induced Resistance in Rice against Blast Disease ». *Physiologia Plantarum* 134 (2): 324-33. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01140.x>.
- Campos, Marcelo L., Yuki Yoshida, Ian T. Major, Dalton de Oliveira Ferreira, Sarathi M. Weraduwage, John E. Froehlich, Brendan F. Johnson, et al. 2016. « Rewiring of Jasmonate and Phytochrome B Signalling Uncouples Plant Growth-Defense Tradeoffs ». *Nature Communications* 7 (1): 12570. <https://doi.org/10.1038/ncomms12570>.
- Campos-Soriano, Lidia, Mireia Bundó, Marcel Bach-Pages, Su-Fen Chiang, Tzyy-Jen Chiou, et Blanca San Segundo. 2020. « Phosphate Excess Increases Susceptibility to Pathogen Infection in Rice ». *Molecular Plant Pathology* 21 (4): 555-70. <https://doi.org/10.1111/mpp.12916>.
- Celar, Franci. 2003. « Competition for Ammonium and Nitrate Forms of Nitrogen between Some Phytopathogenic and Antagonistic Soil Fungi ». *Biological Control* 28 (1): 19-24. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(03\)00049-5](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(03)00049-5).

- Chanclud, Emilie, Anna Kisiala, Neil R. J. Emery, Véronique Chalvon, Aurélie Ducasse, Corinne Romiti-Michel, Antoine Gravot, Thomas Kroj, et Jean-Benoit Morel. 2016. « Cytokinin Production by the Rice Blast Fungus Is a Pivotal Requirement for Full Virulence ». *PLoS Pathogens* 12 (2): e1005457. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005457>.
- Chen, Fangfang, Ruijing Ma, et Xiao-Lin Chen. 2019. « Advances of Metabolomics in Fungal Pathogen–Plant Interactions ». *Metabolites* 9 (8): 169. <https://doi.org/10.3390/metabo9080169>.
- Chen, Jianxin, Dawn E. Hall, Jun Murata, et Vincenzo De Luca. 2006. « L-Alanine Induces Programmed Cell Death in *V. Labrusca* Cell Suspension Cultures ». *Plant Science* 171 (6): 734-44. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.07.003>.
- Chen, Jin-Gui, Shun-He Cheng, Weixing Cao, et Xie Zhou. 1998. « Involvement of endogenous plant hormones in the effect of mixed nitrogen source on growth and tillering of wheat ». *Journal of Plant Nutrition* 21 (1): 87-97. <https://doi.org/10.1080/01904169809365385>.
- Chen, Wei, Xiaoqin Yao, Kunzheng Cai, et Jining Chen. 2011. « Silicon Alleviates Drought Stress of Rice Plants by Improving Plant Water Status, Photosynthesis and Mineral Nutrient Absorption ». *Biological Trace Element Research* 142 (1): 67-76. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8742-x>.
- Chen, Xiao-rong. 2015. « Effects of Different Nitrogen Applications on the Differentiation and Retrogression of the Branch and Spikelet in Ganxin688-- 《Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis》 2008年01期 ». *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis* 2008-01. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotat-JXND200801000.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotat-JXND200801000.htm).
- Chen, Zhongying, Jennifer L. Agnew, Jerry D. Cohen, Ping He, Libo Shan, Jen Sheen, et Barbara N. Kunkel. 2007. « Pseudomonas Syringae Type III Effector AvrRpt2 Alters Arabidopsis Thaliana Auxin Physiology ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (50): 20131-36. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704901104>.
- Cho, Young-Il, Wenzhu Jiang, Joong-Hyoun Chin, Zhongze Piao, Yong-Gu Cho, Susan R. McCouch, et Hee-Jong Koh. 2007. « Identification of QTLs associated with physiological nitrogen use efficiency in rice. » *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)* 23 (1).
- Choi, Hong-Kyu, Alberto Iandolino, Francisco Goes da Silva, et Douglas R. Cook. 2013. « Water Deficit Modulates the Response of *Vitis Vinifera* to the Pierce's Disease Pathogen *Xylella Fastidiosa* ». *Molecular Plant-Microbe Interactions®* 26 (6): 643-57. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-12-0217-R>.
- Cock, James, et S. Yoshida. 1972. « Accumulation of <sup>14</sup>C-labelled carbohydrate before flowering and its subsequent redistribution and respiration in rice plant ». *Proc. Crop. Sci.Soc* 41: 226-34.
- Cohen, Stephen P., et Jan E. Leach. 2019. « Abiotic and Biotic Stresses Induce a Core Transcriptome Response in Rice ». *Scientific Reports* 9 (1): 6273. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42731-8>.
- Collins, A, D Milbourne, L Ramsay, R Meyer, C Chatot-Balandras, P Oberhagemann, W De Jong, C Gebhardt, E Bonnel, et R Waugh. 1999. « QTL for Field Resistance to Late Blight in Potato Are Strongly Correlated with Maturity and Vigour », 12.
- Cormier, Fabien, Jacques Le Gouis, Pierre Dubreuil, Stéphane Lafarge, et Sébastien Praud. 2014. « A Genome-Wide Identification of Chromosomal Regions Determining Nitrogen Use Efficiency Components in Wheat (*Triticum Aestivum* L.) ». *Theoretical and Applied Genetics* 127 (12): 2679-93. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2407-7>.
- Corwin, Jason A., et Daniel J. Kliebenstein. 2017. « Quantitative Resistance: More Than Just Perception of a Pathogen ». *The Plant Cell* 29 (4): 655-65. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00915>.
- Courtois, Brigitte. 2007. « Une brève histoire du riz et de son amélioration génétique », 13.
- Criado, Maria V., Carla Caputo, Irma N. Roberts, Maria A. Castro, et Atilio J. Barneix. 2009. « Cytokinin-Induced Changes of Nitrogen Remobilization and Chloroplast Ultrastructure in Wheat (*Triticum Aestivum*) ». *Journal of Plant Physiology* 166 (16): 1775-85. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.05.007>.
- Daane, K., R. Johnson, T. Michailides, C. Crisosto, J. Dlott, H. Ramirez, G. Yokota, et D. Morgan. 1995. « Excess Nitrogen Raises Nectarine Susceptibility to Disease and Insects ». *California Agriculture* 49 (4): 13-18.
- Datnoff, L.E., et F.A. Rodrigues. 2005. « The Role of Silicon in Suppressing Rice Diseases. » *APSnet Feature Articles*. <https://doi.org/10.1094/APSnetFeature-2005-0205>.

- Dawson, J. C., K. M. Murphy, D. R. Huggins, et S. S. Jones. 2011. « Evaluation of Winter Wheat Breeding Lines for Traits Related to Nitrogen Use under Organic Management ». *Organic Agriculture* 1 (2): 65-80. <https://doi.org/10.1007/s13165-011-0006-3>.
- De Kesel, Jonas, Ramsés Gómez-Rodríguez, Eli Bonneure, Sven Mangelinckx, et Tina Kyndt. 2020. « The Use of PTI-Marker Genes to Identify Novel Compounds that Establish Induced Resistance in Rice ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (1). <https://doi.org/10.3390/ijms21010317>.
- De Vleeschauwer, David, Jing Xu, et Monica Höfte. 2014. « Making Sense of Hormone-Mediated Defense Networking: From Rice to Arabidopsis ». *Frontiers in Plant Science* 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00611>.
- Denby, Katherine J., Pavan Kumar, et Daniel J. Kliebenstein. 2004. « Identification of Botrytis Cinerea Susceptibility Loci in Arabidopsis Thaliana ». *The Plant Journal* 38 (3): 473-86. <https://doi.org/10.1111/j.0960-7412.2004.02059.x>.
- Deng, Fei, Li Wang, Wan-Jun Ren, Xiu-Feng Mei, et Shu-Xian Li. 2015. « Optimized Nitrogen Managements and Polyaspartic Acid Urea Improved Dry Matter Production and Yield of Indica Hybrid Rice ». *Soil and Tillage Research* 145 (janvier): 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.still.2014.08.004>.
- Deng, Nanyan, Patricio Grassini, Haishun Yang, Jianliang Huang, Kenneth G. Cassman, et Shaobing Peng. 2019. « Closing Yield Gaps for Rice Self-Sufficiency in China ». *Nature Communications* 10 (1): 1725. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09447-9>.
- Detmann, Kelly C., Wagner L. Araújo, Samuel C. V. Martins, Lílian M. V. P. Sanglard, Josimar V. Reis, Edenio Detmann, Fabrício A. Rodrigues, Adriano Nunes-Nesi, Alisdair R. Fernie, et Fábio M. DaMatta. 2012. « Silicon Nutrition Increases Grain Yield, Which, in Turn, Exerts a Feed-Forward Stimulation of Photosynthetic Rates via Enhanced Mesophyll Conductance and Alters Primary Metabolism in Rice ». *New Phytologist* 196 (3): 752-62. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04299.x>.
- Develash, R. K., et S. K. Sugha. 1997. « Factors Affecting Development of Downy Mildew (Peronospora Destructor) of Onion (Allium Cepa). » *Indian Journal of Agricultural Sciences* 67 (2): 71-74.
- Devi, Banita, Gurvinder Singh, Ashutosh K. Dash, et S. K. Gupta. 2020. « Chemically Induced Systemic Acquired Resistance in the Inhibition of French Bean Rust ». *Current Plant Biology, Plant Interactions with Microbes and Environment*, 23 (septembre): 100151. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100151>.
- Ding, Zehong, Chongrong Wang, Sheng Chen, et Sibin Yu. 2011. « Diversity and Selective Sweep in the OsAMT1;1 genomic Region of Rice ». *BMC Evolutionary Biology* 11 (1): 61. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-61>.
- Dingkuhn, Michael, Delphine Luquet, Denis Fabre, Bertrand Muller, Xinyou Yin, et Matthew J Paul. 2020. « The Case for Improving Crop Carbon Sink Strength or Plasticity for a CO<sub>2</sub>-Rich Future ». *Current Opinion in Plant Biology* 56 (août): 259-72. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.05.012>.
- Dobermann, Achim. 2005. « Nitrogen Use Efficiency – State of the Art », 17.
- Dodds, Peter N., et John P. Rathjen. 2010. « Plant Immunity: Towards an Integrated View of Plant–Pathogen Interactions ». *Nature Reviews Genetics* 11 (8): 539-48. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>.
- Dordas, Christos. 2009. « Role of Nutrients in Controlling Plant Diseases in Sustainable Agriculture: A Review ». In *Sustainable Agriculture*, 443-60. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8\\_28](https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_28).
- Dreccer, M. Fernanda. 2006. « Nitrogen Use at the Leaf and Canopy Level: A Framework to Improve Crop N Use Efficiency ». *Journal of Crop Improvement* 15 (2): 97-125. [https://doi.org/10.1300/J411v15n02\\_04](https://doi.org/10.1300/J411v15n02_04).
- Duan, Guian. 2020. « Magnaporthe Oryzae Systemic Defense Trigger 1 (MoSDT1)-Mediated Metabolites Regulate Defense Response in Rice », septembre. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-17570/v4>.

