



## **Journées du PROTÉOME VERT**

9 et 10 Juin 2022

IDEEV, Université Paris-Saclay

Gif-sur-Yvette

**Résumés / Abstracts**

## Programme

### Jeudi 9 juin

- 14h-14h45 **Anne Goelzer** - MaIAGE INRAE-Jouy en Josas  
Towards a multi-scale resource allocation model of Arabidopsis
- 14h45-15h05 **Hakim Mireau** - IJPB INRAE-Versailles  
Méthodes de marquage de proximité pour l'analyse des interactions protéine-protéine
- 15h05-15-25 **Véronique Santoni** – IPSiM Montpellier  
Interplay between phosphorylation and ubiquitination to regulate aquaporin function under osmotic stress
- 15h25-15h45 **Emmanuel Baudouin** - IBPS UPMC Paris  
Remodelage du phosphoprotéome des graines d'Arabidopsis au cours de la germination

### 15h45-16h05 Pause

- 16h05-16h25 **Nathalie Berger** - IPSiM Montpellier  
Identification of client proteins of the chloroplastic iron-sulfur transfer protein NFU2 in Arabidopsis thaliana.
- 16h25-16h45 **Harold Duruflé** - BioForA INRAE Orléans  
Protéome du Douglas : une nouvelle ressource pour la recherche génomique
- 16h45-17h05 **Titouan Bonnot** - Agroéco INRAE Dijon  
Des potentiels régulateurs des réponses au stress hydrique et à la carence en soufre identifiés grâce à une analyse multi-omiques chez le pois
- 17h05-17h25 **Mélanie Blein-Nicolas** GQE-PAPPSO, Le Moulon  
Développements vers la protéomique végétale à haut-débit

### Vendredi 10 Juin

- 9h30-10h15 **Laurence Lejay** - IPSiM Montpellier  
Post-translational regulation of the root nitrate transporter NRT2.1 in Arabidopsis thaliana
- 10h15-10h35 **Annick Moing** - BFP INRAE Bordeaux  
Combining phenotypic, metabolome and proteome data to study maize response to a mild nitrogen deficit
- 10h35-10h55 **Sylvie Coursol** - IJPB INRAE Versailles  
titre à venir
- 10h55-11h15 **Yacine Djabali** - GQE Le Moulon  
Rôles des variations structurales dans la construction des caractères moléculaires et phénotypiques

### 11h15-11h30 Pause

- 11h30-11h50 **Maxence James** - UGSF Lille  
Multi-omic analysis of 2 maize near- isogenic lines for cold tolerance QTLs
- 11h50-12h35 **Michel Zivy** - GQE-PAPPSO Le Moulon  
Variation génétique de la réponse des plantes aux variations environnementales : que peut nous dire la protéomique ?

# **Towards a multi-scale resource allocation model of *Arabidopsis thaliana***

**Anne Goelzer**

*MaIAGE INRAE-Jouy en Josas*

Predicting quantitatively the behavior of living organisms from the finest scales to the individual scale in normal and complex environmental conditions remains highly challenging for the system biology community. Part of the difficulty consists in integrating the scales where the decisions of the adaptation to the environment take place, i.e. the cellular and infra-cellular scales, in the context of the individual. Over the last ten years, a significant step has been achieved in the modeling of cellular and infra-cellular scales in microbial cells. We developed and validated experimentally on microbial cells a new modeling method, named Resource Balance Analysis (RBA). RBA predicts for a specific environment, the set of possible cellular configurations (growth rate, metabolic fluxes, abundances of molecular machines, including ribosomes, enzymes, transporters) compatible with the available external resources, and has the potential to predict the cell response to a large set of complex environmental conditions. Recently, the RBA theoretical framework was extended to eukaryotic cells and used to generate a RBA model for the shoot compartment of the plant *Arabidopsis thaliana*. In this talk, we will introduce the RBA modeling framework, illustrate its ability to predict plant phenotypes in normal and complex environmental conditions - conditions where environmental abiotic constraints (stresses) combine - and how proteomics will help to refine, specialize and calibrate the RBA model for different tissues or developmental stages.

