



## UMR INRA/UCBN 950 **EVA** Université de Caen Basse-Normandie



UMR INRA/UCBN 950 EVA

(Ecophysiologie Végétale, Agronomie et nutritons NCS)

(Département Environnement –Agronomie de l'INRA)

3 Equipes

**INCCA Interactions  
Nutritionnelles, Conduites et  
Contraintes Abiotiques  
(Colza, Blé, Plantes fourragères)**

**FEAST  
Fructan Sucrose Transport  
(Plantes fourragères)**

**Ecologie  
de la prairie  
(Plantes fourragères)**

Thématique

Absorption, allocation, mise  
en réserve et mobilisation de  
N, S (P, K,...), modélisation

Acquisition, allocation,  
mise en réserve et  
mobilisation du C  
(Fructanes)

Interactions  
plante/plante et  
plante/microorganismes  
(N et S)

Enseignants-  
chercheurs

J-C Avice, PR  
F. Le Dily, PR  
A. Ourry, PR  
P. Etienne, MCU  
P. Lainé, MCU (50%)  
E. Le Deunff, MCU  
J. Trouverie, MCU  
S. Brunel-Muguet CR INRA  
+ 5 Thèses

M-P. Prud'homme, PR  
A. Bertrand, MCU  
N. Noiraud-Romy, MCU  
M.L. Decau, Ing. INRA  
F. Meuriot, MCU  
+ 1 thèse

J-B. Cliquet, MCU  
S. Diquélou, MCU  
S. Lemauviel, MCU  
E. Personneni, MCU  
P. Lainé, MCU (50%)  
+ 1 thèse

Techniciens

9 techniciens

Echelles d'étude

Ecosystème  
(communauté)

Plante entière

Organe

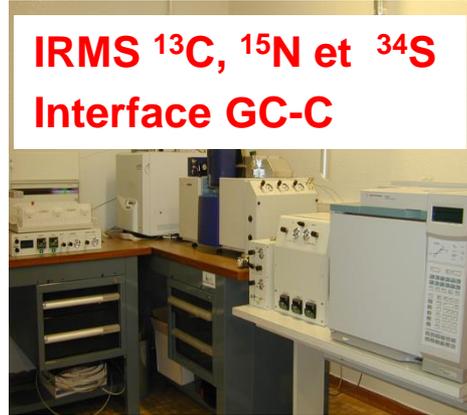
Tissu

Cellule  
Organite

Champ  
+ Cases  
lysimétriques



IRMS  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  et  $^{34}\text{S}$   
Interface GC-C



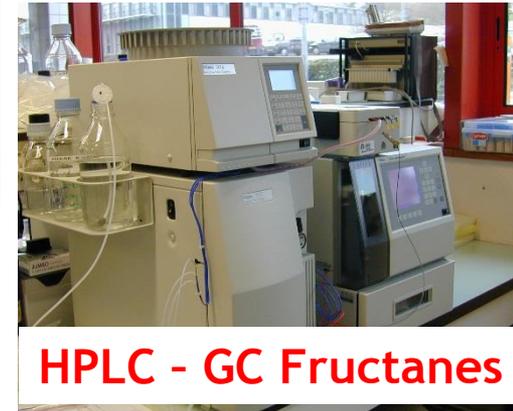
Mesures physio.