- Dunning, F. Mark, Wenxian Sun, Kristin L. Jansen, Laura Helft, et Andrew F. Bent. 2007. « Identification and Mutational Analysis of Arabidopsis FLS2 Leucine-Rich Repeat Domain Residues That Contribute to Flagellin Perception ». *The Plant Cell* 19 (10): 3297-3313. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.048801>.
- Dusserre, Julie, Harinjaka Raveloson, Roger Michellon, Eric Gozé, Sandrine Auzoux, et Mathilde Sester. 2017. « Conservation Agriculture Cropping Systems Reduce Blast Disease in Upland Rice by Affecting Plant Nitrogen Nutrition ». *Field Crops Research* 204 (mars): 208-21. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.01.024>.
- Epstein, Emanuel. 1999. « Silicon ». *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50 (1): 641-64. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.641>.
- Erley, Gunda Schulte auf'm, Ketut-Anom Wijaya, Abdullah Ulas, Heiko Becker, Franz Wiesler, et Walter J. Horst. 2007. « Leaf Senescence and N Uptake Parameters as Selection Traits for Nitrogen Efficiency of Oilseed Rape Cultivars ». *Physiologia Plantarum* 130 (4): 519-31. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00921.x>.
- Fabre, Denis, Michael Dingkuhn, Xinyou Yin, Anne Clément-Vidal, Sandrine Roques, Armelle Soutiras, et Delphine Luquet. 2020. « Genotypic Variation in Source and Sink Traits Affects the Response of Photosynthesis and Growth to Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> ». *Plant, Cell & Environment* 43 (3): 579-93. <https://doi.org/10.1111/pce.13693>.
- Fagard, Mathilde, Alban Launay, Gilles Clément, Julia Courtial, Alia Dellagi, Mahsa Farjad, Anne Krapp, Marie-Christine Soulié, et Céline Masclaux-Daubresse. 2014. « Nitrogen Metabolism Meets Phytopathology ». *Journal of Experimental Botany* 65 (19): 5643-56. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru323>.
- Fan, Jian-Bo, Ya-Li Zhang, D. Turner, Yin-Hua Duan, Dong-Sheng Wang, et Qi-Rong Shen. 2010. « Root Physiological and Morphological Characteristics of Two Rice Cultivars with Different Nitrogen-Use Efficiency ». *Pedosphere* 20 (4): 446-55. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(10\)60034-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(10)60034-3).
- Fan, Mingsheng, Rongfeng Jiang, Xuejun Liu, Fusuo Zhang, Shihua Lu, Xiangzhong Zeng, et Peter Christie. 2005. « Interactions between Non-Flooded Mulching Cultivation and Varying Nitrogen Inputs in Rice–Wheat Rotations ». *Field Crops Research* 91 (2): 307-18. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.08.006>.
- « FAOSTAT ». Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consulté le 28 mars 2018. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Farjad, Mahsa, Martine Rigault, Stéphanie Pateyron, Marie-Laure Martin-Magniette, Anne Krapp, Christian Meyer, et Mathilde Fagard. 2018. « Nitrogen Limitation Alters the Response of Specific Genes to Biotic Stress ». *International Journal of Molecular Sciences* 19 (11): 3364. <https://doi.org/10.3390/ijms19113364>.
- Fauteux, François, Wilfried Rémus-Borel, James G. Menzies, et Richard R. Bélanger. 2005. « Silicon and Plant Disease Resistance against Pathogenic Fungi ». *FEMS Microbiology Letters* 249 (1): 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.034>.
- Fernandez, Jessie, Margarita Marroquin-Guzman, et Richard A. Wilson. 2014. « Mechanisms of Nutrient Acquisition and Utilization During Fungal Infections of Leaves ». *Annual Review of Phytopathology* 52 (1): 155-74. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-050135>.
- Fernandez, Jessie, et Kim Orth. 2018. « Rise of a Cereal Killer: The Biology of Magnaporthe Oryzae Biotrophic Growth ». *Trends in Microbiology*, janvier. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.12.007>.
- Fernandez, Jessie, Janet D. Wright, David Hartline, Cristian F. Quispe, Nandakumar Madayiputhiya, et Richard A. Wilson. 2012. « Principles of Carbon Catabolite Repression in the Rice Blast Fungus: Tps1, Nmr1-3, and a MATE-Family Pump Regulate Glucose Metabolism during Infection ». *PLOS Genetics* 8 (5): e1002673. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002673>.
- Ferrero, Aldo, et Francesco Vidotto. 2007. *Agro-economical traits of rice cultivation in Europe and India*. Edizioni Mercurio. Vercelli, Italia. <https://iris.unito.it/handle/2318/47829?mode=full.41#>.
- Filippi, M. C., et A. S. Prabhu. 1997. « Integrated Effect of Host Plant Resistance and Fungicidal Seed Treatment on Rice Blast Control in Brazil ». *Plant Disease* 81 (4): 351-55. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.4.351>.

- Fontaine, Jean-Xavier, Catherine Ravel, Karine Pageau, Emmanuel Heumez, Frédéric Dubois, Bertrand Hirel, et Jacques Le Gouis. 2009. « A Quantitative Genetic Study for Elucidating the Contribution of Glutamine Synthetase, Glutamate Dehydrogenase and Other Nitrogen-Related Physiological Traits to the Agronomic Performance of Common Wheat ». *Theoretical and Applied Genetics* 119 (4): 645-62. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1076-4>.
- France AgriMer. 2019. « Le marché du riz Monde, Europe, France ». Rapport Bilian. Données et Bilans Céréales. France AgriMer. <https://www.franceagrimer.fr/content/download/62285/document/Bilan%20riz%202018-19.pdf>.
- Franklin, Keara A. 2009. « Light and Temperature Signal Crosstalk in Plant Development ». *Current Opinion in Plant Biology, Growth and Development*, 12 (1): 63-68. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.09.007>.
- Fu, Jing, Hongbo Liu, Yu Li, Huihui Yu, Xianghua Li, Jinghua Xiao, et Shiping Wang. 2011. « Manipulating Broad-Spectrum Disease Resistance by Suppressing Pathogen-Induced Auxin Accumulation in Rice ». *Plant Physiology* 155 (1): 589-602. <https://doi.org/10.1104/pp.110.163774>.
- Fu, Zhengqing, et Xinnian Dong. 2013. « Systemic Acquired Resistance: Turning Local Infection into Global Defense ». *Annual review of plant biology* 64 (janvier). <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606>.
- Fuertes-Mendizábal, Teresa, Carmen González-Murua, Ma B. González-Moro, et José M. Estavillo. 2012. « Late Nitrogen Fertilization Affects Nitrogen Remobilization in Wheat ». *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175 (1): 115-24. <https://doi.org/10.1002/jpln.201000299>.
- Fujita, Daisuke, Kurniawan Rudi Trijatmiko, Analiza Grubanzo Tagle, Maria Veronica Sapasap, Yohei Koide, Kazuhiro Sasaki, Nikolaos Tsakirpaloglou, et al. 2013. « NAL1 Allele from a Rice Landrace Greatly Increases Yield in Modern Indica Cultivars ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (51): 20431-36. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310790110>.
- Fukuoka, Shuichi, et Kazutoshi Okuno. 2019. « Strategies for Breeding Durable Resistance to Rice Blast Using Pi21 ». *Crop Breeding, Genetics and Genomics* 1 (2). <https://doi.org/10.20900/cbagg20190013>.
- Fukuoka, Shuichi, Shin-Ichi Yamamoto, Ritsuko Mizobuchi, Utako Yamanouchi, Kazuko Ono, Noriyuki Kitazawa, Nobuko Yasuda, et al. 2014. « Multiple Functional Polymorphisms in a Single Disease Resistance Gene in Rice Enhance Durable Resistance to Blast ». *Scientific Reports* 4 (1): 4550. <https://doi.org/10.1038/srep04550>.
- Funayama, Kazuhiro, Soichi Kojima, Mayumi Tabuchi-Kobayashi, Yuki Sawa, Yosuke Nakayama, Toshihiko Hayakawa, et Tomoyuki Yamaya. 2013. « Cytosolic Glutamine Synthetase1;2 Is Responsible for the Primary Assimilation of Ammonium in Rice Roots ». *Plant and Cell Physiology* 54 (6): 934-43. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct046>.
- Gaju, O., V. Allard, P. Martre, J. W. Snape, E. Heumez, J. LeGouis, D. Moreau, et al. 2011. « Identification of Traits to Improve the Nitrogen-Use Efficiency of Wheat Genotypes ». *Field Crops Research* 123 (2): 139-52. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.010>.
- Gaju, Oorbessy, Vincent Allard, Pierre Martre, Jacques Le Gouis, Delphine Moreau, Matthieu Bogard, Stella Hubbart, et M. John Foulkes. 2014. « Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and grain nitrogen concentration in wheat cultivars ». *Field Crops Research* 155 (janvier): 213-23. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.09.003>.
- Gebhardt, Christiane, et Jari P.T. Valkonen. 2001. « Organization of Genes Controlling Disease Resistance in the Potato Genome ». *Annual Review of Phytopathology* 39 (1): 79-102. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.79>.
- Ghosh, B. C., et Ravi Bhat. 1998. « Environmental hazards of nitrogen loading in wetland rice fields ». *Environmental Pollution, Nitrogen, the Confer-N-s First International Nitrogen Conference 1998*, 102 (1, Supplement 1): 123-26. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)80024-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)80024-9).
- Good, Allen G., et Perrin H. Beatty. 2011. « Biotechnological Approaches to Improving Nitrogen Use Efficiency in Plants: Alanine Aminotransferase as a Case Study ». In *The Molecular and Physiological Basis of Nutrient Use Efficiency in Crops*, édité par Malcolm J. Hawkesford et Peter Barraclough, 165-91. Oxford, UK: Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9780470960707.ch9>.

- Goto, Shingo, Fuyuko Sasakura-Shimoda, Mai Suetsugu, Michael Gomez Selvaraj, Nagao Hayashi, Muneo Yamazaki, Manabu Ishitani, et al. 2015. « Development of Disease-Resistant Rice by Optimized Expression of WRKY45 ». *Plant Biotechnology Journal* 13 (6): 753-65. <https://doi.org/10.1111/pbi.12303>.
- Gottstein, Hans D. 1989. « Induction of Systemic Resistance to Anthracnose in Cucumber by Phosphates ». *Phytopathology* 79 (2): 176. <https://doi.org/10.1094/Phyto-79-176>.
- Greene, George H., et Xinnian Dong. 2018. « To Grow and to Defend ». *Science* 361 (6406): 976-77. <https://doi.org/10.1126/science.aau9065>.
- Guindo, D., B. R. Wells, C. E. Wilson, et R. J. Norman. 1992. « Seasonal Accumulation and Partitioning of Nitrogen-15 in Rice ». *Soil Science Society of America Journal* 56 (5): 1521-27. <https://doi.org/10.2136/sssaj1992.03615995005600050031x>.
- Guitman, Maria R., Patricia A. Arnozis, et Atilio J. Barneix. 1991. « Effect of Source-Sink Relations and Nitrogen Nutrition on Senescence and N Remobilization in the Flag Leaf of Wheat ». *Physiologia Plantarum* 82 (2): 278-84. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00094.x>.
- Guntzer, Flore, Catherine Keller, et Jean-Dominique Meunier. 2012. « Benefits of Plant Silicon for Crops: A Review ». *Agronomy for Sustainable Development* 32 (1): 201-13. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0039-8>.
- Guo, Chen, Pengfei Li, Jianwei Lu, Tao Ren, Rihuan Cong, et Xiaokun Li. 2016. « Application of Controlled-Release Urea in Rice: Reducing Environmental Risk While Increasing Grain Yield and Improving Nitrogen Use Efficiency ». *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 47 (9): 1176-83. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1166235>.
- Gupta, Pushpendra K. 2020. « SWEET Genes for Disease Resistance in Plants ». *Trends in Genetics*, septembre. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.08.007>.
- Gutiérrez, Lucia, Silvia Germán, Silvia Pereyra, Patrick M. Hayes, Carlos A. Pérez, Flavio Capettini, Andres Locatelli, et al. 2015. « Multi-Environment Multi-QTL Association Mapping Identifies Disease Resistance QTL in Barley Germplasm from Latin America ». *Theoretical and Applied Genetics* 128 (3): 501-16. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2448-y>.
- Hach, Chu Van, et Nguyen Thi Hong Nam. 2006. « Responses Of Some Promising High-Yielding Rice Varieties To Nitrogen Fertilizer », 14.
- HaiYan, Wei, Zhang HongCheng, Ma Qun, Dai QiGen, Huo ZhongYang, Xu Ke, Zhang Qing, et Huang LiFen. 2010. « Characteristics of leaf senescence in rice genotypes with different nitrogen use efficiencies. » *Acta Agronomica Sinica* 36 (4): 645-54.
- Han, Mei, Mamoru Okamoto, Perrin H. Beatty, Steven J. Rothstein, et Allen G. Good. 2015. « The Genetics of Nitrogen Use Efficiency in Crop Plants ». *Annual Review of Genetics* 49 (1): 269-89. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112414-055037>.
- Haney, Cara H., et Frederick M. Ausubel. 2015. « Plant Microbiome Blueprints ». *Science* 349 (6250): 788-89. <https://doi.org/10.1126/science.aad0092>.
- Harrison, Una J., et H. D. Shew. 2001. « Effects of Soil PH and Nitrogen Fertility on the Population Dynamics of Thielaviopsis Basicola ». *Plant and Soil* 228 (2): 147-55. <https://doi.org/10.1023/A:1004845715885>.
- Hawkesford, Malcolm J. 2017. « Genetic Variation in Traits for Nitrogen Use Efficiency in Wheat ». *Journal of Experimental Botany* 68 (10): 2627-32. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx079>.
- Hawkesford, Malcolm J, et Simon Griffiths. 2019. « Exploiting genetic variation in nitrogen use efficiency for cereal crop improvement ». *Current Opinion in Plant Biology* 49 (juin): 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.05.003>.
- Hayakawa, T., T. Yamaya, T. Mae, et K. Ojima. 1993. « Changes in the Content of Two Glutamate Synthase Proteins in Spikelets of Rice (Oryza Sativa) Plants during Ripening ». *Plant Physiology* 101 (4): 1257-62. <https://doi.org/10.1104/pp.101.4.1257>.
- Hayashi, Hiroaki, et Mitsuo Chino. 1985. « Nitrate and Other Anions in the Rice Phloem Sap », 6.
- Hill, J. E., J. F. Williams, R. G. Mutters, et C. A. Greer. 2006. « The California Rice Cropping System: Agronomic and Natural Resource Issues for Long-Term Sustainability ». *Paddy and Water Environment* 4 (1): 13-19. <https://doi.org/10.1007/s10333-005-0026-2>.
- Hirel, B., et P. Gadal. 1980. « Glutamine Synthetase in Rice: a comparative study of the enzymes from roots and leaves ». *PLANT PHYSIOLOGY* 66 (4): 619-23. <https://doi.org/10.1104/pp.66.4.619>.