# Méthodes de marquage de proximité pour l'analyse des interactions protéine-protéine

**Hakim Mireau**

*Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB), 78000, Versailles, France.*

Protein-protein interactions are of crucial importance for all cellular and developmental processes. Mapping these interactions is thus extremely informative for most research programs but technically challenging. Recently, proximity-based biotinylation has emerged as a technology of choice for the characterization of protein interaction networks. In this system, proteins are expressed in fusion with derivatives of the *E. coli* biotin ligase BirA (ie TurboID) that biotinylates proximal and interacting proteins. Biotin-labelled protein partners are then simply purified through streptavidin pull-down and identified by mass spectrometry. During the presentation, I will present the technology and some recent evolutions of it, as well as some results that we obtained to define the protein interactome of several mitochondria-targeted RNA-binding plant proteins.

# Interplay between phosphorylation and ubiquitination to regulate aquaporin function under osmotic stress

M. Di Pietro, N. Berger, V. Rofidal, S. Hem, L. Verdoucq, C. Maurel, V. Santoni

IPSiM, CNRS, INRAE, Institut Agro, University Montpellier, 34060 Montpellier, France

Maintaining water balance in plant cells and organs involves control of water fluxes, and hence, a tight regulation of water channels (also called aquaporins) in plant cell membranes [1, 2]. In *Arabidopsis*, 35 homologs comprised in four homology subclasses have been identified. The plasma membrane intrinsic proteins (PIPs; with 13 isoforms further subdivided in the PIP1 and PIP2 subgroups) are the most abundant aquaporins in the plasma membrane. An excellent mechanism for fine-tuning the function of channels can be provided by post-translational modifications (PTMs). PTMs are central to regulate protein structure and function and thereby to modulate and control protein catalytic activity, subcellular localization, stability, and interaction with other partners. We showed that a short-term osmotic treatment induces a maximal root hydraulic conductivity inhibition by 60% that could be accounted for a decrease in PIPs function [3] and not in PIPs degradation since their cellular abundance remains stable [4]. By contrast, such treatment induced PIP2;1 internalization [5]. Using proteomics, we described PIPs as being modifiable by phosphorylation, acetylation, methylation, deamidation and ubiquitination [3, 4, 6, 7]. The MS quantification of phosphorylation and ubiquitination provided evidences for an interplay between phosphorylation and ubiquitination at the C-terminus of a major aquaporin (PIP2;1) [4]. We hypothesize that such interplay governs PIP2;1 internalization under osmotic stress. Perspectives will be discussed in terms of characterization of modifying enzymes involved in PIP2;1 internalization.

1. Maurel, C.; Boursiac, Y.; Luu, D.-T.; Santoni, V.; Shahzad, Z.; Verdoucq, L., Aquaporins in Plants. *Physiological reviews* **2015**, 95, (4), 1321-58.
2. Maurel, C.; Tournaire-Roux, C.; Verdoucq, L.; Santoni, V., Hormonal and environmental signaling pathways target membrane water transport. *Plant Physiology* **2021**, 187, (4), 2056-2070.
3. Di Pietro, M.; Vialaret, J.; Li, G.-W.; Hem, S.; Prado, K.; Rossignol, M.; Maurel, C.; Santoni, V., Coordinated post-translational responses of aquaporins to abiotic and nutritional stimuli in *Arabidopsis* roots. *Molecular and Cellular Proteomics* **2013**, 12, 3886-3897.
4. Berger, N.; Demolombe, V.; Hem, S.; Rofidal, V.; Steinmann, L.; Krouk, G.; Crabos, A.; Nacry, P.; Verdoucq, L.; Santoni, V., Root membrane ubiquitinome under short-term osmotic stress. *International Journal of Molecular Sciences* **2022**, 23, (4).
5. Martiniere, A.; Fiche, J. B.; Smokvarska, M.; Mari, S.; Alcon, C.; Dumont, X.; Hematy, K.; Jaillais, Y.; Nollmann, M.; Maurel, C., Osmotic stress activates two reactive oxygen species pathways with distinct effects on protein nanodomains and diffusion. *Plant Physiology* **2019**, 179, (4), 1581-1593.
6. Santoni, V., Plant aquaporin posttranslational regulation. Signaling and Communication in Plants - Plant Aquaporins: From Transport to Signaling *François Chaumont, Stephen D. Tyerman ed* **2017**, (Signaling and Communication in Plants ), 83-105.
7. Santoni, V.; Verdoucq, L.; Sommerer, N.; Vinh, J.; Pflieger, D.; Maurel, C., Methylation of aquaporins in plant plasma membrane. *Biochem. J.* **2006**, 400, (1), 189-197.

