

Dissection des bases biologiques de caractères d'intérêt chez le riz : architecture et développement du système racinaire

Anne Dievert¹
Yoan Coudert²
Pascal Gantet³
Germain Pauluzzi¹
Jerôme Puig¹
Divol Fanchon¹
Nourollah Ahmadi¹
Brigitte Courtois¹
Emmanuel Guiderdoni¹
Christophe Périn¹

¹ Cirad
UMR AGAP
TA A-108/03
Avenue Agropolis
34398 Montpellier cedex 5
France
<anne.dievert@cirad.fr>
<germain.pauluzzi@gmail.com>
<puigjerome@gmail.com>
<fanchon.divol_malgoire@cirad.fr>
<nourollah.ahmadi@cirad.fr>
<brigitte.courtois@cirad.fr>
<emmanuel.guiderdoni@cirad.fr>
<perin@cirad.fr>

² University of Cambridge
Department of Plant Sciences
Downing Street
Cambridge
CB2 3EA Cambridge
United Kingdom
<ync21@cam.ac.uk>

³ Agricultural Genetics Institute
USTH
UMR DIADE
LMI RICE
Hanoi
Viet Nam
<pascal.gantet@univ-montp2.fr>

Résumé

Le riz possède un système racinaire fasciculé composé principalement de racines adventives aussi appelées racines coronaires ou nodales. Ces racines émergent d'abord des nœuds empilés à la base des tiges principales puis des ramifications aériennes. Parce que le système racinaire n'est pas directement accessible et est difficile à observer, la sélection phénotypique de variétés de riz capables d'exploiter au mieux les ressources du sol reste un défi pour les sélectionneurs. La sélection de caractères architecturaux améliorés nécessite donc l'identification des déterminants génétiques du développement racinaire. Ainsi, de nombreux travaux de recherche pour identifier et caractériser les gènes contrôlant l'architecture racinaire sont en cours chez le riz et plusieurs autres céréales. Dans cette revue, nous présentons les dernières stratégies et des résultats obtenus récemment dans l'identification de gènes et de loci à effets quantitatifs impliqués dans le développement racinaire du riz.

Mots clés : génétique moléculaire ; QTL (Quantitative Trait Loci ou Loci à effet Quantitatif) ; racines ; riz ; variation génétique.

Thèmes : amélioration génétique ; méthodes et outils ; productions végétales ; ressources naturelles et environnement.

Abstract

Dissecting the biological bases of traits of interest in rice: Architecture and development of the root system

Rice possesses a fibrous root system made up mainly of adventitious roots also called crown or nodal roots. Roots emerge from the nodes first at the stem base and then from nodes of shoot ramifications. The root system is not easily accessible and therefore difficult to study. For this reason phenotypic breeding for rice varieties with improved root systems remains a challenge. Hence, identification of genetic determinants of root development should considerably improve breeding efficiency. Numerous studies are underway on identifying and characterizing genes controlling root traits on rice and other cereals. In this review, we summarize the latest strategies and some recent results concerning the identification and characterization of root genes and quantitative trait loci affecting root development in rice.

Key words: genetic variation; molecular genetics; QTL (Quantitative Trait Loci); rice; roots.

Subjects: genetic improvement; natural resources and environment; tools and methods; vegetal productions.

Tirés à part : C. Périn

doi: 10.1684/agr.2013.0651

Pour citer cet article : Dievert A, Coudert Y, Gantet P, Pauluzzi G, Puig J, Fanchon D, Ahmadi N, Courtois B, Guiderdoni E, Périn C, 2013. Dissection des bases biologiques de caractères d'intérêt chez le riz : architecture et développement du système racinaire. *Cah Agric* 22 : 475-83. doi : 10.1684/agr.2013.0651

Le système racinaire assure les fonctions vitales d'absorption de l'eau et des éléments minéraux ainsi que l'ancrage dans le sol. Les racines sont des organes plastiques, capables d'adapter leur développement aux caractéristiques du sol : on observe que les variétés de riz pluvial qui doivent chercher l'eau en profondeur peuvent développer des systèmes racinaires d'un mètre de profondeur (Kawata *et al.*, 1977 ; Reyniers *et al.*, 1978) contre 20 cm en moyenne pour les riz irrigués (figure 1). Par conséquent, l'architecture racinaire (profondeur maximum, nombre, diamètre et orientation des racines nodales, densité des racines latérales...) joue un rôle important dans la tolérance à la sécheresse (Mambani *et al.*, 1983 ; Price *et al.*, 2002 ; Tuberosa R *et al.*, 2002). Comprendre les mécanismes qui gouvernent le développement et la plasticité racinaire, et identifier les gènes impliqués, permettraient d'accélérer la création de variétés tolérantes en conditions culturales limitantes (manque d'eau et d'éléments minéraux ou salinité), par les méthodes de sélection assistée par marqueurs moléculaires ou par la transgénèse.

Morphologie, anatomie et caractères adaptatifs

Il existe quatre types de racines chez le riz : la radicule, les racines nodales, et les racines latérales, petites et grandes (Rebouillat *et al.*, 2009). La radicule est la racine embryonnaire qui se forme à l'opposé du méristème apical de la tige. Les racines nodales sont de deux sortes : les cinq premières, embryonnaires, émergent du nœud coléoptilaire (figure 2A) ; les autres, postembryonnaires qui forment un système racinaire fasciculé, émergent des nœuds de la tige principale et des ramifications aériennes (figure 2B), selon le principe de développement en phytomères empilés décrit par Kawata *et al.* (1963). Il est possible de déterminer le stade de développement des racines nodales en fonction du phyllochrone, défini comme l'intervalle de temps entre l'initiation

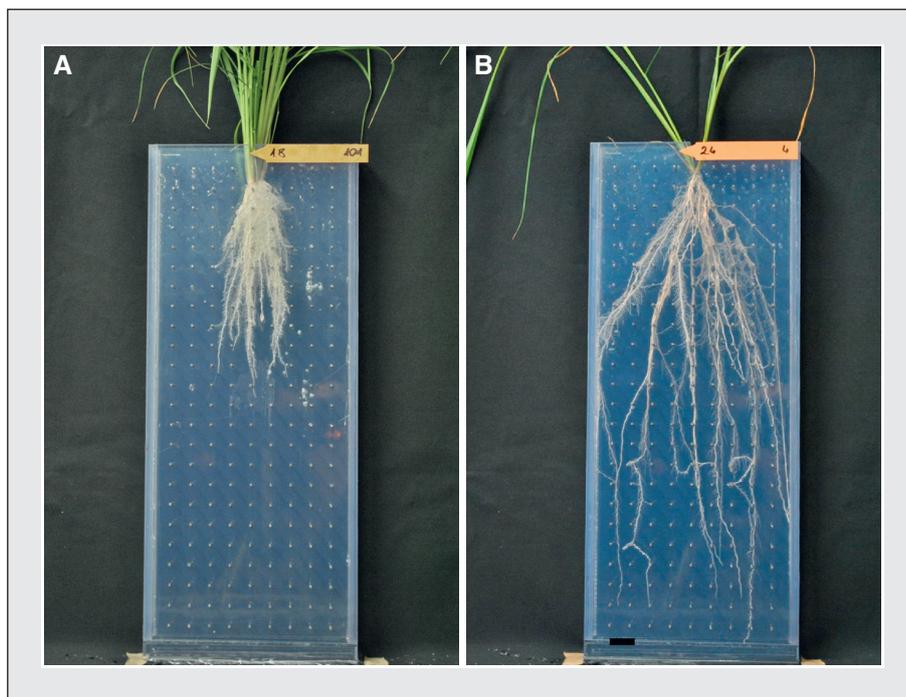


Figure 1. Illustration de la variabilité du système racinaire rencontrée dans l'espèce *O. sativa* en conditions de culture hydroponique.