- Hirsch, Judith, Sandrine Balzergue, Didier Tharreau, Jean-Loup Nottéghem, Marc-Henri Lebrun, et Jean-Benoit Morel. 2008. « Susceptibility of Rice to the Blast Fungus, Magnaporthe Grisea ». *Journal of Plant Physiology* 165 (1): 114-24. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.013>.
- HongTing, Ji, Feng YueHua, He TengBing, Pan Jian, Fan LeLe, Li Yun, Wu Biao, Xiao Ming, et Liang XianLin. 2012. « A dynamic model of dry matter and nutrient accumulation in super hybrid rice and analysis of its characteristics. » *Scientia Agricultura Sinica* 45 (18): 3709-20.
- Hörtensteiner, Stefan. 2009. « Stay-Green Regulates Chlorophyll and Chlorophyll-Binding Protein Degradation during Senescence ». *Trends in Plant Science* 14 (3): 155-62. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.01.002>.
- Hu, B., Wang Wei, Shujun Ou, Jiuyou Tang, li Hua, Ronghui Che, Zhihua Zhang, et al. 2015. « Variation in NRT1.1B contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies ». *Nature Genetics* 47 (juin): 834-38. <https://doi.org/10.1038/ng.3337>.
- Huang, Huichuan, Thuy Nguyen Thi Thu, Xiahong He, Antoine Gravot, Stéphane Bernillon, Elsa Ballini, et Jean-Benoit Morel. 2017. « Increase of Fungal Pathogenicity and Role of Plant Glutamine in Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS) To Rice Blast ». *Frontiers in Plant Science* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00265>.
- Huang, Weiting, Genxiang Bai, Jie Wang, Wei Zhu, Qisen Zeng, Kai Lu, Shiyong Sun, et Zhongming Fang. 2018. « Two Splicing Variants of OsNPF7.7 Regulate Shoot Branching and Nitrogen Utilization Efficiency in Rice ». *Frontiers in Plant Science* 9: 300. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00300>.
- Hudson, Darryl, David R. Guevara, Andrew J. Hand, Zhenhua Xu, Lixin Hao, Xi Chen, Tong Zhu, Yong-Mei Bi, et Steven J. Rothstein. 2013. « Rice Cytokinin GATA Transcription Factor1 Regulates Chloroplast Development and Plant Architecture ». *Plant Physiology* 162 (1): 132-44. <https://doi.org/10.1104/pp.113.217265>.
- Huot, Bethany, Jian Yao, Beronda L. Montgomery, et Sheng Yang He. 2014. « Growth–Defense Tradeoffs in Plants: A Balancing Act to Optimize Fitness ». *Molecular Plant* 7 (8): 1267-87. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu049>.
- Imai, Kazuhiro, Yuji Suzuki, Tadahiko Mae, et Amane Makino. 2008. « Changes in the Synthesis of Rubisco in Rice Leaves in Relation to Senescence and N Influx ». *Annals of Botany* 101 (1): 135-44. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm270>.
- Islam, Md. Saiful. 2019. « Sensing and Uptake of Nitrogen in Rice Plant: A Molecular View ». *Rice Science* 26 (6): 343-55. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2018.12.007>.
- Ismunadji, M. 1976. « Rice diseases and physiological disorders related to potassium deficiency ». *Proceedings of the 12th Colloquium*, 1976, International Potash Institute édition.
- Iwata, Michiaki. 2001. « Probenazole - a Plant Defence Activator ». *Pesticide Outlook* 12 (1): 28-31. <https://doi.org/10.1039/b100805f>.
- Jain, Priyanka, Pankaj K. Singh, Ritu Kapoor, Apurva Khanna, Amolkumar U. Solanke, S. Gopala Krishnan, Ashok K. Singh, Vinay Sharma, et Tilak R. Sharma. 2017. « Understanding Host-Pathogen Interactions with Expression Profiling of NILs Carrying Rice-Blast Resistance Pi9 Gene ». *Frontiers in Plant Science* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00093>.
- Jambhulkar, Prashant P., Pratibha Sharma, Raja Manokaran, Dilip K. Lakshman, Pramod Rokadia, et Nitiprasad Jambhulkar. 2018. « Assessing Synergism of Combined Applications of Trichoderma Harzianum and Pseudomonas Fluorescens to Control Blast and Bacterial Leaf Blight of Rice ». *European Journal of Plant Pathology* 152 (3): 747-57. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1519-3>.
- Jauset, A. M., M. J. Sarasúa, J. Avilla, et R. Albajes. 2000. « Effect of Nitrogen Fertilization Level Applied to Tomato on the Greenhouse Whitefly ». *Crop Protection* 19 (4): 255-61. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00016-8](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00016-8).
- Jiang, Chang-Jie, Masaki Shimono, Shoji Sugano, Mikiko Kojima, Xinqiong Liu, Haruhiko Inoue, Hitoshi Sakakibara, et Hiroshi Takatsuji. 2013. « Cytokinins Act Synergistically with Salicylic Acid to Activate Defense Gene Expression in Rice ». *Molecular Plant-Microbe Interactions*® 26 (3): 287-96. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-12-0152-R>.



- Jiang, Chang-Jie, Masaki Shimono, Shoji Sugano, Mikiko Kojima, Katsumi Yazawa, Riichiro Yoshida, Haruhiko Inoue, Nagao Hayashi, Hitoshi Sakakibara, et Hiroshi Takatsuji. 2010. « Abscisic Acid Interacts Antagonistically with Salicylic Acid Signaling Pathway in Rice– *Magnaporthe Grisea* Interaction ». *Molecular Plant-Microbe Interactions*® 23 (6): 791-98. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-6-0791>.
- Jiang, Ligeng, Tingbo Dai, Dong Jiang, Weixing Cao, Xiuqin Gan, et Shanqing Wei. 2004. « Characterizing Physiological N-Use Efficiency as Influenced by Nitrogen Management in Three Rice Cultivars ». *Field Crops Research* 88 (2): 239-50. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.01.023>.
- J.M Barbier, et J.C. Mouret. 1992. « La riziculture et la Camargue. H i s t o i re et recherche. » *INRA mensuel* 64/65, 1992.
- Jones, Oliver A. H., Mahon L. Maguire, Julian L. Griffin, Young-Ho Jung, Junko Shibato, Randeep Rakwal, Ganesh K. Agrawal, et Nam-Soo Jwa. 2011. « Using Metabolic Profiling to Assess Plant-Pathogen Interactions: An Example Using Rice (*Oryza Sativa*) and the Blast Pathogen *Magnaporthe Grisea* ». *European Journal of Plant Pathology* 129 (4): 539-54. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9718-6>.
- Kaku, H., Y. Nishizawa, N. Ishii-Minami, C. Akimoto-Tomiyama, N. Dohmae, K. Takio, E. Minami, et N. Shibuya. 2006. « Plant Cells Recognize Chitin Fragments for Defense Signaling through a Plasma Membrane Receptor ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (29): 11086-91. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508882103>.
- Kankanala, Prasanna, Kirk Czymmek, et Barbara Valent. 2007. « Roles for Rice Membrane Dynamics and Plasmodesmata during Biotrophic Invasion by the Blast Fungus ». *The Plant Cell* 19 (2): 706-24. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046300>.
- Karasov, Talia L., Eunyoung Chae, Jacob J. Herman, et Joy Bergelson. 2017. « Mechanisms to Mitigate the Trade-Off between Growth and Defense ». *The Plant Cell* 29 (4): 666-80. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00931>.
- Katsantonis, Dimitrios, Kalliopi KADOGLIDOU, Christos DRAMALIS, et Pau PUIGDOLLERS. 2017. « Rice Blast Forecasting Models and Their Practical Value: A Review ». *Phytopathologia Mediterranea* 56 (2). [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-18706](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-18706).
- Kaur, Amritpreet, Pratap Kumar Pati, Aparna Maitra Pati, et Avinash Kaur Nagpal. 2017. « In-Silico Analysis of Cis-Acting Regulatory Elements of Pathogenesis-Related Proteins of *Arabidopsis Thaliana* and *Oryza Sativa* ». *PLOS ONE* 12 (9): e0184523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184523>.
- Kay, Sabine, Simone Hahn, Eric Marois, Gerd Hause, et Ulla Bonas. 2007. « A Bacterial Effector Acts as a Plant Transcription Factor and Induces a Cell Size Regulator ». *Science* 318 (5850): 648-51. <https://doi.org/10.1126/science.1144956>.
- Ke, Jian, Xiaoming Xing, Ganghua Li, Yanfeng Ding, Fugen Dou, Shaohua Wang, Zhenghui Liu, She Tang, Chengqiang Ding, et Lin Chen. 2017. « Effects of Different Controlled-Release Nitrogen Fertilisers on Ammonia Volatilisation, Nitrogen Use Efficiency and Yield of Blanket-Seedling Machine-Transplanted Rice ». *Field Crops Research* 205 (avril): 147-56. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.12.027>.
- Khush, Gurdev S. 2005. « What It Will Take to Feed 5.0 Billion Rice Consumers in 2030 ». *Plant Molecular Biology* 59 (1): 1-6. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2159-5>.
- Khush, Gurdev S., et K.K. Jena. 2009. « Current Status and Future Prospects for Research on Blast Resistance in Rice (*Oryza Sativa* L.) ». In *Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast Disease*, édité par Guo-Liang Wang et Barbara Valent, 1-10. Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9500-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9500-9_1).
- Kichey, Thomas, Bertrand Hirel, Emmanuel Heumez, Frédéric Dubois, et Jacques Le Gouis. 2007. « In winter wheat (*Triticum aestivum* L.), post-anthesis nitrogen uptake and remobilisation to the grain correlates with agronomic traits and nitrogen physiological markers ». *Field Crops Research* 102 (1): 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.01.002>.
- Kim, Hae Koo, Erik van Oosterom, Michael Dingkuhn, Delphine Luquet, et Graeme Hammer. 2010. « Regulation of Tillering in Sorghum: Environmental Effects ». *Annals of Botany* 106 (1): 57-67. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq079>.

- Kim, Pyeong-Sook, Dong-Min Kim, Ju-Won Kang, Hyun-Sook Lee, et and Sang-Nag Ahn. 2015. « QTL Mapping of Rice Root Traits at Different NH<sub>4</sub><sup>+</sup> Levels in Hydroponic Condition » 3 (3): 244-52. <https://doi.org/10.9787/PBB.2015.3.3.244>.
- Kimura, Norio, et Atsushi Fukuchi. 2018. « MBI-D resistance management of *Pyricularia oryzae* using an application program incorporating benomyl ». *Journal of Pesticide Science* 43 (1): 33-35. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D17-064>.
- Király, L., Y. M. Hafez, J. Fodor, et Z. Király. 2008. « Suppression of tobacco mosaic virus-induced hypersensitive-type necrotization in tobacco at high temperature is associated with downregulation of NADPH oxidase and superoxide and stimulation of dehydroascorbate reductase ». *Journal of General Virology*, 89 (3): 799-808. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83328-0>.
- Kirk, Guy. 2004. *The Biogeochemistry of Submerged Soils*. John Wiley & Sons.
- Kishimoto, Kyutaro, Yusuke Kouzai, Hanae Kaku, Naoto Shibuya, Eiichi Minami, et Yoko Nishizawa. 2010. « Perception of the Chitin Oligosaccharides Contributes to Disease Resistance to Blast Fungus *Magnaporthe Oryzae* in Rice ». *The Plant Journal* 64 (2): 343-54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04328.x>.
- Kissoudis, Christos, Clemens van de Wiel, Richard G. F. Visser, et Gerard van der Linden. 2014. « Enhancing Crop Resilience to Combined Abiotic and Biotic Stress through the Dissection of Physiological and Molecular Crosstalk ». *Frontiers in Plant Science* 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00207>.
- Kliebenstein, Daniel J. 2016. « False Idolatry of the Mythical Growth versus Immunity Tradeoff in Molecular Systems Plant Pathology ». *Physiological and Molecular Plant Pathology*, The U.S.-Japan Scientific Seminar: Molecular Contact Points in Host-Pathogen Co-evolution, 95 (juillet): 55-59. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2016.02.004>.
- Kosgey, J. R., D. J. Moot, A. L. Fletcher, et B. A. McKenzie. 2013. « Dry Matter Accumulation and Post-Silking N Economy of 'Stay-Green' Maize (*Zea Mays* L.) Hybrids ». *European Journal of Agronomy* 51 (novembre): 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.07.001>.
- Kraehmer, Hansjoerg, Cyrille Thomas, et Francesco Vidotto. 2017. « Rice Production in Europe ». In *Rice Production Worldwide*, édité par Bhagirath S. Chauhan, Khawar Jabran, et Gulshan Mahajan, 93-116. Cham: Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-47516-5\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-47516-5_4).
- Krattinger, Simon G., Justine Sucher, Liselotte L. Selter, Harsh Chauhan, Bo Zhou, Mingzhi Tang, Narayana M. Upadhyaya, et al. 2016. « The Wheat Durable, Multipathogen Resistance Gene Lr34 Confers Partial Blast Resistance in Rice ». *Plant Biotechnology Journal* 14 (5): 1261-68. <https://doi.org/10.1111/pbi.12491>.
- Kumar, Anil, Sumit Ghosh, Dharmendra Nath Bhatt, Alka Narula, et Asis Datta. 2016. « *Magnaporthe Oryzae* Aminosugar Metabolism Is Essential for Successful Host Colonization ». *Environmental Microbiology* 18 (3): 1063-77. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13215>.
- Kürschner, E. 1992. Review of *Effects of Nitrogen Timing and Split Application on Blast Disease in Upland Rice*, par J.M Bonman. *Plant Disease* 76 (4): 384-89.
- Ladha, J. K., G. J. D. Kirk, J. Bennett, S. Peng, C. K. Reddy, P. M. Reddy, et U. Singh. 1998. « Opportunities for Increased Nitrogen-Use Efficiency from Improved Lowland Rice Germplasm ». *Field Crops Research*, Nutrient Use Efficiency in Rice Cropping Systems, 56 (1): 41-71. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00123-8).
- Ladha, J. K., A. Tirol-Padre, C. K. Reddy, K. G. Cassman, Sudhir Verma, D. S. Powlson, C. van Kessel, Daniel de B. Richter, Debashis Chakraborty, et Himanshu Pathak. 2016. « Global Nitrogen Budgets in Cereals: A 50-Year Assessment for Maize, Rice and Wheat Production Systems ». *Scientific Reports* 6 (1): 19355. <https://doi.org/10.1038/srep19355>.
- Lafarge, T. A., I. J. Broad, et G. L. Hammer. 2002. « Tillering in Grain Sorghum over a Wide Range of Population Densities: Identification of a Common Hierarchy for Tiller Emergence, Leaf Area Development and Fertility ». *Annals of Botany* 90 (1): 87-98. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf152>.
- Lafarge, Tanguy, et Crisanta S Bueno. 2009. « Higher Crop Performance of Rice Hybrids than of Elite Inbreds in the Tropics: 2. Does Sink Regulation, Rather than Sink Size, Play a Major Role? » *Field Crops Research*, 7.