# Remodelage du phosphoprotéome des graines d'*Arabidopsis* au cours de la germination

**Emmanuel Baudouin<sup>1\*</sup>, Juliette Puyaubert<sup>1</sup>, Patrice Meimoun<sup>1</sup>, Mélisande Blein-Nicolas<sup>2</sup>, Marlène Davanture<sup>2</sup>, Michel Zivy<sup>2</sup> and Christophe Bailly<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Sorbonne Université, CNRS, Institut de Biologie Paris-Seine (IBPS), Laboratoire de Biologie du Développement, UMR 7622, , F-75005, Paris, France.*

<sup>2</sup>*Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, GQE-Le Moulon, F-91190, Gif-sur-Yvette, France - PAPPSO, doi.org/10.15454/1.5572393176364355E12, GQE-Le Moulon, F-91190, Gif-sur-Yvette, France*

La germination est une étape critique pour l'établissement et la robustesse des plantules, et impacte le développement et la performance ultérieurs des plantes dans les écosystèmes naturels et les agrosystèmes. Dans ce contexte, la dormance, processus physiologique qui restreint la capacité germinative des graines, est essentiel pour limiter la germination aux seules conditions environnementales assurant un développement optimal des jeunes plantules. Le décryptage des réseaux de signalisation qui contrôlent ces deux processus est un élément central pour comprendre comment les différents signaux environnementaux et hormonaux qui les régulent sont intégrés et restreignent ou promeuvent la germination.

Au cours de cette étude, nous avons recherché les modifications du phosphoprotéome au cours de l'imbibition des graines d'*Arabidopsis*. L'analyse des protéines/peptides phosphorylés a été réalisée par marquage stable par isotope diméthyle suivi d'une analyse par nanoLC-MS/MS, sur des graines fraîchement récoltées et imbibées à l'obscurité ou à la lumière, conditions restreignant ou favorisant la germination. Un large répertoire de 1547 phosphoprotéines, incluant 110 protéines kinases et des régulateurs-clé de la germination des graines, a été établi. La majorité des phosphoprotéines identifiées n'a été détectée que dans les graines sèches. Au cours des phases précoces d'imbibition, le nombre de phosphoprotéines détectées décroît massivement dans les graines dormantes et non dormantes. En revanche, après 24h d'imbibition, plus de 400 phosphoprotéines spécifiques des graines non dormantes ont été détectées. Les analyses ontologiques révèlent leur implication dans le métabolisme des ARN et des protéines, le transport et la signalisation. De plus, 489 phosphopeptides ont été quantifiés dont 234 présentent des différences d'abondance pendant l'imbibition. La construction de réseaux d'interaction et l'analyse des motifs de phosphorylation mettent en évidence l'existence de modules de signalisation potentiels impliqués dans le contrôle de la germination.