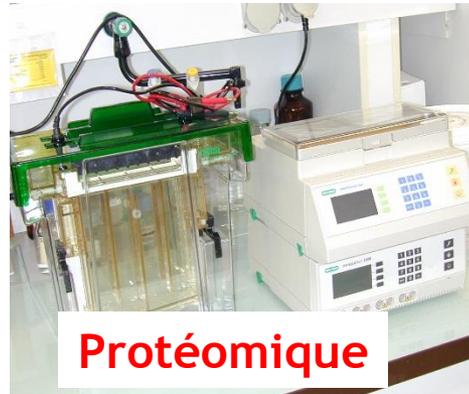
2 serres + Phytotrons



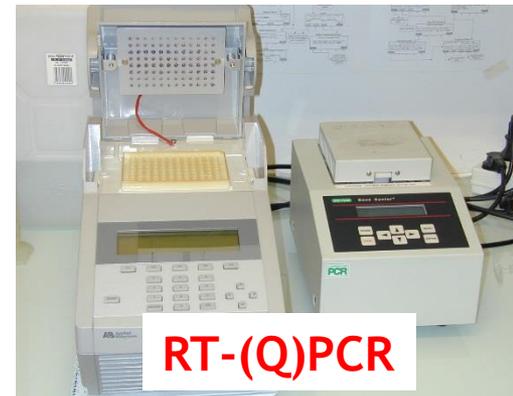
HPLC - GC Fructanes



Protéomique



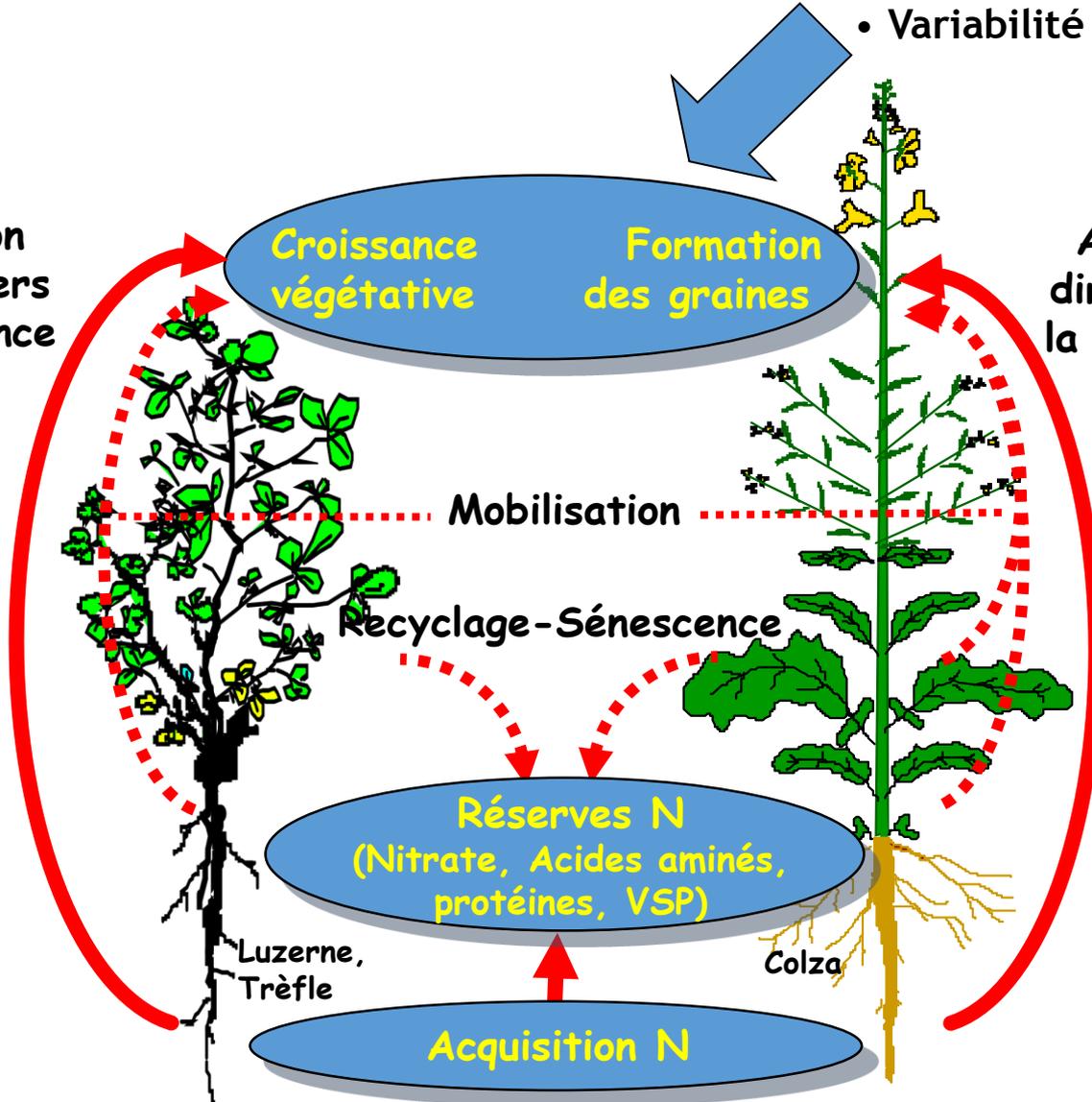
RT-(Q)PCR



- Facteurs de l'environnement (niveaux d'intrants, lumière, température...)
- Variabilité génétique