Figure 1. Illustration of the variability of the root system encountered in the species *O. sativa* in hydroponic conditions.

A) IR60 (riz irrigué, *indica*) ; B) Azucena (riz pluvial, *japonica*).
Échelle 5 cm.

de deux feuilles successives sur la tige (Kawata *et al.*, 1963). Lorsqu'une feuille visible émerge à partir d'un phytomère, les racines nodales émergent trois nœuds plus bas, les racines latérales apparaissent quatre nœuds en dessous et les racines latérales d'ordre 2, cinq nœuds en dessous (Fujii, 1961). Le système racinaire d'une plante de riz mature est donc principalement constitué de racines nodales dont l'âge dépend de la position du phytomère de rattachement. La radicule et les racines nodales peuvent porter deux types de racines latérales, les petites et les grandes (figure 2C). Les petites racines latérales sont courtes, à croissance déterminée, agéotropiques et ne portent jamais de racines latérales secondaires. Les grandes racines latérales ont une croissance indéterminée, à géotropisme positif, et portent des racines latérales secondaires. L'ensemble de ces racines forme donc une structure fibreuse fasciculée.

L'organisation anatomique radiale des racines de riz est complexe et

présente une variabilité génétique importante. Elle comprend, de l'extérieur vers l'intérieur, l'épiderme, les tissus internes et la stèle (Rebouillat *et al.*, 2009) (figure 3). Les tissus internes sont subdivisés en quatre types : l'exoderme, qui forme une barrière vis-à-vis de l'eau et des ions ; le sclérenchyme, très lignifié, qui joue un rôle de maintien de la racine lors de son vieillissement et qui limite le flux d'oxygène vers l'extérieur ; le cortex ; et l'endoderme dont la fonction est similaire à celle de l'exoderme. Le nombre de couches de cortex dépend du type racinaire (pouvant atteindre plus de 10 couches dans les racines nodales) mais également de la position d'émergence de la racine sur la tige principale (figure 3). Il existe ainsi une très forte corrélation entre le diamètre racinaire et le nombre de couches de cortex. Le cortex se différencie en aerenchyme comportant des lacunes permettant la circulation de l'air, une adaptation aux conditions de submersion.

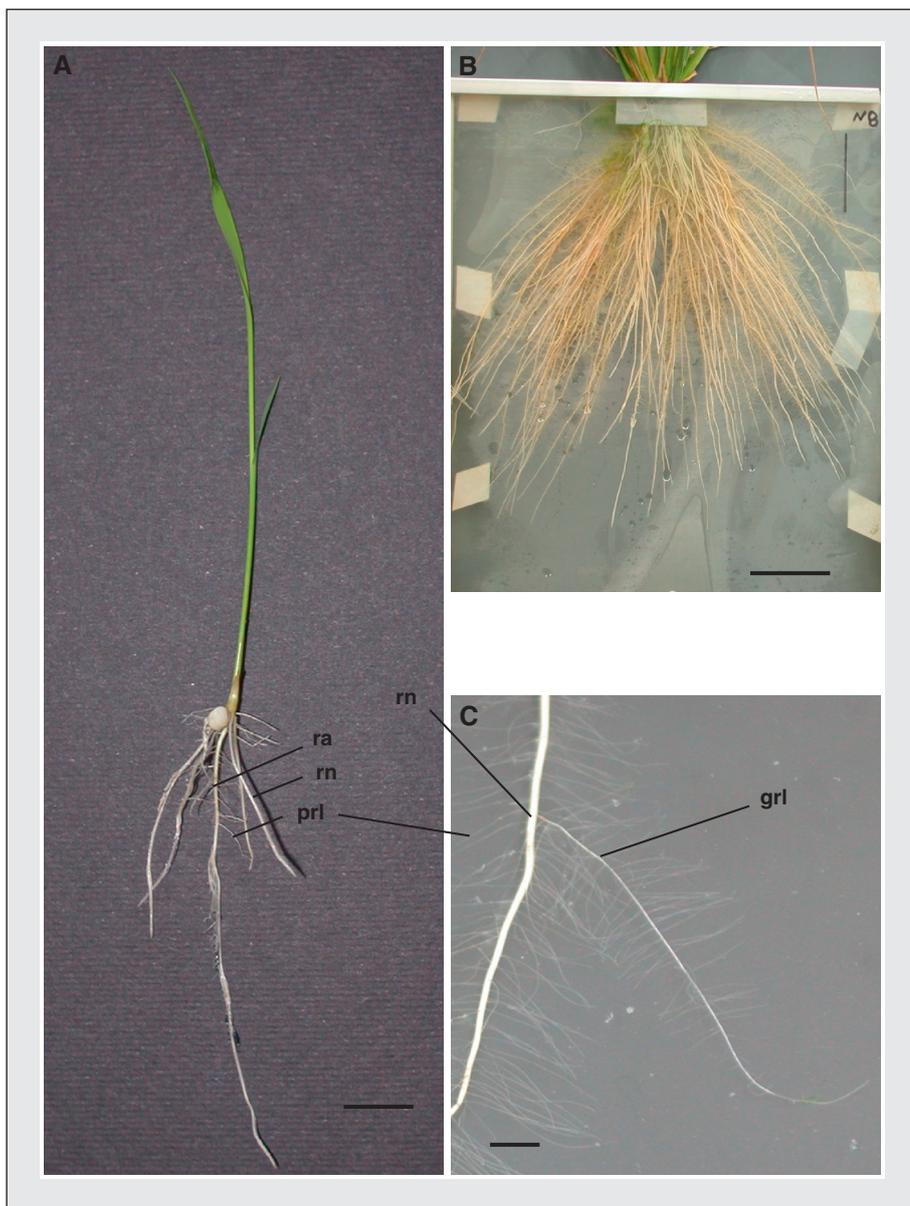


Figure 2. Architecture du système racinaire du riz (d'après Rebouillat *et al.* [2009]).

Figure 2. Architecture of the rice root system (after Rebouillat *et al.* [2009]).

A) système racinaire d'une plantule de riz d'une semaine (cv Nipponbare, *japonica*) ; B) système racinaire d'une plante de 40 jours ; C) vue détaillée d'une racine nodale.

ra : radicule ; rn : racine nodale ; prl : petite racine latérale ; grl : grande racine latérale.

ra : radicle ; rn : racine nodale ; prl : petite racine latérale ; grl : grande racine latérale.

Échelles (A, C) 1 cm, (B) 5 cm.