Notre étude fournit une première vue détaillée des modifications du phosphoprotéome en relation avec la régulation de la levée de la dormance et de la germination des graines chez *Arabidopsis*. De plus, elle met en évidence que la phosphorylation/déphosphorylation pourrait être un nouveau mécanisme de contrôle de régulateurs de la germination déjà connus.

## Identification of client proteins of the chloroplastic iron-sulfur transfer protein NFU2 in *Arabidopsis thaliana*

**Nathalie Berger<sup>1</sup>, Florence Vignols<sup>1</sup>, Jonathan Przybyla-Toscano<sup>2</sup>, Mélanie Roland<sup>2</sup>, Valérie Rofidal<sup>1</sup>, Brigitte Touraine<sup>1</sup>, Krzysztof Zienkiewicz<sup>3</sup>, Jérémy Couturier<sup>2</sup>, Ivo Feussner<sup>3</sup>, Véronique Santoni<sup>1</sup>, Nicolas Rouhier<sup>2</sup>, Frédéric Gaymard<sup>1</sup>, Christian Dubos<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> BPMP, Université de Montpellier, CNRS, INRAE, SupAgro, Montpellier, France

<sup>2</sup> Université de Lorraine, Inra, IAM, F-54000 Nancy, France

<sup>3</sup> Department of Plant Biochemistry, Albrecht-von-Haller-Institute for Plant Sciences and Göttingen Center for Molecular Biosciences (GZMB), University of Göttingen, 37077 Göttingen, Germany

Iron-sulfur (Fe-S) proteins have critical functions in plastids, participating notably to the photosynthetic electron transfer, sulfur and nitrogen assimilation, chlorophyll metabolism and vitamin or amino acid biosynthesis. Their maturation relies on an assembly machinery referred to as the SUF machinery. *De novo* synthesized Fe-S clusters on a scaffold protein complex are delivered to client proteins *via* several transfer proteins. However, the maturation pathways of most client proteins and their specificities towards transfer proteins are mostly unknown. In order to decipher the interacting proteins of the Fe-S cluster transfer protein NFU2, one of the three chloroplastic representatives found in *Arabidopsis thaliana*, we have performed a quantitative analysis of the shoot, root and seedlings proteomes of *nfu2* plants. Combined with NFU2 co-immunoprecipitation and binary yeast two-hybrid experiments, we identified 12 new targets, whose interactions with NFU2 were validated *in planta* using bimolecular fluorescence complementation experiments. These analyses also revealed a possible role for NFU2 in plant response to desiccation. Altogether this study allows delineating the maturation pathways of many Fe-S proteins, extending considerably the number of NFU2 clients. It also helps clarifying the respective roles of the three chloroplastic NFUs.

# Protéome du Douglas : une nouvelle ressource pour la recherche génomique

Caroline Teyssier<sup>1\*</sup>, Florian Gautier<sup>1</sup>, Odile Rogier<sup>1</sup>, Stéphane Claverol<sup>2</sup>, Marie-Anne Lelu-Walter<sup>1</sup>, Harold Duruflé<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRAE, ONF, BioForA, UMR 0588, F-45075 Orleans, France

<sup>2</sup> Plateforme de Protéomique, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

[caroline.teyssier@inrae.fr](mailto:caroline.teyssier@inrae.fr) (+33 (0)238 417 823)

Le douglas est un conifère originaire des Etats-Unis, dont les plantations sont en expansion en France sur la base de ses nombreux atouts (Bastien et al., 2013): forte croissance, bois de qualité, et bonne adaptation au futur climat français. Il fait l'objet de programmes d'amélioration génétique, nécessitant la connaissance de son patrimoine génétique et le développement de marqueurs génétiques. Les progrès très lents dans ce domaine, pour le douglas comme pour l'ensemble du genre *Pinus*, s'expliquent facilement par la taille très importante de leurs génomes, ainsi que la présence de nombreuses séquences très répétées. Néanmoins, un transcriptome du douglas a été publié en 2017 (Neale et al., 2017) et sera complété d'ici peu par notre étude protéomique. En effet, nous avons réalisé l'identification et la quantification de protéomes par shotgun du douglas à partir des 12 tissus différents : racine, tige, xylème, feuille, bourgeons foliaire, fleur femelle et mâle, graine mature et immature, masse embryogène ou non et embryon somatique. Cette étude a permis l'identification de 3975 protéines différentes, dont la répartition selon les tissus a été analysée et sera présentée.