Allocation directe vers la croissance

Allocation directe vers la croissance



Croissance végétative

Formation des graines

Mobilisation

Recyclage-Sénescence

Réserves N  
(Nitrate, Acides aminés, protéines, VSP)

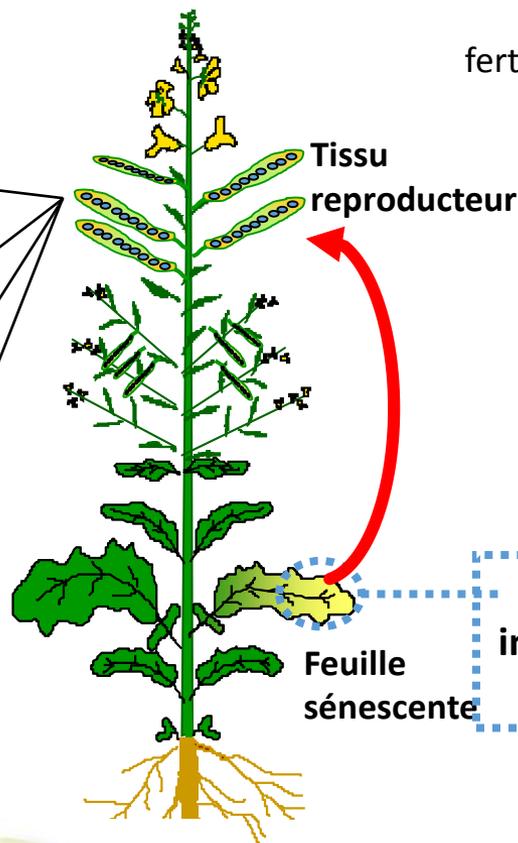
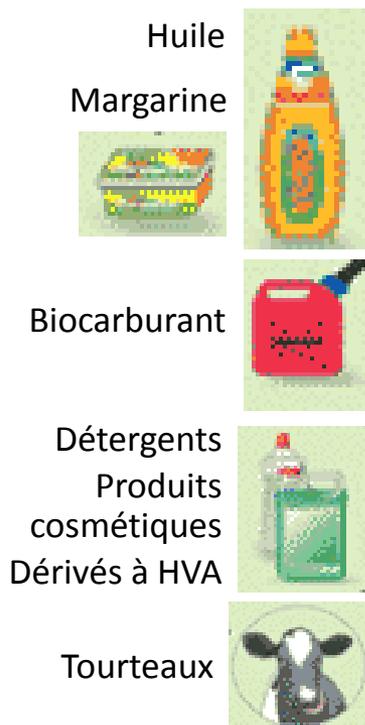
Acquisition N

Luzerne, Trèfle

Colza

# Contexte

- Colza : 1,5 millions ha (France 2015)



- Faible efficacité d'utilisation de l'azote (N) et du soufre (S)  
(50% du N et 26% du S apportés par fertilisation sont retrouvés dans les graines)

- Recyclage médiocre du N et S des feuilles

Remobilisation incomplète du N et du S foliaire  
Sénescence foliaire

Bilan agro-environnemental médiocre

Amélioration des performances agronomiques (rendement et bilan environnemental) = optimisation des apports de fertilisants N/S et du recyclage du N/S foliaire