Caractériser des gènes intervenant dans le développement racinaire du riz

Deux approches complémentaires, de « génétique inverse » et de « génétique directe », sont utilisées pour identifier

les gènes contrôlant des caractères racinaires d'intérêt agronomique. La première consiste à altérer l'expression d'un gène cible en modifiant sa séquence et à en évaluer l'impact sur le développement racinaire. Dans le cas du riz, le choix des gènes cibles s'appuie sur les connaissances déjà acquises chez l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana*, (Bennett *et al.* 2010 ; Pauluzzi *et al.*, 2012 ; Overvoorde

et al., 2010 ; Iyer-Pascuzzi *et al.*, 2009). On recherche *in silico*, dans la séquence annotée du génome du riz, les gènes orthologues. Puis, à l'aide d'outils bioinformatiques, on identifie dans les banques de mutants développées par la communauté internationale (Krishnan *et al.*, 2009 ; Lorieux *et al.*, 2012) des accessions de riz porteuses de mutations dans les gènes cibles. La caractérisation phénotypique de ces mutants permet d'identifier rapidement des gènes clés du développement racinaire (Droc *et al.*, 2009). La seconde approche, de « génétique directe », consiste : i) à identifier les zones chromosomiques (« quantitative trait loci » ou QTL) impliquées dans le développement racinaire par des méthodes statistiques qui testent le lien entre la distribution du caractère phénotypique cible et le génotype des individus dans des populations issues d'un croisement biparental (Paterson *et al.*, 1988) ou représentatives de la diversité de l'espèce (Jannink et Walsh, 2002) ; ii) à isoler ensuite les séquences en cause. L'approche de génétique directe est la seule à même d'identifier des gènes du développement racinaire qui seraient spécifiques du riz. Ceux-ci sont probablement nombreux compte tenu des différences qui existent entre le système racinaire d'*Arabidopsis* et celui du riz. Les deux approches sont donc complémentaires et menées en parallèle dans de nombreux laboratoires (Lorieux *et al.*, 2012).

Génétique inverse

Chez le riz, la majeure partie de l'appareil racinaire est constituée de racines nodales qui se différencient tout au long du développement de la plante à partir de primordia situés dans les tiges (Coudert, *et al.*, 2010). Ces primordia prennent naissance dans une couche de cellules méristématiques qui peut être assimilée à un péricycle de tige au vu de sa position, entre les tissus vasculaires et l'endoderme, et au vu de son potentiel organogène (Kaufman, 1959 ; Kawata *et al.*, 1975 ; Itoh *et al.*, 2005). Après une phase d'initiation, marquée par l'entrée en division de certaines cellules de ce péricycle, un nouveau

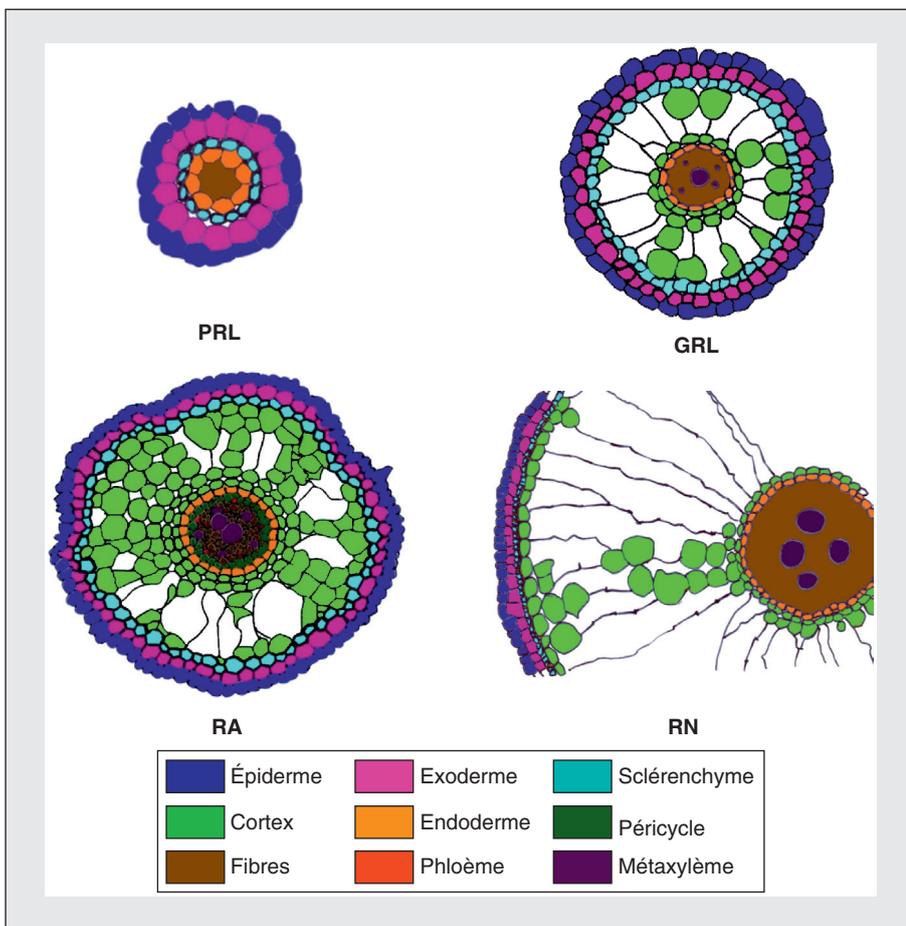


Figure 3. Anatomies radiales comparées des quatre types racinaires chez le riz.

Figure 3. Comparative radial anatomies of the four root types in rice.

Représentation schématique de l'organisation radiale d'une radicule (RA) de riz âgée de 7 jours, d'une racine nodale (RN), d'une grande (GRL) et d'une petite racine latérale (PRL). Les figures ne sont pas à l'échelle.

méristème racinaire se différencie. Le développement de ce méristème permet l'émergence d'une nouvelle racine nodale. L'initiation et l'émergence des racines nodales sont régulées par des mécanismes distincts qui commencent à être décryptés grâce à la caractérisation fonctionnelle de mutants affectant des gènes impliqués dans ces processus (Coudert *et al.*, 2010).

Mutants affectés dans l'initiation des racines nodales

Chez les mutants de riz, *Osgnom1* (cv Zhonghua 11 et cv Kasalath) (Liu *et al.*, 2009), l'initiation des racines nodales est abolie. Le nombre de racines latérales est réduit ainsi que le gravitropisme des racines. La croissance

des parties aériennes est inhibée et les plantes meurent au bout de deux mois. Chez ces mêmes mutants, les protéines OsPIN2, OsPIN5b et OsPIN9 sont moins abondantes dans la base des tiges. Cela pourrait perturber la régulation des flux d'auxine nécessaires à l'initiation des racines nodales (Liu *et al.*, 2009). Chez *Arabidopsis*, ce flux est contrôlé par la protéine GNOM1 qui, associée aux membranes cellulaires, contribue à leur dynamique intracellulaire et, de ce fait, joue un rôle dans le trafic et la localisation des protéines de transport d'auxine telle que PINFORMED 1 (PIN1) (Steinmann *et al.*, 1999).

L'implication de l'auxine dans l'initiation des racines nodales passe par la régulation de l'expression de facteurs de transcription spécifiques. Chez le riz, l'existence de l'un de ces facteurs, *ARL1/CRL1*, a été mise en évidence par

l'étude des mutants *adventitious rootless 1 (arl1, cv Zhonghua 11)* (Liu *et al.*, 2005) et *crown rootless 1 (crl1, cv Taichung 65)* (Inukai *et al.*, 2005) qui affectent le même gène (Matsumura *et al.*, 2009). La régulation de l'expression d'*ARL1/CRL1* par l'auxine requiert un élément de réponse à l'auxine (ARE pour *Auxin Response Element*) dans son promoteur. Cet ARE interagit *in vitro* avec le facteur de transcription *Auxin Response Factor* (ARF) OsARF16. L'auxine régule l'expression du gène *ARL1/CRL1* via une voie de transduction impliquant le récepteur d'auxine TIR1/AFB1-3 (Dharmasiri *et al.*, 2005 ; Kepinski *et al.*, 2005). L'interaction physique entre l'auxine et TIR1/AFB1 permet de cibler, via l'ubiquitination, la dégradation de protéines AUX/IAA et l'activation de OsARF16. Cette dernière peut alors activer l'expression du gène *ARL1/CRL1* en se fixant sur l'élément ARE de son promoteur.