Bastien, J.-C., Sanchez, L., and Michaud, D. (2013). "Douglas-Fir ( *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco)" in *Forest tree breeding in Europe. Current State-of-the-Art and Perspectives*, ed. L. E. Pâques Springer), pp. 325-69.

Neale, D. B., McGuire, P. E., Wheeler, N. C., Stevens, K. A., Crepeau, M. W., Cardeno, C., Zimin, A. V., Puiu, D., Perteau, G. M., Sezen, U. U., Casola, C., Koralewski, T. E., Paul, R., Gonzalez-Ibeas, D., Zaman, S., Cronn, R., Yandell, M., Holt, C., Langley, C. H., Yorke, J. A., Salzberg, S. L., and Wegrzyn, J. L. (2017). The Douglas-Fir genome sequence reveals specialization of the photosynthetic apparatus in *Pinaceae*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. doi:10.1534/g3.117.300078

## Des potentiels régulateurs des réponses au stress hydrique et à la carence en soufre identifiés grâce à une analyse multi-omiques chez le pois

**Titouan Bonnot<sup>1</sup>, Charlotte Henriet<sup>1</sup>, Jonathan Kreplak<sup>1</sup>, Thierry Balliau<sup>2</sup>, Rémy-Félix Serre<sup>3</sup>, Alain Ourry<sup>4</sup>, Michel Zivy<sup>2</sup>, Vanessa Vernoud<sup>1,\*</sup> and Karine Gallardo<sup>1,\*</sup>**

<sup>1</sup> Agroécologie, AgroSup Dijon, INRAE, Univ. Bourgogne Franche-Comté, 21000 Dijon, France

<sup>2</sup> Plateforme d'Analyse de Protéomique Paris Sud-Ouest (PAPPSO), Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, UMR Génétique Quantitative et Évolution-Le Moulon, 91190 Gif-sur-Yvette, France

<sup>3</sup> US 1426 GeT-PlaGe, INRAE Auzeville, 31326, Castanet-Tolosan, Cedex, France

<sup>4</sup> UMR 950 Ecophysiologie Végétale, Agronomie et Nutritions N, C, S, Normandie Université, UNICAEN, INRAE, Caen, France

\* Ces auteurs ont contribué de manière égale

Dans leur environnement naturel, les plantes doivent faire face à plusieurs stress biotiques et abiotiques au cours de leur cycle de développement. Certains de ces stress peuvent survenir au même moment – comme le stress hydrique et les carences nutritionnelles – et peuvent avoir des effets synergiques, antagonistes ou additifs sur les réponses moléculaires des plantes. Chez le pois (*Pisum sativum*), il a été observé que l'effet de la carence en soufre (S) sur la composition protéique des graines peut être atténué lorsque cette carence est combinée à un stress hydrique (Henriet et al., 2019). Afin de mieux caractériser les réponses moléculaires du pois au stress hydrique et/ou à la carence en S, une analyse multi-omiques (transcriptomique, protéomique, métabolomique, ionomique) a été réalisée à partir de feuilles récoltées à différents jours post-floraison, sur différents lots de plantes ayant subi ou non un stress hydrique, une carence en S, ou une combinaison des deux stress. Nos analyses ont révélé que 21% des ARNm, protéines, métabolites et ions qui répondent significativement aux stress, ont une réponse accentuée lorsque les deux types de stress sont combinés, suggérant des effets synergiques ou additifs. En utilisant une approche intégrative de réseau de co-expression, nous avons mis en évidence des gènes fortement régulés par les changements de concentration en S dans les feuilles. La comparaison des données de transcriptomique et protéomique nous permet de formuler des hypothèses quant au niveau de régulation (transcriptionnel ou post-transcriptionnel) des gènes de réponse aux stress identifiés. Enfin, ce travail nous permet de proposer des listes de gènes candidats qui pourraient jouer un rôle dans la tolérance des plantes aux situations de multi-stress.