Tournesol 13%

Tournesol 18%

Colza 14%

Soja 73%  
Colza 31%

Soja 50%

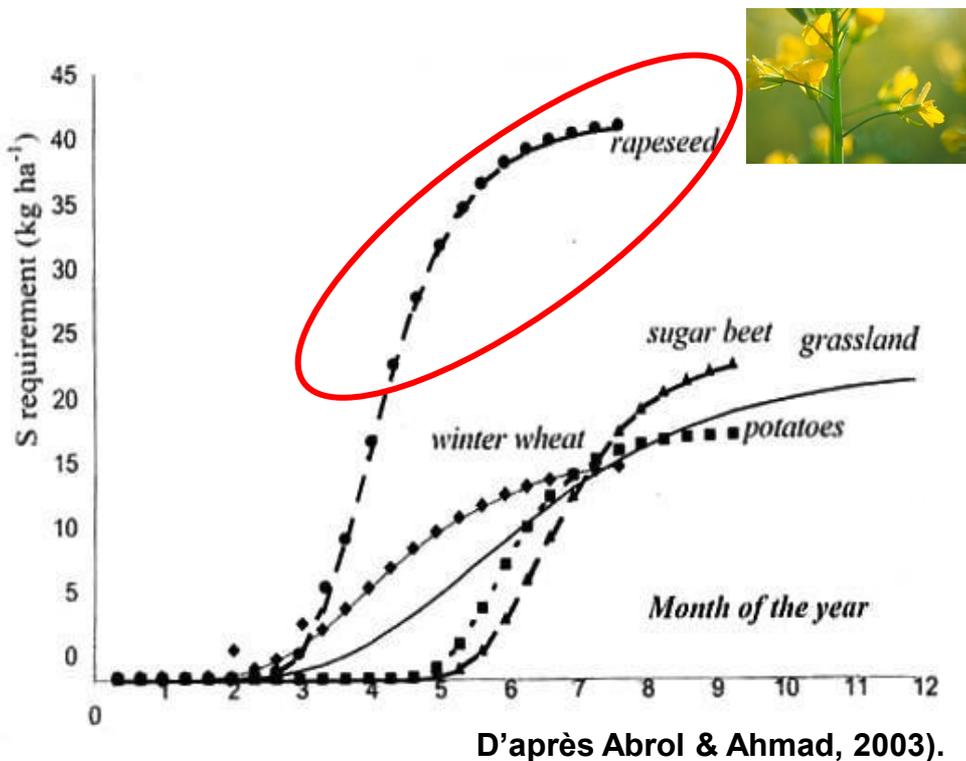
2001

2012

Evolution de la consommation apparente de tourteaux en France (<http://www.prolea.com/>)

## Contexte

- Le colza, une plante exigeante en S



CETIOM – Terres Inovia

- Méthode de fertilisation empirique...  
(dose ?, fractionnement des apports ?)



CONSEILS

75 kg Sulfate/ha  
au stade D1

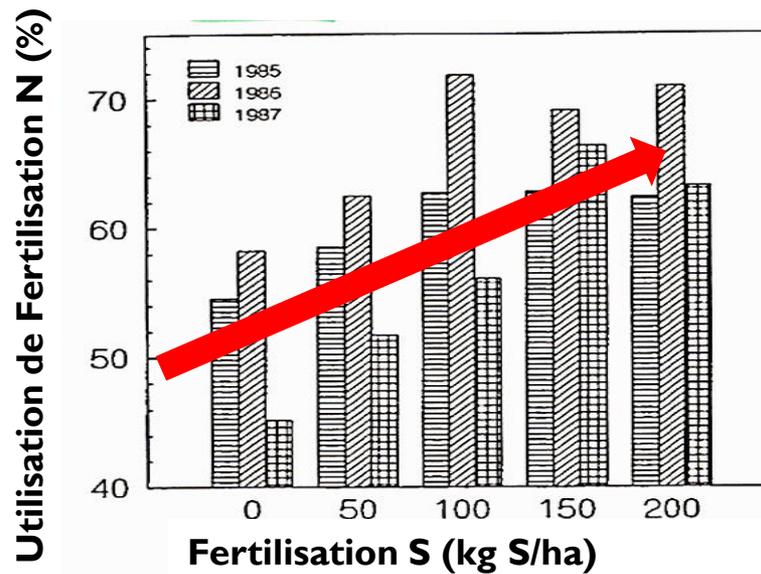
## Interactions des métabolismes S et N...

La limitation en S:   
 ↘ cystéine   
 ↗ nitrate, sérine, tryptophane et OAS

↗ OAS → Inhibition des voies d'absorption et d'assimilation du nitrate



Source: [www.canolawatch.org](http://www.canolawatch.org)



D'après Schnug *et al.*, 1993



## ANR JCJC-COSMOS 2006-09

Coordonnateur: JC. AVICE

(P ETIENNE, P. LAINE, F. MEURIOT, A.OURRY)

ANR-COSMOS: Colza et Soufre : cycle du soufre et Mobilisation des composés soufrés et azotés en réponse à une Oligotrophisation en Soufre



### RAPSODYN: programme INVESTISSEMENT AVENIR

Optimisation of the RAPeSeed Oil content and Yield under low Nitrogen input : improving breeding of adapted varieties using genetics and genomics