Cela rappelle la voie de transduction impliquée dans l'initiation des racines latérales chez *Arabidopsis* où, en réponse à l'auxine, les gènes *AtARF7* et *AtARF19*, orthologues d'*OsARF16*, induisent l'expression des facteurs de transcription LBD, orthologues d'*ARL1/CRL1* (Wang *et al.*, 2007 ; Okushima *et al.*, 2007 ; Wilmoth *et al.*, 2005 ; Laplaze *et al.*, 2005). Ainsi, les mécanismes d'initiation des racines nodales chez le riz et des racines latérales chez *Arabidopsis* présentent des similarités et sont probablement bien conservés chez l'ensemble des plantes supérieures. Les gènes en aval de *ARL1/CRL1* ne sont pas encore précisément identifiés, mais on sait que les gènes *QHB* et *OsSCR*, importants pour le fonctionnement du méristème, sont inhibés au niveau de la base des tiges du mutant *arl1* (Kamiya *et al.*, 2003a, Kamiya *et al.*, 2003b). Une analyse différentielle du transcriptome entre bases de tiges de plantes mutantes *crl1* et plantes sauvages a permis d'identifier des gènes inhibés chez le mutant et répondant à *CRL1* de manière dépendante à l'auxine (Coudert *et al.*, 2011). Ces gènes constituent de bons candidats pour découvrir de nouveaux déterminants génétiques de l'initiation des racines nodales chez le riz. Le mutant *crown rootless 5 (crl5, cv Kinmaze)*, présente un nombre réduit

de racines et ce phénotype est amplifié dans le double mutant *crl1/crl5*, suggérant que ces deux gènes agissent dans des voies de signalisation indépendantes (Kitomi *et al.*, 2011a; Kitomi *et al.*, 2011b). *crl5* code un facteur de transcription de la famille APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR (AP2/ERF). L'expression de ce gène est positivement régulée par l'auxine *via* une voie impliquant aussi les protéines régulatrices de type AUX/IAA/ARF. De manière intéressante, CRL5 régule positivement l'expression de gènes « *type-A RESPONSE REGULATOR* » (*ARR*), notamment *OsARR1*. Les *ARR* constituent des éléments régulateurs négatifs de la voie de signalisation des cytokinines (To *et al.*, 2004), des hormones connues pour inhiber l'initiation des racines latérales chez *Arabidopsis* (Laplaze *et al.*, 2007 ; Dello Ioio *et al.*, 2008 ; Peret *et al.*, 2009 ; Benkova *et al.*, 2009).

Un autre facteur de transcription impliqué dans la régulation de la réponse des racines nodales à l'auxine et aux cytokinines a été identifié : WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 11 (*OsWOX11*) (Zhao *et al.*, 2009). Le mutant *Oswox11* (cv Zhonghua 11) présente un nombre réduit de racines nodales. *OsWOX11* est exprimé dans les zones d'initiation des racines et est régulé par des traitements exogènes à l'auxine et aux cytokinines. Ce gène régule négativement l'expression d'*OsARR2* en se fixant à son promoteur, alors que l'expression de plusieurs autres gènes du riz codant des *ARR* est inhibée dans le mutant *Oswox11*. Ces exemples montrent que plusieurs facteurs de transcription régulent l'initiation des racines du riz en réponse à l'auxine et aux cytokinines (figure 4).

Mutants affectés dans le développement et l'émergence des racines nodales

Le développement et l'émergence des racines nodales sont aussi régulés par l'auxine. En effet, le gène *OsWOX11* est exprimé au niveau de la zone de division cellulaire, suggérant qu'il joue aussi un rôle dans le développement des racines. Par ailleurs, dans des

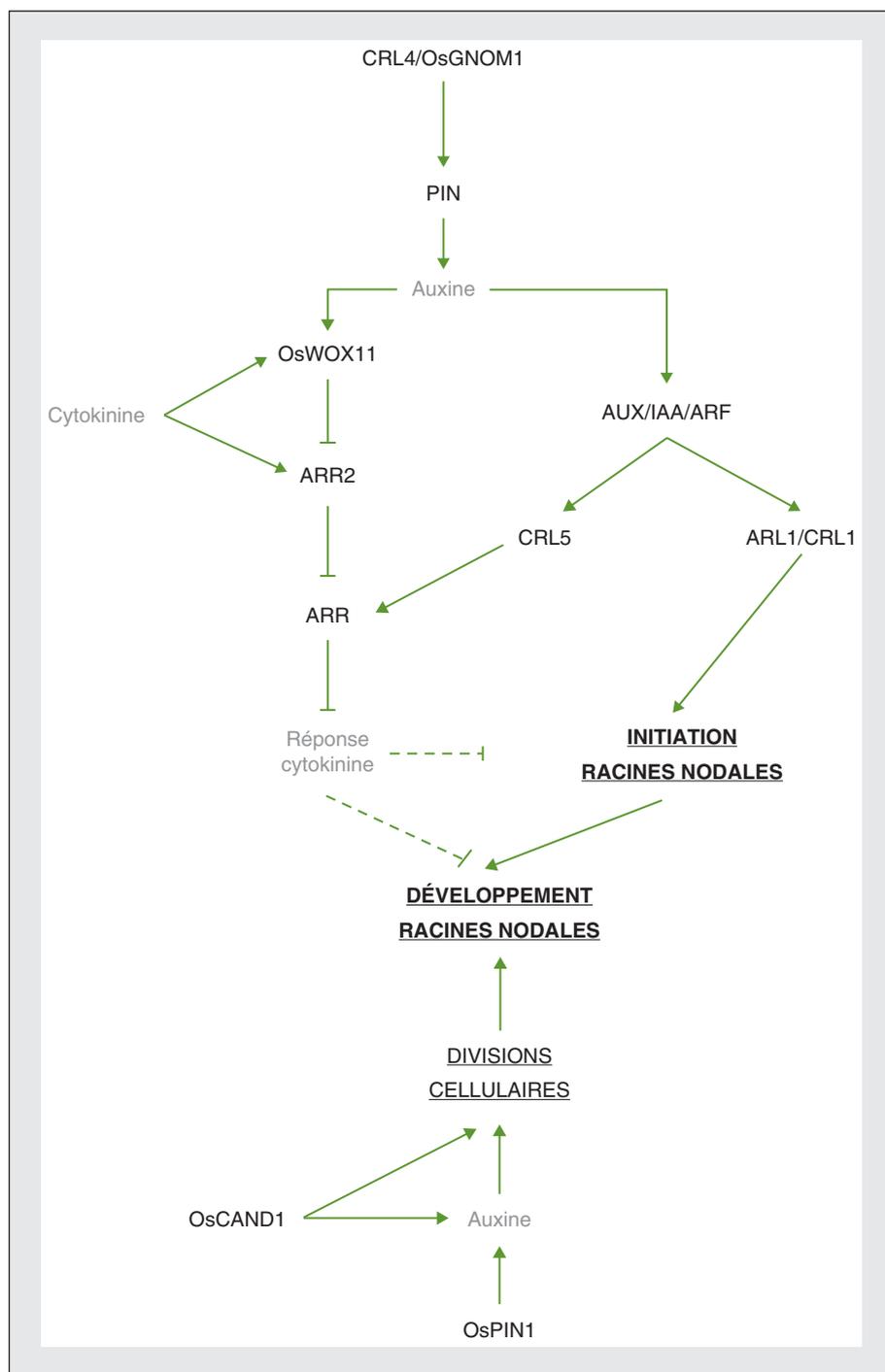


Figure 4. Réseau de régulation génétique contrôlant l'initiation et le développement des racines nodales.