- Lam, H.-M., K. T. Coschigano, I. C. Oliveira, R. Melo-Oliveira, et G. M. Coruzzi. 1996. « THE MOLECULAR-GENETICS OF NITROGEN ASSIMILATION INTO AMINO ACIDS IN HIGHER PLANTS ». *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47 (1): 569-93. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.569>.
- Lammerts van Bueren, Edith T., et Paul C. Struik. 2017. « Diverse Concepts of Breeding for Nitrogen Use Efficiency. A Review ». *Agronomy for Sustainable Development* 37 (5): 50. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0457-3>.
- Laperche, Anne, Maryse Brancourt-Hulmel, Emmanuel Heumez, Olivier Gardet, Eric Hanocq, Florence Devienne-Barret, et Jacques Le Gouis. 2007. « Using Genotype × Nitrogen Interaction Variables to Evaluate the QTL Involved in Wheat Tolerance to Nitrogen Constraints ». *Theoretical and Applied Genetics* 115 (3): 399-415. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0575-4>.
- Lê Cao, Kim-Anh, Simon Boitard, et Philippe Besse. 2011. « Sparse PLS discriminant analysis: biologically relevant feature selection and graphical displays for multiclass problems ». *BMC Bioinformatics* 12 (1): 253. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-253>.
- Le Gouis, Jacques, Denis Béghin, Emmanuel Heumez, et Pierre Pluchard. 2000. « Genetic Differences for Nitrogen Uptake and Nitrogen Utilisation Efficiencies in Winter Wheat ». *European Journal of Agronomy* 12 (3): 163-73. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(00\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(00)00045-9).
- Lecompte, F., M. A. Abro, et P. C. Nicot. 2010. « Contrasted Responses of Botrytis Cinerea Isolates Developing on Tomato Plants Grown under Different Nitrogen Nutrition Regimes ». *Plant Pathology* 59 (5): 891-99. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02320.x>.
- Lee, Boyoung, Mohamed A. Farag, Hyo Bee Park, Joseph W. Kloepper, Soo Hyun Lee, et Choong-Min Ryu. 2012. « Induced Resistance by a Long-Chain Bacterial Volatile: Elicitation of Plant Systemic Defense by a C13 Volatile Produced by Paenibacillus Polymyxa ». *PLOS ONE* 7 (11): e48744. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048744>.
- Lemmens, Marc, Hermann Buerstmayr, Rudolf Krska, Rainer Schuhmacher, Heinrich Grausgruber, et Peter Ruckebauer. 2004. « The Effect of Inoculation Treatment and Long-Term Application of Moisture on Fusarium Head Blight Symptoms and Deoxynivalenol Contamination in Wheat Grains ». *European Journal of Plant Pathology* 110 (3): 299-308. <https://doi.org/10.1023/B:EJPP.0000019801.89902.2a>.
- Li, Di-qin, Qi-yuan Tang, Yun-bo Zhang, Jian-quan Qin, Hu Li, Li-jun Chen, Sheng-hai Yang, Ying-bin Zou, et Shao-bing Peng. 2012. « Effect of Nitrogen Regimes on Grain Yield, Nitrogen Utilization, Radiation Use Efficiency, and Sheath Blight Disease Intensity in Super Hybrid Rice ». *Journal of Integrative Agriculture* 11 (1): 134-43. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(12\)60791-3](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(12)60791-3).
- Li, Hua, Bin Hu, et Chengcai Chu. 2017. « Nitrogen Use Efficiency in Crops: Lessons from Arabidopsis and Rice ». *Journal of Experimental Botany* 68 (10): 2477-88. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx101>.
- Li, Min, Hongcheng Zhang, Xiong Yang, Mengjie Ge, Qun Ma, Haiyan Wei, Qigen Dai, Zhongyang Huo, Ke Xu, et Deqiang Luo. 2014. « Accumulation and Utilization of Nitrogen, Phosphorus and Potassium of Irrigated Rice Cultivars with High Productivities and High N Use Efficiencies ». *Field Crops Research* 161 (mai): 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.02.007>.
- Li, Weitao, Mawsheng Chern, Junjie Yin, Jing Wang, et Xuwei Chen. 2019. « Recent Advances in Broad-Spectrum Resistance to the Rice Blast Disease ». *Current Opinion in Plant Biology, Biotic interactions*, 50 (août): 114-20. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.03.015>.
- Li, Xinxin, Rensen Zeng, et Hong Liao. 2016. « Improving Crop Nutrient Efficiency through Root Architecture Modifications ». *Journal of Integrative Plant Biology* 58 (3): 193-202. <https://doi.org/10.1111/jipb.12434>.
- Li, Z.-K., L. J. Luo, H. W. Mei, A. H. Paterson, X. H. Zhao, D. B. Zhong, Y. P. Wang, et al. 1999. « A “Defeated” Rice Resistance Gene Acts as a QTL against a Virulent Strain of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae ». *Molecular and General Genetics MGG* 261 (1): 58-63. <https://doi.org/10.1007/s004380050941>.

- Liang, Chengzhen, Yiqin Wang, Yana Zhu, Jiuyou Tang, Bin Hu, Linchuan Liu, Shujun Ou, et al. 2014. « OsNAP Connects Abscisic Acid and Leaf Senescence by Fine-Tuning Abscisic Acid Biosynthesis and Directly Targeting Senescence-Associated Genes in Rice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 (27): 10013-18. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321568111>.
- Liu, Wende, Jinling Liu, Yuese Ning, Bo Ding, Xuli Wang, Zhilong Wang, et Guo-Liang Wang. 2013. « Recent Progress in Understanding PAMP- and Effector-Triggered Immunity against the Rice Blast Fungus Magnaporthe Oryzae ». *Molecular Plant* 6 (3): 605-20. <https://doi.org/10.1093/mp/sst015>.
- Liu, X. J, J. C Wang, S. H Lu, F. S Zhang, X. Z Zeng, Y. W Ai, S. B Peng, et P Christie. 2003. « Effects of Non-Flooded Mulching Cultivation on Crop Yield, Nutrient Uptake and Nutrient Balance in Rice-Wheat Cropping Systems ». *Field Crops Research* 83 (3): 297-311. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00079-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00079-0).
- Loewith, Robbie, et Michael N. Hall. 2011. « Target of Rapamycin (TOR) in Nutrient Signaling and Growth Control ». *Genetics* 189 (4): 1177-1201. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.133363>.
- Loewus, Frank A., et Pushpalatha P. N. Murthy. 2000. « Myo-Inositol Metabolism in Plants ». *Plant Science* 150 (1): 1-19. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00150-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00150-8).
- Long, D. H. 2000. Review of *Effect of Nitrogen Fertilization on Disease Progress of Rice Blast on Susceptible and Resistant Cultivars*, par F. N. Lee et D. O. TeBeest. *Plant Disease* 84 (4): 403-9. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.403>.
- López-Berges, Manuel S., Nicolas Rispail, Rafael C. Prados-Rosales, et Antonio Di Pietro. 2010. « A Nitrogen Response Pathway Regulates Virulence in Plant Pathogenic Fungi: Role of TOR and the BZIP Protein MeaB ». *Plant Signaling & Behavior* 5 (12): 1623-25. <https://doi.org/10.4161/psb.5.12.13729>.
- Loyce, C., J. M. Meynard, C. Bouchard, B. Rolland, P. Lonnet, P. Bataillon, M. H. Bernicot, et al. 2008. « Interaction between Cultivar and Crop Management Effects on Winter Wheat Diseases, Lodging, and Yield ». *Crop Protection* 27 (7): 1131-42. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.02.001>.
- Luquet, Delphine, Michael Dingkuhn, HaeKoo Kim, Ludovic Tambour, et Anne Clement-Vidal. 2006. « EcoMeristem, a Model of Morphogenesis and Competition among Sinks in Rice. 1. Concept, Validation and Sensitivity Analysis ». *Functional Plant Biology* 33 (4): 309-23. <https://doi.org/10.1071/FP05266>.
- Ma, Jian Feng, et Eiichi Takahashi. 2002. *Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan*. Elsevier.
- Madhavan, S., V. Paranidharan, A. Erban, A. M. Al-Sadi, J. Kopka, et R. Velazhahan. 2019. « The Metabolic Response of Suspension-Cultured Cells from Blast-Resistant and -Susceptible Rice (*Oryza Sativa* L.) Genotypes to a *Pyricularia Oryzae* Elicitor ». *Indian Phytopathology* 72 (2): 195-202. <https://doi.org/10.1007/s42360-019-00131-y>.
- Madhusudhan, P., P. Sinha, L. S. Rajput, M. Bhattacharya, Taru Sharma, V. Bhuvaneshwari, Kishore Gaikwad, S. Gopala Krishnan, et A. K. Singh. 2019. « Effect of Temperature on Pi54-Mediated Leaf Blast Resistance in Rice ». *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 35 (10): 148. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2724-8>.
- Maekawa, Shugo, Takeo Sato, Yutaka Asada, Shigetaka Yasuda, Midori Yoshida, Yukako Chiba, et Junji Yamaguchi. 2012. « The Arabidopsis Ubiquitin Ligases ATL31 and ATL6 Control the Defense Response as Well as the Carbon/Nitrogen Response ». *Plant Molecular Biology* 79 (3): 217-27. <https://doi.org/10.1007/s11103-012-9907-0>.
- Maheshwari, Rohini, et Indu Rani Sharma. 2013. « International Journal of Pure & Applied Bioscience Soil Status in Relation to Blast Disease in Bundi District of Rajasthan, INDIA », 7.
- Makino, Amame. 2011. « Photosynthesis, Grain Yield, and Nitrogen Utilization in Rice and Wheat ». *Plant Physiology* 155 (1): 125-29. <https://doi.org/10.1104/pp.110.165076>.
- Malinovskiy, Frederikke G., Jonatan U. Fangel, et William G. T. Willats. 2014. « The Role of the Cell Wall in Plant Immunity ». *Frontiers in Plant Science* 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00178>.
- Manandhar, H. K., H. J. Lyngs Jørgensen, S. B. Mathur, et V. Smedegaard-Petersen. 1998. « Resistance to Rice Blast Induced by Ferric Chloride, Di-Potassium Hydrogen Phosphate and Salicylic Acid ». *Crop Protection* 17 (4): 323-29. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(98\)00020-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00020-9).