Henriet, C., Aimé, D., Térézol, M., Kilandamoko, A., Rossin, N., Combes-Soia, L., Labas, V., Serre, R.-F., Prudent, M., Kreplak, J., Vernoud, V., and Gallardo, K. (2019). Water stress combined with sulfur deficiency in pea affects yield components but mitigates the effect of deficiency on seed globulin composition. *J. Exp. Bot.* **70**: 4287–4304.

## Développements vers la protéomique végétale à haut-débit

**Mélisande Blein-Nicolas, Olivier Langella, Thomas Renne, Thierry Balliau, Marlène Davanture, Filippo Rusconi, Michel Zivy**

*PAPPSO, GQE-Le Moulon, Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, Gif-sur-Yvette, France*

Dans le contexte actuel de changement climatique et d'augmentation de la population humaine, l'amélioration végétale doit permettre de sécuriser les rendements des cultures tout en assurant une alimentation saine et durable aux consommateurs. Longtemps basées sur les seuls marqueurs génétiques, les méthodes de sélection végétale se tournent de plus en plus vers l'exploitation de données omiques collectées en aval du génome. Outre leur apport pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans l'élaboration des caractères d'intérêt agronomique, les données omiques permettent d'acquérir des endophénotypes (*i.e.* des mesures de caractères moléculaires), ouvrant ainsi l'accès à de nouvelles variations génétiques potentiellement intéressantes. Elles permettent également de mieux appréhender les interactions génotype x environnement (GxE) et ouvrent des perspectives pour affiner des modèles de prédiction phénotypique. Jusqu'à présent, ce sont principalement les données issues de la transcriptomique et de la métabolomique qui ont été utilisées dans ce type d'application. En raison du rôle essentiel des protéines dans l'ensemble des processus cellulaires et des régulations post-traductionnelles qu'elles intègrent, les données de protéomique devraient tenir une place importante dans ce type d'approche. Leur utilisation reste cependant limitée. Le verrou principal est lié à l'enchaînement d'étapes interdépendantes techniquement complexes qui impose un faible débit à la protéomique : de la préparation de l'échantillon à la chromatographie liquide hautes performances en couplage avec la spectrométrie de masse. La capacité des logiciels de bioinformatique à traiter des données de protéomique massives représente une autre limitation à l'utilisation de la protéomique à haut-débit. Nous présenterons ici les pistes explorées par la plateforme de protéomique PAPPSO pour élaborer des méthodes de préparation d'échantillon et d'analyse par spectrométrie de masse à haut-débit. Nous ferons également un panorama des derniers développements effectués sur les outils bioinformatiques de PAPPSO afin pouvoir traiter des données de protéomique massives.

# Post-translational regulation of the root nitrate transporter NRT2.1 in *Arabidopsis thaliana*

Laurence Lejay

*IPSiM Montpellier*

In *Arabidopsis* the *NRT2.1* gene encodes a main component of the root high-affinity nitrate uptake system (HATS). However, despite its central role in plant nutrition, little is known concerning the molecular mechanisms involved in its regulation. By combining an immunological approach and the use of transgenic lines expressing a functional 35S::*NRT2.1* transgene in an *atnrt2.1* mutant background, we were able to show the occurrence of posttranslational regulatory mechanisms. Since one mechanism could correspond to NRT2.1 C-terminus processing we further investigate this hypothesis by producing transgenic plants with truncated forms of NRT2.1. This revealed an essential sequence for NRT2.1 activity, located between the residues 494 and 513. Using a phospho-proteomic approach, we found that this sequence contains one phosphorylation site, at serine 501, which can inactivate NRT2.1 function when mimicking the constitutive phosphorylation of this residue in transgenic plants. This phenotype could neither be explained by changes in abundance of NRT2.1 and NAR2.1, a partner protein of NRT2.1, nor by a lack of interaction between these two proteins. Finally, the relative level of serine 501 phosphorylation was found to be increased by ammonium nitrate in wild-type plants, leading to the inactivation of NRT2.1 and to a decrease in high affinity nitrate transport into roots. Altogether, these observations reveal a new and essential mechanism for the regulation of NRT2.1 activity.