Figure 4. Gene network controlling the initiation and development of nodal roots.

Les flèches représentent une action positive d'un élément du réseau sur un autre. Un trait terminé par un trait perpendiculaire représente une action inhibitrice d'un élément du réseau sur un autre. Une ligne en pointillés représente une relation hypothétique entre deux éléments du réseau.

ARF : Auxin Response Factor ; ARL : Adventitious Root Less ; ARR : type-A Response Regulator 2 ; AUX/IAA : Auxin/Indole-3-Acetic Acid ; CAND1 : Cullin-Associated and Neddylation-Dissociated 1 ; CR : Crown Root ; CRL : Crown Root Less ; GNOM1 : membrane-associated guanine-nucleotide exchange factor of the ADP-ribosylation factor G protein (ARF-GEF) ; PIN : PINFORMED auxin efflux carrier proteins ; WOX11 : WUSCHEL-Related Homeobox 1.

plantes où l'expression du gène *OsPIN1* est inhibée par interférence RNA, le développement et l'émergence des racines sont fortement inhibés (Xu *et al.*, 2005).

Dans le mutant *Oscand1* (cv Kasalath), les racines se forment normalement mais leur développement est inhibé et elles n'émergent pas (Wang *et al.*, 2011). Ce phénotype est partiellement réprimé par un apport exogène d'auxine. *OsCAND1* est l'orthologue de *CAND1* d'*Arabidopsis*, qui code une protéine de type *cullin-associated and neddylation-dissociated 1* impliquée dans la voie de signalisation de l'auxine *via* les protéines régulatrices de type AUX/IAA/ARF (Gray *et al.*, 2001 ; Cheng *et al.*, 2004 ; Chuang *et al.*, 2004). Les plantes mutantes *Oscand1* présentent une désorganisation de la répartition de l'auxine dans les méristèmes de racines nodales. Cette désorganisation est associée à une inhibition de l'expression de gènes impliqués dans la transition de phase G2/M du cycle cellulaire. Ces éléments indiquent qu'*OsCAND1* contribue probablement à la régulation des flux d'auxine et de l'expression de gènes impliqués dans le cycle cellulaire indispensables au développement et à l'émergence des racines.

Un résumé des éléments génétiques contrôlant l'initiation et le développement des racines nodales chez le riz est présenté dans la *figure 4*. Tous les membres de ce réseau de gènes représentent des candidats de premier ordre pour expliquer une partie de la variation de l'architecture racinaire chez le riz.

Génétique directe

Cartographie de QTL

La première cartographie de QTL portant sur l'architecture racinaire du riz a été conduite par Champoux *et al.* (1995). Elle a été suivie par de nombreuses autres, portant sur des populations ou des conditions environnementales différentes (conditions aérobies ou anaérobies, situations favorables ou de contraintes en termes de compaction du sol ou de conditions hydriques). Les résultats de ces études ont été compilés dans des bases de données comme Gramene

(www.gramene.org) ou TropGeneDB (<http://tropgenedb.cirad.fr>), qui, en exploitant la synténie entre espèces phylogénétiquement proches (similitude de l'ordonnement des gènes sur les chromosomes), permettent des comparaisons de positions de ces QTL chez les céréales. La dernière synthèse publiée recensait 675 QTL détectés dans 12 populations différentes pour 29 paramètres racinaires tels que nombre de racines, profondeur maximale atteinte par les racines, épaisseur des racines, ratio biomasse racinaire/biomasse aérienne ou index de pénétration racinaire (Courtois *et al.*, 2009). La projection de ces QTL sur la carte du génome du riz montrait six zones de concentration particulières de QTL sur les chromosomes 1, 2, 3, 7, 9 et 11. Les QTL de profondeur racinaire ayant les effets les plus forts ont été utilisés pour développer, par sélection assistée par marqueurs (SAM), des lignées quasi isogéniques (NIL) portant l'allèle favorable des QTL (Yadav *et al.*, 1997; Price *et al.*, 2000). Ces NIL ont permis de valider l'effet des QTL sur les caractères racinaires à la fois dans le fond génétique dans lequel ils avaient été initialement détectés (Shen *et al.*, 2001) et dans un fond génétique différent (Steele *et al.*, 2007). Dans ce dernier cas, les NIL ont été testées au champ (Steele *et al.*, 2007) et une variété, Vikas Dhan111, en a été dérivée. Celle-ci surpasse de 10 % le rendement du parent récurrent en conditions de stress hydrique. Cet exemple montre que la connaissance du gène sous-tendant le QTL n'est pas forcément indispensable pour entamer un travail de sélection. Cependant, d'autres études ont montré que l'efficacité de la SAM pour les caractères racinaires serait considérablement améliorée s'il était possible de réduire la taille des segments chromosomiques manipulés (Steele *et al.*, 2007). L'intervalle de confiance sur la position de QTL détectés dans des populations de cartographie de taille courante (100 à 200 individus) est en effet rarement inférieur à 5 centiMorgan (cM) et dépasse parfois 30 cM.

Méta-analyse pour améliorer la précision de la localisation des QTL

La méta-analyse de QTL est une méthode statistique qui permet de

combiner les résultats d'études indépendantes, afin de déterminer le nombre de QTL consensus ou « méta-QTL » sous-tendant les QTL observés, et de positionner les méta-QTL avec une meilleure précision (Goffinet *et al.*, 2000). Cette méthode a été utilisée récemment sur les QTL racinaires du riz en utilisant les logiciels BioMercator et MetaQTL, à la fois sur une population particulière (Khowaja *et al.*, 2009) et sur un groupe de populations (Courtois *et al.*, 2009). En moyenne, la longueur de l'intervalle de confiance sur la position des méta-QTL était réduite de 52 %. Les méta-QTL avec les plus petits intervalles de confiance recouvraient moins d'une dizaine de gènes dits « candidats ». Par exemple, l'intervalle 10-23 Méga bases (Mb) sur le chromosome 9 porte 14 QTL de profondeur racinaire qui correspond à un unique méta-QTL de 0,002 Mb d'intervalle de confiance (*figure 5*). Cet intervalle ne contient plus que 3 gènes (Courtois *et al.*, 2009). Une méta-analyse peut être combinée à des études d'expression pour réduire le nombre de gènes candidats (Norton *et al.*, 2008).