- Martin, Antoine, Judy Lee, Thomas Kichey, Denise Gerentes, Michel Zivy, Christophe Tatout, Frédéric Dubois, et al. 2006. « Two Cytosolic Glutamine Synthetase Isoforms of Maize Are Specifically Involved in the Control of Grain Production ». *The Plant Cell* 18 (11): 3252-74. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.042689>.
- Masclaux-Daubresse, Céline, Françoise Daniel-Vedele, Julie Dechorgnat, Fabien Chardon, Laure Gaufichon, et Akira Suzuki. 2010. « Nitrogen Uptake, Assimilation and Remobilization in Plants: Challenges for Sustainable and Productive Agriculture ». *Annals of Botany* 105 (7): 1141-57. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq028>.
- Mathevet, Raphaël, Jean-Claude Mouret, et François Mesléard. 2002. « originalité et dépendances de la riziculture camarguaise », 8.
- Matsuyama, Nobuaki. 1975. « The Effect of Ample Nitrogen Fertilizer on Cell-Wall Materials and Its Significance to Rice Blast Disease ». *Japanese Journal of Phytopathology* 41 (1): 56-61. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.41.56>.
- Mauch-Mani, Brigitte, Ivan Baccelli, Estrella Luna, et Victor Flors. 2017. « Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance ». *Annual Review of Plant Biology* 68 (1): 485-512. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-041132>.
- McClung, C. Robertson, et Seth J. Davis. 2010. « Ambient Thermometers in Plants: From Physiological Outputs towards Mechanisms of Thermal Sensing ». *Current Biology* 20 (24): R1086-92. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.10.035>.
- McSteen, Paula. 2009. « Hormonal Regulation of Branching in Grasses ». *Plant Physiology* 149 (1): 46-55. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129056>.
- Meena, V. D., M. L. Dotaniya, Vassanda Coumar, S. Rajendiran, Ajay, S. Kundu, et A. Subba Rao. 2014. « A Case for Silicon Fertilization to Improve Crop Yields in Tropical Soils ». *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* 84 (3): 505-18. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0270-y>.
- Melotto, Maeli, William Underwood, Jessica Koczan, Kinya Nomura, et Sheng Yang He. 2006. « Plant Stomata Function in Innate Immunity against Bacterial Invasion ». *Cell* 126 (5): 969-80. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.054>.
- Meng, Qingfeng, Ravi Gupta, Cheol Woo Min, Soon Wook Kwon, Yiming Wang, Byoung Il Je, Yu-Jin Kim, et al. 2019. « Proteomics of Rice—Magnaporthe oryzae Interaction: What Have We Learned So Far? » *Frontiers in Plant Science* 10 (octobre). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01383>.
- Mentlak, Thomas A., Nicholas J. Talbot, et Thomas Kroj. 2011. « Effector Translocation and Delivery by the Rice Blast Fungus Magnaporthe Oryzae ». In *Effectors in Plant-Microbe Interactions*, 219-41. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119949138.ch9>.
- Merewitz, Emily B., Hongmei Du, Wenjuan Yu, Yimin Liu, Thomas Gianfagna, et Bingru Huang. 2012. « Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation ». *Journal of Experimental Botany* 63 (3): 1315-28. <https://doi.org/10.1093/jxb/err372>.
- Mi, Guohua, Li Tang, Fusuo Zhang, et Jianhua Zhang. 2000. « Is Nitrogen Uptake after Anthesis in Wheat Regulated by Sink Size? » *Field Crops Research* 68 (3): 183-90. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00119-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00119-2).
- Miah, G, M Y Rafii, M R Ismail, M Sahebi, F S G Hashemi, O Yusuff, et M G Usman. 2017. « Blast disease intimidation towards rice cultivation: a review of pathogen and strategies to control », 10.
- Miller, Gad, Vladimir Shulaev, et Ron Mittler. 2008. « Reactive Oxygen Signaling and Abiotic Stress ». *Physiologia Plantarum* 133 (3): 481-89. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01090.x>.
- Miranda, Mariane Silva de, Marina Leite Fonseca, Alexandre Lima, Tatiane Faustino de Moraes, et Flávio Aparecido Rodrigues. 2015. « Environmental Impacts of Rice Cultivation ». *American Journal of Plant Sciences* 06 (12): 2009-18. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.612201>.
- Mitchell, Anne F., et Dale R. Walters. 2004. « Potassium Phosphate Induces Systemic Protection in Barley to Powdery Mildew Infection ». *Pest Management Science* 60 (2): 126-34. <https://doi.org/10.1002/ps.795>.

- Mittelstraß, K., D. Treutter, M. Pleßl, W. Heller, E. F. Elstner, et I. Heiser. 2006. « Modification of Primary and Secondary Metabolism of Potato Plants by Nitrogen Application Differentially Affects Resistance to *Phytophthora Infestans* and *Alternaria Solani* ». *Plant Biology* 8 (5): 653-61. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924085>.
- Modolo, Luzia V., Ohara Augusto, Irene M. G. Almeida, Jose R. Magalhaes, et Ione Salgado. 2005. « Nitrite as the Major Source of Nitric Oxide Production by *Arabidopsis Thaliana* in Response to *Pseudomonas Syringae* ». *FEBS Letters* 579 (17): 3814-20. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.05.078>.
- Modolo, Luzia V., Ohara Augusto, Irene M. G. Almeida, Cecília A. F. Pinto-Maglio, Halley C. Oliveira, Kelly Seligman, et Ione Salgado. 2006. « Decreased Arginine and Nitrite Levels in Nitrate Reductase-Deficient *Arabidopsis Thaliana* Plants Impair Nitric Oxide Synthesis and the Hypersensitive Response to *Pseudomonas Syringae* ». *Plant Science* 171 (1): 34-40. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.02.010>.
- Monostori, István, Fruzsina Szira, Alessandro Tondelli, Tamás Árendás, Krisztián Gierczik, Luigi Cattivelli, Gábor Galiba, et Attila Vágújfalvi. 2017. « Genome-Wide Association Study and Genetic Diversity Analysis on Nitrogen Use Efficiency in a Central European Winter Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Collection ». *PLOS ONE* 12 (12): e0189265. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189265>.
- Morkunas, Iwona, et Lech Ratajczak. 2014. « The Role of Sugar Signaling in Plant Defense Responses against Fungal Pathogens ». *Acta Physiologiae Plantarum* 36 (7): 1607-19. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1559-z>.
- Mouret, Jean-Claude, et Bernadette Leclerc. 2017. « Le Riz et la Camargue : Vers des Agrosystèmes Durables », 510.
- Moury, Benoît, Kahsay Gebre Selassie, Georges Marchoux, Anne-Marie Daubèze, et Alain Palloix. 1998. « High Temperature Effects on Hypersensitive Resistance to Tomato Spotted Wilt Tospovirus (TSWV) in Pepper (*Capsicum Chinense* Jacq.) ». *European Journal of Plant Pathology* 104 (5): 489-98. <https://doi.org/10.1023/A:1008618022144>.
- Mu, Xiaohuan, Qinwu Chen, Fanjun Chen, Lixing Yuan, et Guohua Mi. 2016. « Within-Leaf Nitrogen Allocation in Adaptation to Low Nitrogen Supply in Maize during Grain-Filling Stage ». *Frontiers in Plant Science* 7 (mai). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00699>.
- Mukherjee, Arup, N. Mohapatra, A. Rao, et Parsuram Nayak. 2005. « Effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-blasting resistance in rice ». *The Journal of Agricultural Science* 143 (septembre): 385-93. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005551>.
- Mundt, Christopher C. 2014. « Durable Resistance: A Key to Sustainable Management of Pathogens and Pests ». *Infection, Genetics and Evolution* 27 (octobre): 446-55. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.01.011>.
- Mur, Luis A. J., Aprajita Kumari, Yariv Brotman, Jurgen Zeier, Julien Mandon, Simona M. Cristescu, Frans Harren, Werner M. Kaiser, Alisdair R. Fernie, et Kapuganti Jagadis Gupta. 2019. « Nitrite and Nitric Oxide Are Important in the Adjustment of Primary Metabolism during the Hypersensitive Response in Tobacco ». *Journal of Experimental Botany* 70 (17): 4571-82. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz161>.
- Mutters, Randall G., Christopher A. Greer, et William R. Horwath. 2010. *Rice Nutrient Management in California*. UCANR Publications.
- Namai, Sachiko, Kazunobu Toriyama, et Yoshimichi Fukuta. 2009. « Genetic variations in dry matter production and physiological nitrogen use efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) varieties ». [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsbbs/59/3/59\\_3\\_269/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsbbs/59/3/59_3_269/_pdf/-char/ja).
- Neumann, S., N. D. Paveley, F. D. Beed, et R. Sylvester-Bradley. 2004. « Nitrogen per Unit Leaf Area Affects the Upper Asymptote of *Puccinia Striiformis* f.Sp. *Tritici* Epidemics in Winter Wheat ». *Plant Pathology* 53 (6): 725-32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2004.01107.x>.
- Nguyen, T. T. T., S. Koizumi, T. N. La, K. S. Zenbayashi, T. Ashizawa, N. Yasuda, I. Imazaki, et A. Miyasaka. 2006. « Pi35(t), a New Gene Conferring Partial Resistance to Leaf Blast in the Rice Cultivar Hokkai 188 ». *Theoretical and Applied Genetics* 113 (4): 697-704. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0337-8>.

- Nobori, Tatsuya, et Kenichi Tsuda. 2019. « The Plant Immune System in Heterogeneous Environments ». *Current Opinion in Plant Biology*, Biotic interactions, 50 (août): 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.02.003>.
- Ntanos, D. A, et S. D Koutroubas. 2002. « Dry Matter and N Accumulation and Translocation for Indica and Japonica Rice under Mediterranean Conditions ». *Field Crops Research* 74 (1): 93-101. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(01\)00203-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00203-9).
- Obara, Mitsuhiro, Tadashi Sato, et Tomoyuki Yamaya. 2000. « High Content of Cytosolic Glutamine Synthetase Does Not Accompany a High Activity of the Enzyme in Rice (*Oryza Sativa*) Leaves of Indica Cultivars ». *Physiologia Plantarum* 108 (1): 11-18. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.108001011.x>.
- Ogawa, Masaomi, Atsushi Kadowaki, Tomoya Yamada, et Orié Kadooka. s. d. « Applied Development of a Novel Fungicide Isotianil (Stout®) », 16.
- Ogawa, Satoshi, Michael Gomez Selvaraj, Angela Joseph Fernando, Mathias Lorieux, Manabu Ishitani, Susan McCouch, et Juan David Arbelaez. 2014. « N- and P-Mediated Seminal Root Elongation Response in Rice Seedlings ». *Plant and Soil* 375 (1-2): 303-15. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1955-y>.
- Ogawa, Satoshi, Milton Orlando Valencia, Manabu Ishitani, et Michael Gomez Selvaraj. 2014. « Root System Architecture Variation in Response to Different NH<sub>4</sub> + Concentrations and Its Association with Nitrogen-Deficient Tolerance Traits in Rice ». *Acta Physiologiae Plantarum* 36 (9): 2361-72. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1609-6>.
- Olesen, J.E. 2003. Review of *Effects of rates and timing of nitrogen fertilizer on disease control by fungicides in winter wheat. 2. Crop growth and disease development*, par Lise Jørgensen, J. PETERSEN, et J. MORTENSEN. *The Journal of Agricultural Science* 140 (février): 15-29. <https://doi.org/10.1017/S0021859602002897>.
- Oliva, Ricardo, et Ian Lorenzo Quibod. 2017. « Immunity and Starvation: New Opportunities to Elevate Disease Resistance in Crops ». *Current Opinion in Plant Biology* 38 (août): 84-91. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.020>.
- Oliveira, Lillian Matias de, Enio Marchesan, Ricardo de David, Isabel Schlegel Werle, Bruno Behenck Aramburu, Gabriel Donato, Anelise Lencina da Silva, et al. 2019. « Occurrence of Rice Blast on and Grain Quality of Irrigated Rice Fertilized with Nitrogen and Silicates ». *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 54. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00295>.
- Orober, Miroslav, Jürgen Siegrist, et Heinrich Buchenauer. 2002. « Mechanisms of Phosphate-Induced Disease Resistance in Cucumber ». *European Journal of Plant Pathology* 108 (4): 345-53. <https://doi.org/10.1023/A:1015696408402>.
- Orozco-Mosqueda, Ma del Carmen, Ma del Carmen Rocha-Granados, Bernard R. Glick, et Gustavo Santoyo. 2018. « Microbiome Engineering to Improve Biocontrol and Plant Growth-Promoting Mechanisms ». *Microbiological Research* 208 (mars): 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>.
- Ospina, C. A., E. T. Lammerts van Bueren, J. J. H. M. Allefs, B. Engel, P. E. L. van der Putten, C. G. van der Linden, et P. C. Struik. 2014. « Diversity of Crop Development Traits and Nitrogen Use Efficiency among Potato Cultivars Grown under Contrasting Nitrogen Regimes ». *Euphytica* 199 (1): 13-29. <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1203-4>.
- Otani, Yoshio. 1959. « Studies on the relation between the principal components of rice plant and its susceptibility to the blast disease and on the physiological characters of the blast fungus ». *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University*= 北海道大學農學部紀要 51 (1): 1-179.
- Parisy, V., B. Poinssot, L. Owsianowski, A. Buchala, J. Glazebrook, et F. Mauch. 2007. « Identification of PAD2 as a  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase highlights the importance of glutathione in disease resistance of Arabidopsis ». *Plant Journal* 49 (1): 159-72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02938.x>.
- Parker, David, Manfred Beckmann, Hassan Zubair, David P. Enot, Zaira Caracuel-Rios, David P. Overy, Stuart Snowdon, Nicholas J. Talbot, et John Draper. 2009. « Metabolomic Analysis Reveals a Common Pattern of Metabolic Re-Programming during Invasion of Three Host Plant Species by Magnaporthe Grisea ». *The Plant Journal* 59 (5): 723-37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03912.x>.