Porteur: IGEPP INRA Le Rheu Coordonnateur INCCA: JC Avice



Programme FUI / FEDER 2014-16

Porteur: Roullier; Coordonnateur INCCA: A. OURRY



Impact d'une restriction en sulfate (en interactions avec la fertilisation N)  
sur le rendement et la qualité grainière du colza

POLYGONE – GENESIS 2015-18



Picardie Innovations Végétales,  
Enseignements et  
Recherches Technologiques

# Objectif

- Déterminer les interactions S et N au sein de la plante en vue d'optimiser l'efficacité d'utilisation de S (EUS) ... et de l'azote (EUA)

# Questions

- stades phénologiques sensibles à une restriction en S (rdt, qualité) ?
- contribution des réserves S au remplissage et à la qualité des graines ?
- organes de stockage et nature de réserves S ?
- mécanismes de remobilisation du S ?
- réponses métaboliques à la restriction en S (mécanismes de résistance) ?

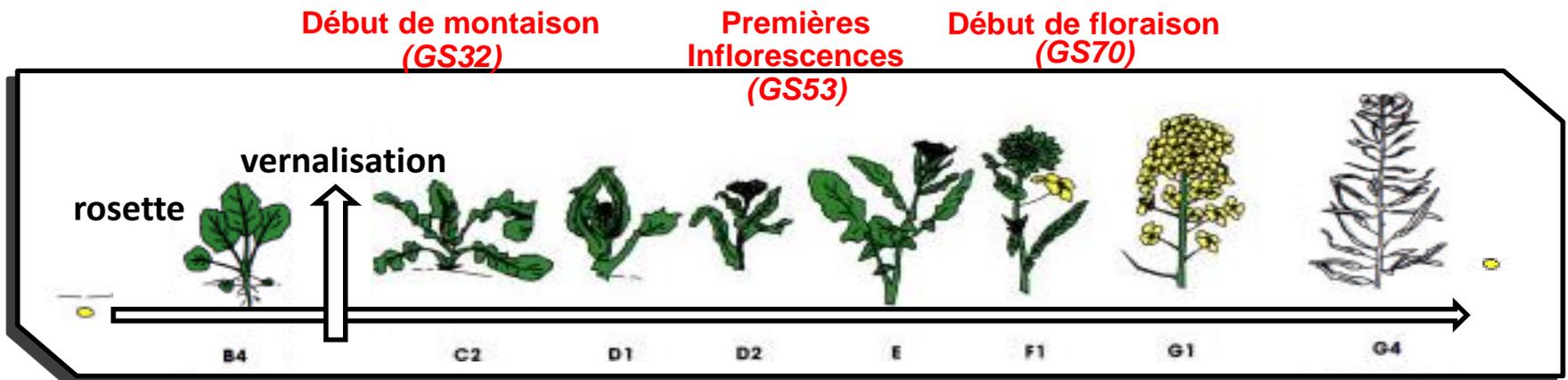
# Démarches (environnement contrôlé, champ)

## Dynamique des flux de S (marquage $^{34}\text{S}$ )

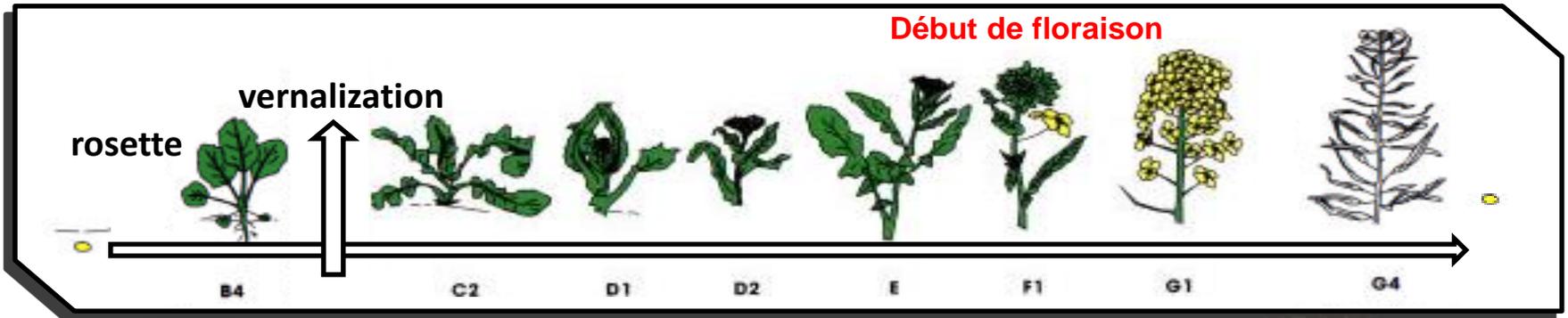
Approche biochimique (fractionnement)