## Combining phenotypic, metabolome and proteome data to study maize response to a mild nitrogen deficit

Maria Urrutia<sup>1,2</sup>, Mélisande Blein-Nicolas<sup>5</sup>, Olivier Fernandez<sup>2</sup>, Stéphane Bernillon<sup>2,3</sup>, Mickaël Maucourt<sup>2,3</sup>, Catherine Deborde<sup>2,3</sup>, Thierry Balliau<sup>5</sup>, Camille Bénard<sup>2,3</sup>, Sylvain Prigent<sup>2,3</sup>, Isabelle Quilleré<sup>4</sup>, Daniel Jacob<sup>2,3</sup>, Yves Gibon<sup>2,3</sup>, Michel Zivy<sup>5</sup>, Catherine Giauffret<sup>1</sup>, Bertrand Hirel<sup>4</sup>, Annick Moing<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>INRAE, UR Agroimpact, Estrées-Mons, 80203 Péronne, France

<sup>2</sup>INRAE, Univ. Bordeaux, Biologie du Fruit et Pathologie, UMR1332, Centre INRAE de Nouvelle-Aquitaine Bordeaux, F-33140 Villenave d'Ornon, France

<sup>3</sup>Metabolome Bordeaux, INRAE, MetaboHUB, PHENOME, F-33140 Villenave d'Ornon, France, Centre INRAE de Nouvelle-Aquitaine Bordeaux, F-33140 Villenave d'Ornon, France

<sup>4</sup> Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB), F-78000, Versailles, France

<sup>5</sup> Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, GQE - Le Moulon, 91190, Gif-sur-Yvette, France

To decipher the biochemical bases of nitrogen (N) utilization and metabolism of silage maize in relation to growth and productivity, an untargeted metabolomic (proton NMR- and LC-QTOF-MS based) and proteomic approach was conducted on leaves of 29 hybrids cultivated in the field under optimal and reduced N fertilization. The corresponding biochemical data were analyzed either individually (PCA, ANOVA), or integrated with that of eco-physiological, developmental and yield-related traits (multi-block sparse PLS-DA). Such integrated analysis was conducted to interpret the underlying physiology concerning the plant response to a mild N deficit often occurring under agronomic conditions. The genetic diversity of the core panel of 29 European dent hybrids crossed to a flint tester was exploited to highlight common N-responsive metabolites and proteins in order to identify putative biological markers that could be used to pilot and rationalize N fertilization. The responses of metabolites, proteins, and yield-related traits to the reduced N treatment were also exploited to identify biochemical markers representative of a maize ideotype exhibiting better agronomic performances when N fertilization is limited. These markers could be used to select high-yielding commercial maize hybrids used for silage production requiring less N fertilizer inputs.