Études d'associations

Face à la faible précision sur la position des QTL due au nombre limité de générations de recombinaisons dans les populations de cartographie (6 à 8 générations au maximum), de nouvelles méthodes utilisant des populations avec un taux de recombinaison plus élevé ont été développées. Il s'agit soit de collections ou « panels d'association », représentatifs de la diversité de l'espèce ou de matériel d'un programme de sélection, exploitant les nombreux événements de recombinaisons qui se sont produits depuis la domestication de l'espèce (soit il y a environ 10 000 ans pour le riz), soit des populations hautement recombinantes par construction comme les populations NAM (*Nested Association Mapping*) (Yu *et al.*, 2008) ou MAGIC (*Multiparent Advanced Generation Inter-Cross*) (Cavanagh *et al.*, 2008). Dans le cas des panels d'association, la détection de QTL ou « étude d'association » s'est montrée très efficace sur toute une gamme de caractères

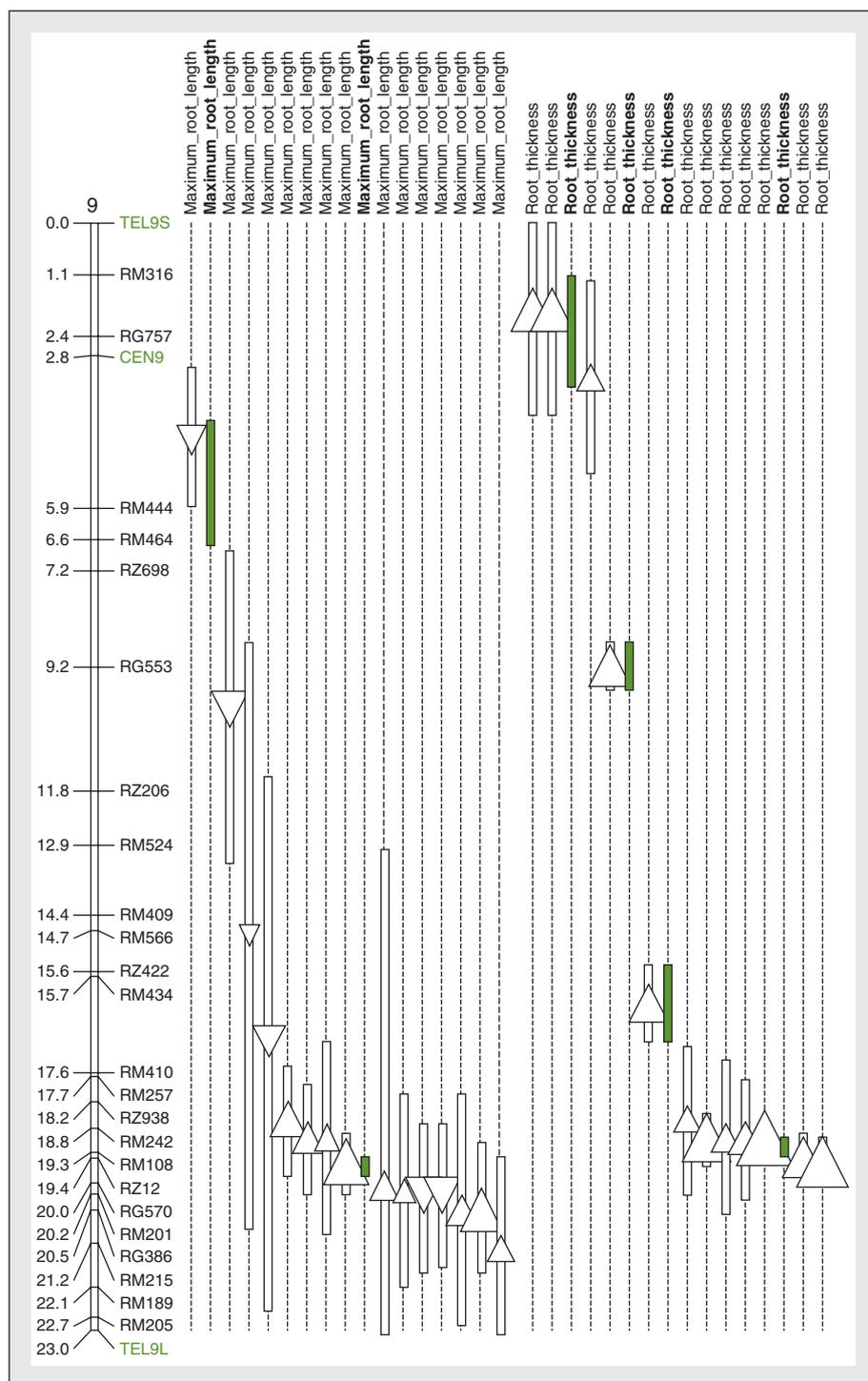


Figure 5. Position de QTL d'architecture racinaire (profondeur maximale et épaisseur des racines) identifiés sur le chromosome 9 dans les études conduites entre 1995 et 2007 (distances en Mb).

Figure 5. QTL root architecture position (maximum depth and thickness of roots) identified on chromosome 9 in studies conducted between 1995 and 2007 (distances in Mb).

En vert, les méta-QTL qui en sont dérivés. Les traits indiquent la longueur de l'intervalle de confiance du QTL ; la grandeur des triangles est proportionnelle à l'importance de l'effet du QTL.

agronomiques chez le riz (Huang *et al.*, 2010 ; Zhao *et al.*, 2011 ; Huang *et al.*, 2012). Les panels d'association sont désormais en cours d'utilisation pour étudier les bases génétiques des caractères racinaires comme par exemple dans le cadre du projet Orytage du Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad) ou du projet européen EUroot (<http://www.euroot.eu/>). En revanche, aucune population hautement recombinante n'a encore été utilisée chez le riz, mais les résultats obtenus sur d'autres espèces se révèlent prometteurs.

À ce jour, aucun QTL de développement racinaire n'a été cloné chez le riz. Ce fait est dû à la faible part de variance phénotypique qu'explique individuellement chaque QTL et à la difficulté de phénotyper des centaines de recombinants pour des paramètres racinaires. Néanmoins, des travaux en ce sens sont en cours en France pour des QTL de profondeur racinaire sur les chromosomes 2 and 9 (Ahmadi pers. comm.) et au Japon pour un QTL d'angle racinaire sur le chromosome 9 (Yano. pers. comm.).

Conclusion

Si l'intérêt de l'étude du système racinaire dans le cadre du développement de variétés adaptées à une agriculture changeante est aujourd'hui bien établi, les défis restent nombreux. Phénotyper le système racinaire reste un goulet d'étranglement, à la fois pour avancer rapidement dans l'étude des mécanismes de développement et pour identifier les variétés dotées d'un système racinaire favorable. De nombreux laboratoires travaillent actuellement sur cette question afin de répondre à un cahier des charges qui permette le suivi spatio-temporel du développement racinaire dans les conditions les plus proches de celles du champ. Dans ce cadre, un système de phénotypage racinaire du riz, le Rhizoscope, a été récemment mis au point au Cirad et d'autres systèmes sont en construction en Europe (<http://www.plantphenomics.com>). Un autre point concerne le niveau de variabilité génétique utilisé ou utilisable en sélection. Est-ce que la

variabilité génétique existante au sein de l'espèce *O. sativa* est suffisante pour créer des variétés qui répondent aux nouveaux défis de la riziculture ou faut-il augmenter cette variabilité ? À court terme, l'exploitation de la variabilité génétique existante par la sélection assistée par marqueur sera privilégiée. À plus long terme, on aura vraisemblablement recours aux croisements interspécifiques et à la transgénèse pour augmenter la variabilité génétique exploitable.