- Patkar, Rajesh N., Peter I. Benke, Ziwei Qu, Yuan Yi Constance Chen, Fan Yang, Sanjay Swarup, et Naweed I. Naqvi. 2015. « A Fungal Monoxygenase-Derived Jasmonate Attenuates Host Innate Immunity ». *Nature Chemical Biology* 11 (9): 733-40. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1885>.
- Peleg, Zvi, Maria Reguera, Ellen Tumimbang, Harkamal Walia, et Eduardo Blumwald. 2011. « Cytokinin-Mediated Source/Sink Modifications Improve Drought Tolerance and Increase Grain Yield in Rice under Water-Stress ». *Plant Biotechnology Journal* 9 (7): 747-58. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00584.x>.
- Pellier, Anne-Laure, Richard Laugé, Claire Veneault-Fourrey, et Thierry Langin. 2003. « CLNR1, the AREA/NIT2-like Global Nitrogen Regulator of the Plant Fungal Pathogen *Colletotrichum Lindemuthianum* Is Required for the Infection Cycle ». *Molecular Microbiology* 48 (3): 639-55. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03451.x>.
- Penfield, Steven. 2008. « Temperature Perception and Signal Transduction in Plants ». *New Phytologist* 179 (3): 615-28. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02478.x>.
- Pérez-García, Alejandro, Sandor S. Snoeijers, Matthieu H. A. J. Joosten, Theo Goosen, et Pierre J. G. M. De Wit. 2001. « Expression of the Avirulence Gene Avr9 of the Fungal Tomato Pathogen *Cladosporium fulvum* Is Regulated by the Global Nitrogen Response Factor NRF1 ». *Molecular Plant-Microbe Interactions*® 14 (3): 316-25. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.3.316>.
- Plavcová, Lenka, Uwe G. Hacke, Adriana M. Almeida-Rodriguez, Eryang Li, et Carl J. Douglas. 2013. « Gene Expression Patterns Underlying Changes in Xylem Structure and Function in Response to Increased Nitrogen Availability in Hybrid Poplar ». *Plant, Cell & Environment* 36 (1): 186-99. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02566.x>.
- Poland, Jesse A., Peter J. Balint-Kurti, Randall J. Wisser, Richard C. Pratt, et Rebecca J. Nelson. 2009. « Shades of Gray: The World of Quantitative Disease Resistance ». *Trends in Plant Science* 14 (1): 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.006>.
- Prasch, Christian M., et Uwe Sonnewald. 2015. « Signaling Events in Plants: Stress Factors in Combination Change the Picture ». *Environmental and Experimental Botany*, Plant signalling mechanisms in response to the environment, 114 (juin): 4-14. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.020>.
- Priya, Himani, Radha Prasanna, Balasubramanian Ramakrishnan, Ngangom Bidyarani, Santosh Babu, Shobit Thapa, et Nirmal Renuka. 2015. « Influence of Cyanobacterial Inoculation on the Culturable Microbiome and Growth of Rice ». *Microbiological Research* 171 (février): 78-89. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.12.011>.
- Qiao, Jun. 2012. « Nitrogen Fertilizer Reduction in Rice Production for Two Consecutive Years in the Taihu Lake Area ». *Agriculture, Ecosystems & Environment* 146 (1): 103-12. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.10.014>.
- Quraishi, Umar Masood, Michael Abrouk, Florent Murat, Caroline Pont, Séverine Foucrier, Gregory Desmaizieres, Carole Confolent, et al. 2011. « Cross-Genome Map Based Dissection of a Nitrogen Use Efficiency Ortho-MetaQTL in Bread Wheat Unravels Concerted Cereal Genome Evolution: Concerted Genome Evolution of a NUE MetaQTL in Cereals ». *The Plant Journal* 65 (5): 745-56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04461.x>.
- Raboin, L. M., A. Ramanantsoanirina, J. Dusserre, F. Razasolofonahary, D. Tharreau, C. Lannou, et M. Sester. 2012. « Two-Component Cultivar Mixtures Reduce Rice Blast Epidemics in an Upland Agrosystem ». *Plant Pathology* 61 (6): 1103-11. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02602.x>.
- Raj, R., et P. P. S. Pannu. 2017. « Management Of Rice Blast With Different Fungicides And Potassium Silicate Under In Vitro And In Vivo Conditions ». *Journal of Plant Pathology* 99 (3): 707-12. <https://doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3993>.
- Ramegowda, Venkategowda, Muthappa Senthil-Kumar, Yasuhiro Ishiga, Amita Kaundal, Makarla Udayakumar, et Kirankumar S. Mysore. 2013. « Drought Stress Acclimation Imparts Tolerance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Pseudomonas syringae* in *Nicotiana benthamiana* ». *International Journal of Molecular Sciences* 14 (5): 9497-9513. <https://doi.org/10.3390/ijms14059497>.



- Raun, William R., John B. Solie, Gordon V. Johnson, Marvin L. Stone, Robert W. Mullen, Kyle W. Freeman, Wade E. Thomason, et Erna V. Lukina. 2002. « Improving Nitrogen Use Efficiency in Cereal Grain Production with Optical Sensing and Variable Rate Application ». *Agronomy Journal* 94 (4): 815. <https://doi.org/10.2134/agronj2002.0815>.
- Raychaudhuri, A. 2015. « Alanine Aminotransferase: Amino Acid Metabolism in Higher Plants. » In *Amino Acids in Higher Plants*, édité par J. P. F. D'Mello, 30-56. Wallingford: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780642635.0030>.
- Reuveni, M., et R. Reuveni. 1995. « Efficacy of Foliar Sprays of Phosphates in Controlling Powdery Mildews in Field-Grown Nectarine, Mango Trees and Grapevines ». *Crop Protection* 14 (4): 311-14. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(94\)00009-W](https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)00009-W).
- Robert-Seilaniantz, Alexandre, Lionel Navarro, Rajendra Bari, et Jonathan DG Jones. 2007. « Pathological Hormone Imbalances ». *Current Opinion in Plant Biology*, Special Issue on Biotic Interactions, 10 (4): 372-79. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.06.003>.
- Robertson, G. Philip, et Peter M. Vitousek. 2009. « Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource ». *Annual Review of Environment and Resources* 34 (1): 97-125. <https://doi.org/10.1146/annurev.enviro.032108.105046>.
- Roche, Jessica, Matthew H. Turnbull, Qianqian Guo, Ondřej Novák, Jana Späth, Steven P. Gieseg, Paula E. Jameson, et Jonathan Love. 2017. « Coordinated nitrogen and carbon remobilization for nitrate assimilation in leaf, sheath and root and associated cytokinin signals during early regrowth of *Lolium perenne* ». *Annals of Botany* 119 (8): 1353-64. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx014>.
- Rodrigues, Fabrício A., David J. McNally, Lawrence E. Datnoff, Jeffrey B. Jones, Caroline Labbé, Nicole Benhamou, James G. Menzies, et Richard R. Bélanger. 2004. « Silicon Enhances the Accumulation of Diterpenoid Phytoalexins in Rice: A Potential Mechanism for Blast Resistance ». *Phytopathology*® 94 (2): 177-83. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.2.177>.
- Roetschi, Alexandra, Azeddine Si-Ammour, Lassaâd Belbahri, Felix Mauch, et Brigitte Mauch-Mani. 2001. « Characterization of an Arabidopsis–Phytophthora Pathosystem: Resistance Requires a Functional PAD2 Gene and Is Independent of Salicylic Acid, Ethylene and Jasmonic Acid Signalling ». *The Plant Journal* 28 (3): 293-305. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01148.x>.
- Rojas, Clemencia M., Muthappa Senthil-Kumar, Vered Tzin, et Kirankumar Mysore. 2014. « Regulation of Primary Plant Metabolism during Plant-Pathogen Interactions and Its Contribution to Plant Defense ». *Frontiers in Plant Science* 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00017>.
- Ross, Christian A., Yue Liu, et Qingxi J. Shen. 2007. « The WRKY Gene Family in Rice (*Oryza Sativa*) ». *Journal of Integrative Plant Biology* 49 (6): 827-42. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00504.x>.
- Roux, Fabrice, Derry Voisin, Thomas Badet, Claudine Balagué, Xavier Barlet, Carine Huard-Chauveau, Dominique Roby, et Sylvain Raffaele. 2014. « Resistance to phytopathogens e tutti quanti: placing plant quantitative disease resistance on the map ». *Molecular Plant Pathology* 15 (5): 427-32. <https://doi.org/10.1111/mpp.12138>.
- Rubio, Vicente, Regla Bustos, María Luisa Irigoyen, Ximena Cardona-López, Mónica Rojas-Triana, et Javier Paz-Ares. 2008. « Plant Hormones and Nutrient Signaling ». *Plant Molecular Biology* 69 (4): 361. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9380-y>.
- Ruffel, Sandrine, Arthur Poitout, Gabriel Krouk, Gloria M. Coruzzi, et Benoit Lacombe. 2016. « Long-Distance Nitrate Signaling Displays Cytokinin Dependent and Independent Branches ». *Journal of Integrative Plant Biology* 58 (3): 226-29. <https://doi.org/10.1111/jipb.12453>.
- Ryu, Choong-Min, Mohamed A. Farag, Chia-Hui Hu, Munagala S. Reddy, Han-Xun Wei, Paul W. Paré, et Joseph W. Kloepper. 2003. « Bacterial Volatiles Promote Growth in Arabidopsis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (8): 4927-32. <https://doi.org/10.1073/pnas.0730845100>.
- Saijo, Yusuke, et Eliza Po-ian Loo. 2020. « Plant Immunity in Signal Integration between Biotic and Abiotic Stress Responses ». *New Phytologist* 225 (1): 87-104. <https://doi.org/10.1111/nph.15989>.

- Sakakibara, Hitoshi, Kentaro Takei, et Naoya Hirose. 2006. « Interactions between Nitrogen and Cytokinin in the Regulation of Metabolism and Development ». *Trends in Plant Science* 11 (9): 440-48. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.07.004>.
- Samonte, Stanley Omar PB, Lloyd T. Wilson, James C. Medley, Shannon R. M. Pinson, Anna M. McClung, et Joveno S. Lales. 2006. « Nitrogen Utilization Efficiency: Relationships with Grain Yield, Grain Protein, and Yield-Related Traits in Rice ». *Agronomy Journal* 98 (1): 168-76. <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0180>.
- Savant, Narayan K., Lawrence E. Datnoff, et George H. Snyder. 1997. « Depletion of plant-available silicon in soils: A possible cause of declining rice yields ». *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 28 (13-14): 1245-52. <https://doi.org/10.1080/00103629709369870>.
- Scalschi, Loredana, Maite Sanmartín, Gemma Camañes, Pilar Troncho, José J. Sánchez-Serrano, Pilar García-Agustín, et Begonya Vicedo. 2015. « Silencing of OPR3 in Tomato Reveals the Role of OPDA in Callose Deposition during the Activation of Defense Responses against *Botrytis Cinerea* ». *The Plant Journal* 81 (2): 304-15. <https://doi.org/10.1111/tpj.12728>.
- Schnug, E. 1997. « Significance of Sulphur for the Quality of Domesticated Plants ». *Sulphur Metabolism in Higher Plants: Molecular, Ecophysiological and Nutritional Aspects*. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302885311>.
- Seebold, K. W., L. E. Datnoff, F. J. Correa-Victoria, T. A. Kucharek, et G. H. Snyder. 2000. « Effect of Silicon Rate and Host Resistance on Blast, Scald, and Yield of Upland Rice ». *Plant Disease* 84 (8): 871-76. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.8.871>.
- Seifi, Hamed Soren, Jonas Van Bockhaven, Geert Angenon, et Monica Höfte. 2013. « Glutamate Metabolism in Plant Disease and Defense: Friend or Foe? ». *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26 (5): 475-85. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-12-0176-CR>.
- Selvaraj Michael Gomez, Valencia Milton Orlando, Ogawa Satoshi, Lu Yingzhi, Wu Liying, Downs Christopher, Skinner Wayne, et al. 2017. « Development and field performance of nitrogen use efficient rice lines for Africa ». *Plant Biotechnology Journal* 15 (6): 775-87. <https://doi.org/10.1111/pbi.12675>.
- Sester M., Raveloson H., Tharreau D., et Dusserre J. 2014. « Conservation agriculture cropping system to limit blast disease in upland rainfed rice ». *Plant Pathology* 63 (2): 373-81. <https://doi.org/10.1111/ppa.12099>.
- Shewry, Peter R., et Nigel G. Halford. 2002. « Cereal Seed Storage Proteins: Structures, Properties and Role in Grain Utilization ». *Journal of Experimental Botany* 53 (370): 947-58. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.947>.
- Shi, Shaohua, Lei Tian, Fahad Nasir, Xiujun Li, Weiqiang Li, Lam-Son Phan Tran, et Chunjie Tian. 2018. « Impact of Domestication on the Evolution of Rhizomicrobiome of Rice in Response to the Presence of *Magnaporthe Oryzae* ». *Plant Physiology and Biochemistry* 132 (novembre): 156-65. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.08.023>.
- Shi, Xuetao, Yu Long, Feng He, Chongyang Zhang, Ruyi Wang, Ting Zhang, Wei Wu, et al. 2018. « The Fungal Pathogen *Magnaporthe Oryzae* Suppresses Innate Immunity by Modulating a Host Potassium Channel ». Édité par Yuanchao Wang. *PLOS Pathogens* 14 (1): e1006878. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006878>.
- Shimono, Masaki, Shoji Sugano, Akira Nakayama, Chang-Jie Jiang, Kazuko Ono, Seiichi Toki, et Hiroshi Takatsuji. 2007. « Rice WRKY45 Plays a Crucial Role in Benzothiadiazole-Inducible Blast Resistance ». *The Plant Cell* 19 (6): 2064-76. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046250>.
- Shrawat, Ashok K., Rebecka T. Carroll, Mary DePauw, Gregory J. Taylor, et Allen G. Good. 2008. « Genetic Engineering of Improved Nitrogen Use Efficiency in Rice by the Tissue-Specific Expression of Alanine Aminotransferase ». *Plant Biotechnology Journal* 6 (7): 722-32. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2008.00351.x>.
- Simpson, J. R., J. R. Freney, R. Wetselaar, W. A. Muirhead, R. Leuning, et O. T. Denmead. 1984. « Transformations and Losses of Urea Nitrogen after Application to Flooded Rice ». *Australian Journal of Agricultural Research* 35 (2): 189-200. <https://doi.org/10.1071/ar9840189>.
- Smith, Millicent R., Idupulapati M. Rao, et Andrew Merchant. 2018. « Source-Sink Relationships in Crop Plants and Their Influence on Yield Development and Nutritional Quality ». *Frontiers in Plant Science* 9 (décembre). <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01889>.