# Rôles des variations structurales dans la construction des caractères moléculaires et phénotypiques

**Yacine Djabali, Mélisande Blein-Nicolas, Stéphane Nicolas**

*GQE-Le Moulon, Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, Gif-sur-Yvette, France*

Le séquençage de nombreuses lignées de maïs a permis de révéler que le génome cette espèce présente de nombreuses variations structurales pouvant concerner plusieurs milliers de paires de base. Les insertions-délétions (InDels) sont un type de variations structurales particulièrement intéressantes : elles peuvent induire la présence ou l'absence de séquences génomiques à un locus donné mais aussi à l'échelle du génome et de récentes études suggèrent qu'elles pourraient jouer un rôle dans l'adaptation des plantes à leur milieu. Cependant, la contribution des InDels dans le déterminisme génétique des caractères et notamment des caractères adaptatifs est encore inconnue. L'objectif de cette étude est de mieux comprendre les rôles des InDels dans l'élaboration des caractères moléculaires et phénotypiques chez le maïs. Pour cela, nous avons mené une analyse de génétique d'association à l'échelle du génome (GWAS) sur afin d'identifier des InDels dont le polymorphisme génétique serait associé à des variations d'abondance de protéine (pQTL, protein Quantitative Trait Loci) et/ou à des variations de caractères écophysologiques (QTL). Ces caractères moléculaires et phénotypiques ont été mesurés sur un panel de 254 génotypes de maïs cultivés en condition d'irrigation normale (WW) et de déficit hydrique (WD). Les résultats montrent que les InDels permettent de détecter de nouveaux QTL et pQTL par rapport à ceux précédemment identifiés à l'aide de marqueurs SNP. Cependant, le nombre et l'effet des QTL et pQTL détectés avec les InDels étaient similaire à ceux obtenus avec les SNP, indiquant que ces deux types de marqueurs génétiques contribuent de manière similaire au déterminisme génétique des caractères écophysologiques et moléculaires. L'analyse fonctionnelle des protéines associées aux InDels permettra d'évaluer si ceux-ci sont plus particulièrement impliqués dans la réponse à l'environnement.

## Analyse multi-omique de 2 lignées quasi isogéniques de maïs pour les QTL de tolérance au froid

**JAMES Maxence, RAU Andrea, LUCAU Anca, GIAUFFRET Catherine et GOULAS Estelle \***  
*UGSF Lille*

Le maïs (*Zea mays* L.) est une culture d'intérêt agronomique affectée par de nombreux stress, dont des stress abiotiques tel que le froid, qui va fortement impacter son métabolisme et à terme son rendement. Déterminer les acteurs clés de la tolérance au froid est donc devenu incontournable dans le contexte actuel de réchauffement climatique, qui amène les agriculteurs à semer le maïs de plus en plus tôt afin de réduire l'impact de la carence estivale en eau. Le programme d'investissement avenir ANR AMAIZING Biotechnologies et Bioressources (ANR-10-BTBR\_01 ; 2011-2021) a combiné des analyses génétiques, génomiques et écophysiologiques avec du phénotypage et du génotypage à haut débit dans le but d'identifier des polymorphismes responsables de caractéristiques d'intérêt agronomique telles que le rendement, la qualité et la tolérance à des stress abiotiques, comme le froid.

Une paire de lignées quasi-isogéniques (NILs) de maïs ciblant deux Quantitative Trait Loci (QTL) majeurs pour la tolérance au froid a été exposée, ou pas, plusieurs semaines à un traitement froid long (37 jours à 16°C jour/14°C nuit). Suivie par des analyses multi-omiques (RNAseq par Illumina NexSeq500 ; Protéome et métabolome par GC-MS et LC-MS) couplées à différentes analyses statistiques sur R (Analyses différentielles avec les packages Edger ou Limma, ACP, enrichissement en GO à l'aide du package topGO...), nous avons pu mettre en évidence et identifier des gènes, protéines solubles et pariétales, métabolites primaires et secondaires interconnectés ou non entre omiques, répondant spécifiquement soit à un effet traitement froid, soit à un effet génotype. Certains gènes candidats d'intérêts, localisés dans la zone de divergence des NILs, ont pu être validés par qRT-PCR. *In fine*, l'ensemble de ces résultats obtenus avec cette approche multi-omique a permis de mieux mesurer, comprendre et mettre en évidence certains acteurs clefs, explicatifs des mécanismes de tolérance au froid du maïs.