Une bonne compréhension du déterminisme génétique du développement racinaire du riz sera un élément clé pour l'identification d'allèles favorables. Celle-ci sera facilitée par les grands projets de reséquençage (Wing *et al.*, 2005) et à venir. La syntenie entre les céréales (Delseny, 2004 ; Devos, 2005) facilitera et accélèrera la transposition des connaissances acquises chez le riz vers d'autres céréales. Des allèles favorables existant chez des espèces apparentées, telle que *O. glaberrima*, pourront être utilisés pour augmenter la diversité disponible pour l'amélioration d'*O. sativa*. De même, en agissant par transformation génétique sur l'expression des gènes qui contrôlent la mise en place des tissus racinaires ou des racines nodales, au niveau des méristèmes, il sera possible de développer de nouvelles variétés possédant des caractères adaptatifs et/ou évolutifs de tolérance à la sécheresse.

Enfin, une stratégie de sélection efficace exploitant à la fois les nouvelles ressources génétiques et les nouvelles technologies doit être mise en place. Étant donné la nature polygénique du déterminisme du développement racinaire, chaque gène n'expliquant qu'une faible part de la variabilité et les caractères à sélectionner, la SAM, visant un ou un petit nombre de gènes ne constituera probablement pas l'option la plus efficace sur le long terme. Des méthodes plus sophistiquées, comme la sélection récurrente assistée par marqueurs, seront probablement utilisées. La sélection génomique, ou sélection assistée par marqueurs qui porte sur l'ensemble d'un génome et non plus seulement sur quelques zones d'intérêt, pourrait également constituer un outil efficace de production de variétés améliorées.

Seule une approche multidisciplinaire, impliquant biologistes moléculaires,

généticiens, écophysiologistes, sélectionneurs et agronomes, permettra de mettre au point les variétés de riz qui seront nécessaires pour répondre aux défis actuels et futurs de l'agriculture mondiale. ■

Références

Benkova E, Hejatkó J, 2009. Hormone interactions at the root apical meristem. *Plant Molecular Biology* 69 : 383-96.

Bennett T, Scheres B, 2010. Root development—two meristems for the price of one? *Current Topics in Developmental Biology* 91 : 67-102.

Cavanagh C, Morell M, Mackay I, Powell W, 2008. From mutations to MAGIC: resources for gene discovery, validation and delivery in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology* 11 : 215-21.

Champoux MC, Wang G, Sarkarung S, Mackill DJ, O'Toole JC, Huang N, *et al.*, 1995. Locating genes associated with root morphology and drought avoidance in rice via linkage to molecular markers. *Theoretical & Applied Genetics* 90 : 969-91.

Cheng Y, Dai X, Zhao Y, 2004. AtCAND1, a HEAT-repeat protein that participates in auxin signaling in Arabidopsis. *Plant Physiology* 135 : 1020-6.

Chuang HW, Zhang W, Gray WM, 2004. Arabidopsis ETA2, an apparent ortholog of the human cullin-interacting protein CAND1, is required for auxin responses mediated by the SCF(TIR1) ubiquitin ligase. *The Plant Cell* 16 : 1883-97.

Coudert Y, Perin C, Courtois B, Khong NG, Gantet P, 2010. Genetic control of root development in rice, the model cereal. *Trends in Plant Science* 15 : 219-26.

Coudert Y, Bes M, Van Anh Le T, Pre M, Guidardoni E, Gantet P, 2011. Transcript profiling of crown rootless1 mutant stem base reveals new elements associated with crown root development in rice. *BMC Genomics* 12 : 387.

Courtois B, Ahmadi N, Khowaja F, Price A, Rami JF, Frouin J, *et al.*, 2009. Rice Root Genetic Architecture: Meta-analysis from a Drought QTL Database. *Rice* 2 : 115-28.

Dello Ioio R, Nakamura K, Moubayidin L, Perilli S, Taniguchi M, Morita MT, *et al.*, 2008. A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science* 322 : 1380-4.

Delseny M, 2004. Re-evaluating the relevance of ancestral shared synteny as a tool for crop improvement. *Current Opinion in Plant Biology* 7 : 126-31.

Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M, 2005. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 435 : 441-5.

Droc G, Perin C, Fromentin S, Larmande P, 2009. OryGenesDB 2008 update: database interoperability for functional genomics of rice. *Nucleic Acids Research* 37 : D992-5.

Devos KM, 2005. Updating the 'crop circle'. *Current Opinion in Plant Biology* 8 : 155-62.

Fujii Y, 1961. Studies on the regularity of root growth in rice and wheat plants. *Agricultural Bulletin of the Saga University* 12 : 1-117.

Gray WM, Kepinski S, Rouse D, Leyser O, Estelle M, 2001. Auxin regulates SCF(TIR1)-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature* 414 : 271-6.

Goffinet B, Gerber S, 2000. Quantitative trait loci: a meta-analysis. *Genetics* 155 : 463-73.

Huang X, Wei X, Sang T, Zhao Q, Feng Q, Zhao Y, *et al.*, 2010. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nature Genetics* 42 : 961-7.

Huang X, Zhao Y, Wei X, Li C, Wang A, Zhao Q, *et al.*, 2012. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nature Genetics* 44 : 32-9.

Inukai T, Sakamoto T, Ueguchi-Tanaka M, Shibata Y, Gomi K, Umemura I, *et al.*, 2005. Crown rootless1, which is essential for crown root formation in rice, is a target of an AUXIN RESPONSE FACTOR in auxin signaling. *Plant Cell* 17 : 1387-96.

Itoh J, Nonomura K, Ikeda K, Yamaki S, Inukai Y, Yamagishi H, *et al.*, 2005. Rice plant development: from zygote to spikelet. *Plant Cell Physiology* 46 : 23-47.

Iyer-Pascuzzi AS, Benfey PN, 2009. Transcriptional networks in root cell fate specification. *Biochim Biophys Acta Journal* 1789 : 315-25.

Jannink JL, Walsh B, 2002. Association mapping in plant populations. In: Kang MS, ed. *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*. Londres : CAB International.

Kamiya N, Itoh J, Morikami A, Nagato Y, Matsuoka M, 2003a. The SCARECROW gene's role in asymmetric cell divisions in rice plants. *Plant Journal* 36 : 45-54.

Kamiya N, Nagasaki H, Morikami A, Sato Y, Matsuoka M, 2003b. Isolation and characterization of a rice WUSCHEL-type homeobox gene that is specifically expressed in the central cells of a quiescent center in the root apical meristem. *Plant Journal* 35 : 429-41.

Kaufman PB, 1959. Development of the shoot of *Oryza sativa* L. III. early stages in histogenesis of the stem and ontogeny of the adventitious root. *Phytomorphology* 9 : 382-404.

Kawata S, Yamazaki K, Ishihara H, Shibayama H, Lai KC, 1963. Studies on root system formation in rice plants in a paddy field: an example of its relationship with the growth stage. *Proceedings of Crop Science Society of Japan* 32 : 163-80.

Kawata S, Harada J, 1975. On the Development of the Crown Root Primordia in Rice Plants. *Proceedings of Crop Science Society of Japan* 44 : 438-57.

Kawata S, Katano M, Yamazaki K, 1977. Root system formation in rice plants in ill-drained and well-drained paddy field conditions. *Japanese Journal of Crop Science* 46 : 261-8.

Kepinski S, Leyser O, 2005. The Arabidopsis F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 435 : 446-51.

Khowaja FS, Norton GJ, Courtois B, Price AH, 2009. Improved resolution in the position of drought-related QTLs in a single mapping population of rice by meta-analysis. *BMC Genomics* 10 : 276.