- Snoeijers, Sandor S, et Alejandro Perez-Garcia. 2000. « The Effect of Nitrogen on Disease Development and Gene Expression in Bacterial and Fungal Plant Pathogens », 14.
- Solomon, Peter S., et Richard P. Oliver. 2002. « Evidence That  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Is a Major Nitrogen Source during *Cladosporium Fulvum* Infection of Tomato ». *Planta* 214 (3): 414-20. <https://doi.org/10.1007/s004250100632>.
- Solomon, Peter S., Kar-Chun Tan, et Richard P. Oliver. 2003. « The Nutrient Supply of Pathogenic Fungi; a Fertile Field for Study ». *Molecular Plant Pathology* 4 (3): 203-10. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00161.x>.
- Sonoda, Yutaka, Akira Ikeda, Satomi Saiki, Nicolaus von Wirén, Tomoyuki Yamaya, et Junji Yamaguchi. 2003. « Distinct Expression and Function of Three Ammonium Transporter Genes (OsAMT1;1 – 1;3) in Rice ». *Plant and Cell Physiology* 44 (7): 726-34. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcg083>.
- Sun, Liting, Yihua Wang, Ling-long Liu, Chunming Wang, Ting Gan, Zhengyao Zhang, Yunlong Wang, et al. 2017. « Isolation and Characterization of a *Spotted Leaf 32* Mutant with Early Leaf Senescence and Enhanced Defense Response in Rice ». *Scientific Reports* 7 (janvier): 41846. <https://doi.org/10.1038/srep41846>.
- Sun, Yongjian, Jun Ma, Yuanyuan Sun, Hui Xu, Zhiyuan Yang, Shujin Liu, Xianwen Jia, et Hongzhen Zheng. 2012. « The Effects of Different Water and Nitrogen Managements on Yield and Nitrogen Use Efficiency in Hybrid Rice of China ». *Field Crops Research* 127 (février): 85-98. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.11.015>.
- Sun, Yuming, et Min Wang. 2020. « Unravelling the Roles of Nitrogen Nutrition in Plant Disease Defences ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (2). <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/2/572/htm>.
- Suzuki, Akira, Jean Vidal, et Pierre Gadal. 1982. « Glutamate Synthase Isoforms in Rice: Immunological Studies of Enzymes in Green Leaf, Etiolated Leaf, and Root Tissues ». *Plant Physiology* 70 (3): 827-32. <https://doi.org/10.1104/pp.70.3.827>.
- Szajko, Katarzyna, Zhimin Yin, et Waldemar Marczewski. 2019. « Accumulation of MiRNA and MRNA Targets in Potato Leaves Displaying Temperature-Dependent Responses to Potato Virus Y ». *Potato Research* 62 (4): 379-92. <https://doi.org/10.1007/s11540-019-9417-4>.
- Talukder, Zahurul I. 2005. Review of *Loci Controlling Partial Resistance to Rice Blast Do Not Show Marked QTL × Environment Interaction When Plant Nitrogen Status Alters Disease Severity*, par A James S. McDonald et Adam H. Price. *New Phytologist* 168 (2): 455-64. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01507.x>.
- Tamai, Kazunori, et Jian Feng Ma. 2008. « Reexamination of Silicon Effects on Rice Growth and Production under Field Conditions Using a Low Silicon Mutant ». *Plant and Soil* 307 (1): 21-27. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9571-y>.
- Tanaka, Tomohiro, Nobuo Suzui, Hiroaki Hayashi, Tomoyuki Yamaya, et Tadakatsu Yoneyama. 2009. « Cytosolic Glutamine Synthetase Is Present in the Phloem Sap of Rice ( *Oryza Sativa* L.) ». *Soil Science and Plant Nutrition* 55 (1): 102-6. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2008.00327.x>.
- Tatarowska, Beata, Jarosław Plich, Dorota Milczarek, et Bogdan Flis. 2020. « Temperature-Dependent Resistance to Potato Virus M in Potato (*Solanum Tuberosum*) ». *Plant Pathology* 69 (8): 1445-52. <https://doi.org/10.1111/ppa.13245>.
- Taulemesse, François, Jacques Le Gouis, David Gouache, Yves Gibon, et Vincent Allard. 2015. « Post-Flowering Nitrate Uptake in Wheat Is Controlled by N Status at Flowering, with a Putative Major Role of Root Nitrate Transporter NRT2.1 ». Édité par Haibing Yang. *PLOS ONE* 10 (3): e0120291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120291>.
- Thatcher, Louise F., John M. Manners, et Kemal Kazan. 2009. « Fusarium Oxysporum Hijacks COI1-Mediated Jasmonate Signaling to Promote Disease Development in Arabidopsis ». *The Plant Journal* 58 (6): 927-39. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03831.x>.
- Thomma, Bart P. H. J., H. Peter Van Esse, Pedro W. Crous, et Pierre J. G. M. De Wit. 2005. « *Cladosporium Fulvum* (Syn. *Passalora Fulva*), a Highly Specialized Plant Pathogen as a Model for Functional Studies on Plant Pathogenic Mycosphaerellaceae ». *Molecular Plant Pathology* 6 (4): 379-93. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00292.x>.

- Titone, Patrizia, Gabriele Mongiano, et Luigi Tamborini. 2015. « Resistance to Neck Blast Caused by *Pyricularia Oryzae* in Italian Rice Cultivars ». *European Journal of Plant Pathology* 142 (1): 49-59. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0588-1>.
- Tkacz, Andrzej, et Philip Poole. 2015. « Role of Root Microbiota in Plant Productivity ». *Journal of Experimental Botany* 66 (8): 2167-75. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv157>.
- Tompkins, D. K., D. B. Fowler, et A. T. Wright. 1992. « Foliar disease development in no-till winter wheat: Influence of agronomic practices on powdery mildew development ». *Canadian Journal of Plant Science* 72 (3): 965-72. <https://doi.org/10.4141/cjps92-121>.
- Torabinejad, Javad, Janet L. Donahue, Bhadra N. Gunesequera, Matthew J. Allen-Daniels, et Glenda E. Gillaspay. 2009. « VTC4 Is a Bifunctional Enzyme That Affects Myoinositol and Ascorbate Biosynthesis in Plants ». *Plant Physiology* 150 (2): 951-61. <https://doi.org/10.1104/pp.108.135129>.
- Truman, William, Marta Torres de Zabala, et Murray Grant. 2006. « Type III Effectors Orchestrate a Complex Interplay between Transcriptional Networks to Modify Basal Defence Responses during Pathogenesis and Resistance ». *The Plant Journal* 46 (1): 14-33. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02672.x>.
- Uauy, Cristobal, Assaf Distelfeld, Tzion Fahima, Ann Blechl, et Jorge Dubcovsky. 2006. « A NAC Gene Regulating Senescence Improves Grain Protein, Zinc, and Iron Content in Wheat ». *Science* 314 (5803): 1298-1301. <https://doi.org/10.1126/science.1133649>.
- Veresoglou, S. D., E. K. Barto, G. Menexes, et M. C. Rillig. 2013. « Fertilization Affects Severity of Disease Caused by Fungal Plant Pathogens ». *Plant Pathology* 62 (5): 961-69. <https://doi.org/10.1111/ppa.12014>.
- Vergne, Emilie, Xavier Grand, Elsa Ballini, Véronique Chalvon, P. Saindrenan, D. Tharreau, J-L Nottéghem, et J-B Morel. 2010. « Preformed expression of defense is a hallmark of partial resistance to rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae* ». *BMC Plant Biology* 10 (1): 206. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-206>.
- Verly, Camille, Atsin Djoman, Martine Rigault, Frédéric Giraud, Loïc Rajjou, Marie-Emmanuelle Saint-Macary, et Alia Dellagi. 2020. « Plant Defense Stimulator Mediated Defense Activation Is Affected by Nitrate Fertilization and Developmental Stage in *Arabidopsis thaliana* ». *Frontiers in Plant Science* 11 (mai). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00583>.
- Vinod, K. K., et S. Heuer. 2012. « Approaches towards Nitrogen- and Phosphorus-Efficient Rice ». *AoB Plants* 2012 (0): pls028-pls028. <https://doi.org/10.1093/aobpla/pls028>.
- Wada, Shinya, Yasukazu Hayashida, Masanori Izumi, Takamitsu Kurusu, Shigeru Hanamata, Keiichi Kanno, Soichi Kojima, et al. 2015. « Autophagy Supports Biomass Production and Nitrogen Use Efficiency at the Vegetative Stage in Rice ». *Plant Physiology* 168 (1): 60-73. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00242>.
- Walters, D. R., et I. J. Bingham. 2007. « Influence of Nutrition on Disease Development Caused by Fungal Pathogens: Implications for Plant Disease Control ». *Annals of Applied Biology* 151 (3): 307-24. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2007.00176.x>.
- Wang, Bao-hua, Daniel J. Ebbole, et Zong-hua Wang. 2017. « The Arms Race between *Magnaporthe Oryzae* and Rice: Diversity and Interaction of Avr and R Genes ». *Journal of Integrative Agriculture* 16 (12): 2746-60. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61746-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61746-5).
- Wang, Jing, Lian Zhou, Hui Shi, Mawsheng Chern, Hong Yu, Hong Yi, Min He, et al. 2018. « A Single Transcription Factor Promotes Both Yield and Immunity in Rice ». *Science* 361 (6406): 1026-28. <https://doi.org/10.1126/science.aat7675>.
- Wang, Li, Cheng Xue, Xia Pan, Fang Chen, et Yi Liu. 2018. « Application of Controlled-Release Urea Enhances Grain Yield and Nitrogen Use Efficiency in Irrigated Rice in the Yangtze River Basin, China ». *Frontiers in Plant Science* 9 (juillet). <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00999>.
- Wang, Pingyu, Shaolun Yao, Ken-ichi Kosami, Ting Guo, Jing Li, Yuanyuan Zhang, Yoichiro Fukao, et al. 2020. « Identification of Endogenous Small Peptides Involved in Rice Immunity through Transcriptomics- and Proteomics-Based Screening ». *Plant Biotechnology Journal* 18 (2): 415-28. <https://doi.org/10.1111/pbi.13208>.
- Wang, Wenfeng, Yanyan Zhai, Lixiang Cao, Hongming Tan, et Renduo Zhang. 2016. « Illumina-Based Analysis of Core Actinobacteriome in Roots, Stems, and Grains of Rice ». *Microbiological Research* 190 (septembre): 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.003>.

- Wang, Xiaofan, et Barbara Valent. 2009. *Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast Disease*. Springer Science & Business Media.
- Wang, Yiming, Soon Jae Kwon, Jingni Wu, Jaeyoung Choi, Yong-Hwan Lee, Ganesh Kumar Agrawal, Shigeru Tamogami, et al. 2014. « Transcriptome Analysis of Early Responsive Genes in Rice during Magnaporthe oryzae Infection ». *The Plant Pathology Journal* 30 (4): 343-54. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2014.0055>.
- Wei, Dong, Kehui Cui, Junfeng Pan, Guoyou Ye, Jing Xiang, Lixiao Nie, et Jianliang Huang. 2011. « Genetic Dissection of Grain Nitrogen Use Efficiency and Grain Yield and Their Relationship in Rice ». *Field Crops Research* 124 (3): 340-46. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.07.003>.
- Wei, Dong, Kehui Cui, Guoyou Ye, Junfeng Pan, Jing Xiang, Jianliang Huang, et Lixiao Nie. 2012. « QTL Mapping for Nitrogen-Use Efficiency and Nitrogen-Deficiency Tolerance Traits in Rice ». *Plant and Soil* 359 (1-2): 281-95. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1142-6>.
- Wei, Huanhe, Tianyao Meng, Chao Li, Ke Xu, Zhongyang Huo, Haiyan Wei, Baowei Guo, Hongcheng Zhang, et Qigen Dai. 2017. « Comparisons of Grain Yield and Nutrient Accumulation and Translocation in High-Yielding Japonica/Indica Hybrids, Indica Hybrids, and Japonica Conventional Varieties ». *Field Crops Research* 204 (mars): 101-9. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.01.001>.
- Werner, Tomáš, Václav Motyka, Miroslav Strnad, et Thomas Schmülling. 2001. « Regulation of Plant Growth by Cytokinin ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (18): 10487-92. <https://doi.org/10.1073/pnas.171304098>.
- Wilson, Richard A., et Nicholas J. Talbot. 2009. « Under Pressure: Investigating the Biology of Plant Infection by Magnaporthe Oryzae ». *Nature Reviews Microbiology* 7 (3): 185-95. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2032>.
- Wolinska, Katarzyna Wiktoria, et Matthias Leonhard Berens. 2019. « Optimal Defense Theory 2.0: tissue-specific stress defense prioritization as an extra layer of complexity ». *Communicative & Integrative Biology* 12 (1): 91-95. <https://doi.org/10.1080/19420889.2019.1625661>.
- Wu, Hui, Jing Xiang, Yuping Zhang, Yikai Zhang, Shaobing Peng, Huizhe Chen, et Defeng Zhu. 2018. « Effects of Post-Anthesis Nitrogen Uptake and Translocation on Photosynthetic Production and Rice Yield ». *Scientific Reports* 8 (1): 12891. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31267-y>.
- Wu, Li-Li, Zhong-Li Liu, Jun-Min Wang, Cong-Yi Zhou, et Kun-Ming Chen. 2011. « Morphological, Anatomical, and Physiological Characteristics Involved in Development of the Large Culm Trait in Rice ». *Australian Journal of Crop Science* 5 (11): 1356.
- Xiao, Wenkai, Jing Zhao, Shengci Fan, Lin Li, Jinrui Dai, et Mingliang Xu. 2007. « Mapping of Genome-Wide Resistance Gene Analogs (RGAs) in Maize (Zea Mays L.) ». *Theoretical and Applied Genetics* 115 (4): 501-8. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0583-4>.
- Xiong, Qiangqiang, Guoping Tang, Lei Zhong, Haohua He, et Xiaorong Chen. 2018. « Response to Nitrogen Deficiency and Compensation on Physiological Characteristics, Yield Formation, and Nitrogen Utilization of Rice ». *Frontiers in Plant Science* 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01075>.
- Xu, Guohua, Xiaorong Fan, et Anthony J. Miller. 2012. « Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency ». *Annual Review of Plant Biology* 63 (1): 153-82. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>.
- Yaeno, Takashi, et Koh Iba. 2008. « BAH1/NLA, a RING-Type Ubiquitin E3 Ligase, Regulates the Accumulation of Salicylic Acid and Immune Responses to Pseudomonas Syringae DC3000 ». *Plant Physiology* 148 (2): 1032-41. <https://doi.org/10.1104/pp.108.124529>.
- Yamaya, Tomoyuki, Mitsuhiro Obara, Hiroyuki Nakajima, Shohei Sasaki, Toshihiko Hayakawa, et Tadashi Sato. 2002. « Genetic Manipulation and Quantitative-trait Loci Mapping for Nitrogen Recycling in Rice ». *Journal of Experimental Botany* 53 (370): 917-25. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.917>.
- Yamaya, Tomoyuki, Hiromi Tanno, Naoya Hirose, Sachiko Watanabe, et Toshihiko Hayakawa. 1995. « A Supply of Nitrogen Causes Increase in the Level of NADH-Dependent Glutamate Synthase Protein and in the Activity of the Enzyme in Roots of Rice Seedlings ». *Plant and Cell Physiology* 36 (7): 1197-1204. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078876>.

- Yan, Xia, et Nicholas J Talbot. 2016. « Investigating the Cell Biology of Plant Infection by the Rice Blast Fungus *Magnaporthe Oryzae* ». *Current Opinion in Microbiology*, Growth and development: Eukaryotes \* Growth and development: Prokaryotes, 34 (décembre): 147-53. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.10.001>.
- Yang, Dong-Lei, Yinong Yang, et Zuhua He. 2013. « Roles of Plant Hormones and Their Interplay in Rice Immunity ». *Molecular Plant* 6 (3): 675-85. <https://doi.org/10.1093/mp/sst056>.
- Yang, J.-H., H.-X. Liu, G.-M. Zhu, Y.-L. Pan, L.-P. Xu, et J.-H. Guo. 2008. « Diversity Analysis of Antagonists from Rice-Associated Bacteria and Their Application in Biocontrol of Rice Diseases ». *Journal of Applied Microbiology* 104 (1): 91-104. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03534.x>.
- Yang, Jianchang, et Jianhua Zhang. 2010. « Grain-Filling Problem in ‘Super’ Rice ». *Journal of Experimental Botany* 61 (1): 1-5. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp348>.
- Yang, Jianchang, Jianhua Zhang, Zhiqing Wang, Kai Liu, et Peng Wang. 2006. « Post-Anthesis Development of Inferior and Superior Spikelets in Rice in Relation to Abscisic Acid and Ethylene ». *Journal of Experimental Botany* 57 (1): 149-60. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj018>.
- Yang, Jianchang, Jianhua Zhang, Zhiqing Wang, Qingsen Zhu, et Lijun Liu. 2002. « Abscisic Acid and Cytokinins in the Root Exudates and Leaves and Their Relationship to Senescence and Remobilization of Carbon Reserves in Rice Subjected to Water Stress during Grain Filling ». *Planta* 215 (4): 645-52. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0789-2>.
- Yang, Jungwook, Joseph W. Kloepper, et Choong-Min Ryu. 2009. « Rhizosphere Bacteria Help Plants Tolerate Abiotic Stress ». *Trends in Plant Science* 14 (1): 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>.
- Yi, Jun, JiPing Gao, WenZhong Zhang, YanZe Zhao, Chen Zhao, Ying Zhao, Ziang Li, et Wei Xin. 2020. « Delayed Timing of Tillering Fertilizer Improved Grain Yield and Nitrogen Use Efficiency in Japonica Rice ». *Crop Science* 60 (2): 1021-33. <https://doi.org/10.1002/csc2.20044>.
- Yoneyama, Tadakatsu, et Chiaki Sano. 1978. « Nitrogen Nutrition and Growth of the Rice Plant: II. Considerations Concerning the Dynamics of Nitrogen in Rice Seedlings ». *Soil Science and Plant Nutrition* 24 (2): 191-98. <https://doi.org/10.1080/00380768.1978.10433095>.
- Yoneyama, Tadakatsu, et Go Takeba. 1984. « Compartment Analysis of Nitrogen Flows through Mature Leaves ». *Plant and Cell Physiology*, janvier. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076694>.
- Yoneyama, Tadakatsu, Fumio Tanno, Jiro Tatsumi, et Tadahiko Mae. 2016. « Whole-Plant Dynamic System of Nitrogen Use for Vegetative Growth and Grain Filling in Rice Plants (*Oryza Sativa* L.) as Revealed through the Production of 350 Grains from a Germinated Seed Over 150 Days: A Review and Synthesis ». *Frontiers in Plant Science* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01151>.
- Yu, Jun, Wei Xuan, Yunlu Tian, Lei Fan, Juan Sun, Weijie Tang, Gaoming Chen, et al. 2020. « Enhanced OsNLP4-OsNiR Cascade Confers Nitrogen Use Efficiency by Promoting Tiller Number in Rice ». *Plant Biotechnology Journal*. <https://doi.org/10.1111/pbi.13450>.
- Yu, Qin, Zhu Liu, Derun Lin, Wei Zhang, Qun Sun, Jianqing Zhu, et Min Lin. 2013. « Characterization and Evaluation of *Staphylococcus* Sp. Strain LZ16 for the Biological Control of Rice Blast Caused by *Magnaporthe Oryzae* ». *Biological Control* 65 (3): 338-47. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.03.016>.
- Zaka, Abha, Genelou Grande, Thea Coronejo, Ian Lorenzo Quibod, Chun-Wei Chen, Su-Jein Chang, Boris Szurek, Muhammad Arif, Casiana Vera Cruz, et Ricardo Oliva. 2018. « Natural Variations in the Promoter of OsSWEET13 and OsSWEET14 Expand the Range of Resistance against *Xanthomonas Oryzae* Pv. *Oryzae* ». *PLOS ONE* 13 (9): e0203711. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203711>.
- Zhang, Jie, Feng Shao, Yan Li, Haitao Cui, Linjie Chen, Hongtao Li, Yan Zou, et al. 2007. « A *Pseudomonas Syringae* Effector Inactivates MAPKs to Suppress PAMP-Induced Immunity in Plants ». *Cell Host & Microbe* 1 (3): 175-85. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2007.03.006>.
- Zhang, Jingying, Yong-Xin Liu, Na Zhang, Bin Hu, Tao Jin, Haoran Xu, Yuan Qin, et al. 2019. « NRT1.1B Is Associated with Root Microbiota Composition and Nitrogen Use in Field-Grown Rice ». *Nature Biotechnology* 37 (6): 676-84. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0104-4>.

- Zhang, Wujun, Longmei Wu, Yanfeng Ding, Xiong Yao, Xiaoran Wu, Fei Weng, Ganghua Li, et al. 2017. « Nitrogen Fertilizer Application Affects Lodging Resistance by Altering Secondary Cell Wall Synthesis in Japonica Rice (*Oryza Sativa*) ». *Journal of Plant Research* 130 (5): 859-71. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0943-3>.
- Zhang, Ya-Li, Jian-Bo Fan, Dong-Sheng Wang, et Qi-Rong Shen. 2009. « Genotypic Differences in Grain Yield and Physiological Nitrogen Use Efficiency Among Rice Cultivars ». *Pedosphere* 19 (6): 681-91. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(09\)60163-6](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(09)60163-6).
- Zhang, Zhihua, Shaopei Gao, et Chengcai Chu. 2020. « Improvement of Nutrient Use Efficiency in Rice: Current Toolbox and Future Perspectives ». *Theoretical and Applied Genetics* 133 (5): 1365-84. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03527-6>.
- Zhang, Zhiyong, Shuping Xiong, Yihao Wei, Xiaodan Meng, Xiaochun Wang, et Xinming Ma. 2017. « The Role of Glutamine Synthetase Isozymes in Enhancing Nitrogen Use Efficiency of N-Efficient Winter Wheat ». *Scientific Reports* 7 (1): 1000. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01071-1>.
- Zhao, Chun-Fang, Li-Hui Zhou, Ya-Dong Zhang, Zhen Zhu, Tao Chen, Qing-Yong Zhao, Shu Yao, Xin Yu, et Cai-Lin Wang. 2014. « QTL Mapping for Seedling Traits Associated with Low-Nitrogen Tolerance Using a Set of Advanced Backcross Introgression Lines of Rice ». Édité par P. Virk. *Plant Breeding* 133 (2): 189-95. <https://doi.org/10.1111/pbr.12123>.
- Zhao, Limei, Lianghuan Wu, Cunjun Dong, et Yongshan Li. 2010. « Rice Yield, Nitrogen Utilization and Ammonia Volatilization as Influenced by Modified Rice Cultivation at Varying Nitrogen Rates ». *Agricultural Sciences* 01 (01): 10-16. <https://doi.org/10.4236/as.2010.11002>.
- Zheng, Z., S.A. Qamar, Z. Chen, et T. Mengiste. 2006. « Arabidopsis WRKY33 transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens ». *Plant Journal* 48 (4): 592-605. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02901.x>.
- Zhou, Sheng, et Masaaki Hosomi. 2008. « Nitrogen Transformations and Balance in a Constructed Wetland for Nutrient-Polluted River Water Treatment Using Forage Rice in Japan ». *Ecological Engineering* 32 (2): 147-55. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2007.10.004>.
- Zhu, Shusheng, et Jean-Benoît Morel. 2019. « Molecular Mechanisms Underlying Microbial Disease Control in Intercropping ». *Molecular Plant-Microbe Interactions®* 32 (1): 20-24. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0058-CR>.
- Zhu, Ying, Weiqiang Qian, et Jian Hua. 2010. « Temperature Modulates Plant Defense Responses through NB-LRR Proteins ». *PLOS Pathogens* 6 (4): e1000844. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000844>.
- Zhu, You-Yong, Hui Fang, Yun-Yue Wang, Jin Xiang Fan, Shi-Sheng Yang, Twng Wah Mew, et Christopher C. Mundt. 2005. « Panicle Blast and Canopy Moisture in Rice Cultivar Mixtures ». *Phytopathology®* 95 (4): 433-38. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0433>.
- Zhuang, Lili, Ying Ge, Jian Wang, Jingjin Yu, Zhimin Yang, et Bingru Huang. 2019. « Gibberellic Acid Inhibition of Tillering in Tall Fescue Involving Crosstalks with Cytokinins and Transcriptional Regulation of Genes Controlling Axillary Bud Outgrowth ». *Plant Science* 287 (octobre): 110168. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110168>.
- Zinsou, Valerien Amégnikin, Ghislain K Djago, Gildas C Tchamadon, Pierre G Tovihoudji, Léonard A C Afouda, Huguette A Dossa, et Fatihyatou Soumaïla. 2020. « Effect of Different Potassium Rates on the Severity of Northern Corn Leaf Blight Caused by *Helminthosporium Turcicum* in North Benin », 9.
- Zipfel, Cyril, Silke Robatzek, Lionel Navarro, Edward J. Oakeley, Jonathan D. G. Jones, Georg Felix, et Thomas Boller. 2004. « Bacterial Disease Resistance in Arabidopsis through Flagellin Perception ». *Nature* 428 (6984): 764-67. <https://doi.org/10.1038/nature02485>.