Kitomi Y, Ito H, Hobo T, Aya K, Kitano H, Inukai Y, 2011. The auxin responsive AP2/ERF transcription factor CROWN ROOTLESS5 is involved in crown

- root initiation in rice through the induction of OsRR1, a type-A response regulator of cytokinin signaling. *Plant Journal* 67 : 472-84.
- Kitomi Y, Kitano H, Inukai Y, 2011. Molecular mechanism of crown root initiation and the different mechanisms between crown root and radicle in rice. *Plant Signaling and Behavior* 6 : 1270-8.
- Krishnan A, Guiderdoni E, An G, Hsing YI, Han CD, Lee MC, *et al.*, 2009. Mutant resources in rice for functional genomics of the grasses. *Plant Physiology* 149 : 165-70.
- Laplaze L, Benkova E, Casimiro I, Maes L, Vanneste S, Swarup R, *et al.*, 2007. Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation. *Plant Cell* 19 : 3889-900.
- Laplaze L, Parizot B, Baker A, Ricaud L, Martiniere A, Auguy F, *et al.*, 2005. GAL4-GFP enhancer trap lines for genetic manipulation of lateral root development in Arabidopsis thaliana. *Journal of Experimental Botany* 56 : 2433-42.
- Liu S, Wang J, Wang L, Wang X, Xue Y, Wu P, *et al.*, 2009. Adventitious root formation in rice requires OsGNOM1 and is mediated by the OsPINs family. *Cell Research* 19 : 1110-9.
- Liu H, Wang S, Yu X, Yu J, He X, Zhang S, *et al.*, 2005. ARL1, a LOB-domain protein required for adventitious root formation in rice. *Plant Journal* 43 : 47-56.
- Lorieux M, Blein M, Lozano J, Bouniol M, Droc G, Dievart A, *et al.*, 2012. In-depth molecular and phenotypic characterization in a rice insertion line library facilitates gene identification through reverse and forward genetics approaches. *Plant Biotechnology Journal* 10 : 555-68.
- Mambani B, Lal R, 1983. Response of upland rice varieties to drought stress. *Plant and Soil* 73 : 95-104.
- Matsumura Y, Iwakawa H, Machida Y, Machida C, 2009. Characterization of genes in the ASYMMETRIC LEAVES2/LATERAL ORGAN BOUNDARIES (AS2/LOB) family in Arabidopsis thaliana, and functional and molecular comparisons between AS2 and other family members. *Plant Journal* 58 : 525-37.
- Norton GJ, Aitkenhead MJ, Khowaja FS, Whalley WR, Price AH, 2008. A bioinformatic and transcriptomic approach to identifying positional candidate genes without fine mapping: an example using rice root-growth QTLs. *Genomics* 92 : 344-52.
- Okushima Y, Fukaki H, Onoda M, Theologis A, Tasaka M, 2007. ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of LBD/ASL genes in Arabidopsis. *Plant Cell* 19 : 118-30.
- Overvoorde P, Fukaki H, Beeckman T, 2010. Auxin control of root development. *Cold Spring Harbor Perspectives Biology* 2 : a001537.
- Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD, 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature* 335 : 721-6.
- Pauluzzi G, Divol F, Puig J, Guiderdoni E, Dievart A, Perin C, 2012. Surfing along the root ground tissue gene network. *Developmental Biology* 365 : 14-22.
- Peret B, De Rybel B, Casimiro I, Benkova E, Swarup R, Laplaze L, *et al.*, 2009. Arabidopsis lateral root development: an emerging story. *Trends in Plant Science* 14 : 399-408.
- Price HA, Steele KA, Moore BJ, Barraclough PP, Clark LJ, 2000. A combined RFLP and AFLP linkage map of upland rice (*Oryza sativa* L.) used to identify QTLs for root-penetration ability. *Theoretical and Applied Genetics* 100 : 49-56.
- Price AH, Steele KA, Moore BJ, Jones RGW, 2002. Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water-deficit regimes: II. Mapping quantitative trait loci for root morphology and distribution. *Field Crops Research* 76 : 25-43.
- Rebouillat J, Dievart A, Verdeil JL, Escoute J, Giese G, Breitler J, *et al.*, 2009. Molecular Genetics of Rice Root Development. *Rice* 2 : 15-34.
- Reyniers FN, Jacquot M, 1978. Démarche pour l'obtention de la résistance variétale à la sécheresse. *Cas du riz pluvial. L'Agronomie Tropicale* 33 : 314-7.
- Shen L, Courtois B, McNally KL, Robin S, Li Z, 2001. Evaluation of near-isogenic lines of rice introgressed with QTLs for root depth through marker-aided selection. *Theoretical and Applied Genetics* 103 : 75-83.
- Steele KA, Virk DS, Kumar R, Prasad SC, Witcombe JR, 2007. Field evaluation of upland rice lines selected for QTLs controlling root traits. *Field Crops Research* 101 : 180-6.
- Steinmann T, Geldner N, Grebe M, Mangold S, Jackson CL, Paris S, *et al.*, 1999. Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF. *Science* 286 : 316-8.
- To JP, Haberer G, Ferreira FJ, Deruere J, Mason MG, Schaller GE, *et al.*, 2004. Type-A Arabidopsis response regulators are partially redundant negative regulators of cytokinin signaling. *Plant Cell* 16 : 658-71.
- Tuberosa R, Sanguineti MC, Landi P, Giuliani MM, Salvi S, Conti S, 2002. Identification of QTLs for root characteristics in maize grown in hydroponics and analysis of their overlap with QTLs for grain yield in the field at two water regimes. *Plant Molecular Biology* 48 : 697-712.
- Wang D, Pei K, Fu Y, Sun Z, Li S, Liu H, *et al.*, 2007. Genome-wide analysis of the auxin response factors (ARF) gene family in rice (*Oryza sativa*). *Gene* 394 : 13-24.
- Wang XF, He FF, Ma XX, Mao CZ, Hodgman C, Lu CG, *et al.*, 2011. OsCAND1 is required for crown root emergence in rice. *Molecular Plant* 4 : 289-99.
- Wilmoth JC, Wang S, Tiwari SB, Joshi AD, Hagen G, Guilfoyle TJ, *et al.*, 2005. NPH4/ARF7 and ARF19 promote leaf expansion and auxin-induced lateral root formation. *Plant Journal* 43 : 118-30.
- Wing RA, Ammiraju JS, Luo M, Kim H, Yu Y, Kudrna D, *et al.*, 2005. The oryza map alignment project: the golden path to unlocking the genetic potential of wild rice species. *Plant Molecular Biology* 59 : 53-62.
- Xu M, Zhu L, Shou H, Wu P, 2005. A PIN1 family gene, OsPIN1, involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice. *Plant Cell Physiology* 46 : 1674-81.
- Yadav R, Courtois B, Huang N, McLaren G, 1997. Mapping genes controlling root morphology and root distribution in a doubled-haploid population of rice. *Theoretical and Applied Genetics* 94 : 619-32.
- Yu J, Holland JB, McMullen MD, Buckler ES, 2008. Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. *Genetics* 178 : 539-51.
- Zhao K, Tung CW, Eizenga GC, Wright MH, Ali ML, Price AH, *et al.*, 2011. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nature Communications* 2 : 467.
- Zhao Y, Hu Y, Dai M, Huang L, Zhou DX, 2009. The WUSCHEL-related homeobox gene WOX11 is required to activate shoot-borne crown root development in rice. *Plant Cell* 21 : 736-48.