Approche moléculaire  
(sénescence, transporteurs de sulfate)

Approche protéomique



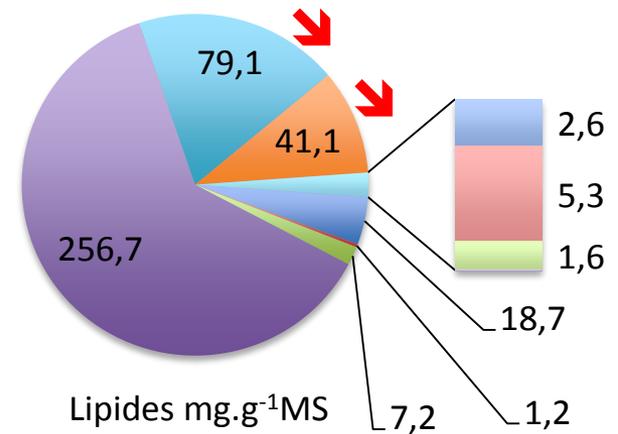
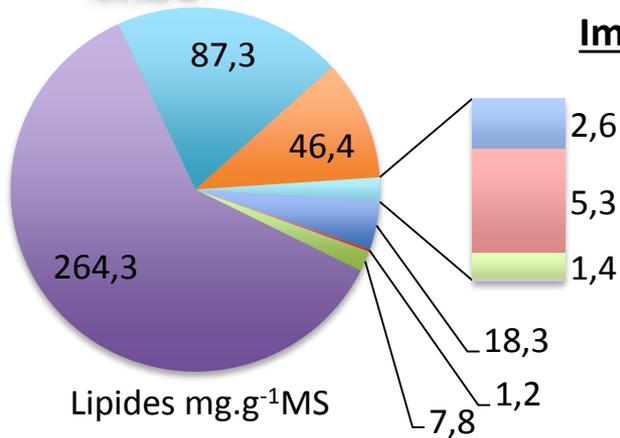
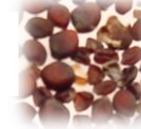
# Limitation en sulfate sur le rendement et la qualité de la graine **mature** de colza (cv. Capitol)



**Control**

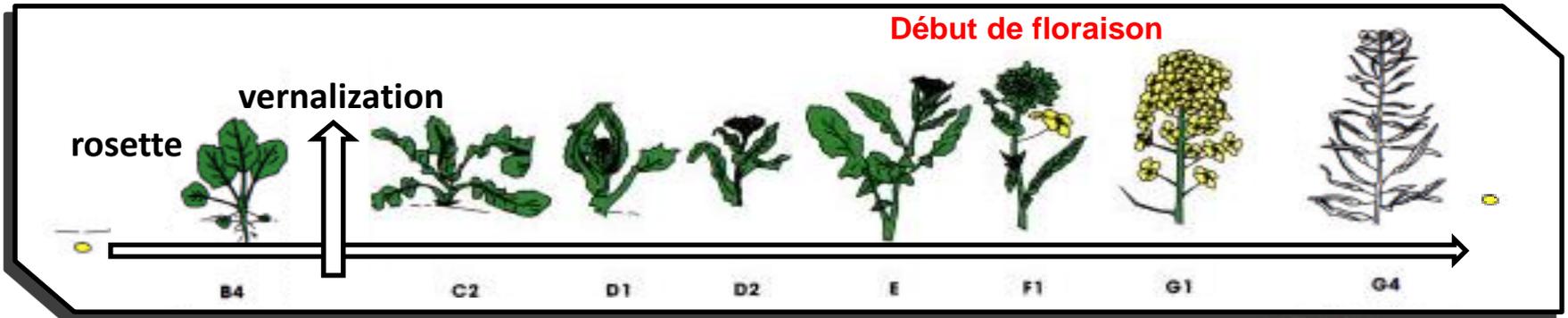
**Rendement : pas d'effet**

**Limitation en S  
Début de floraison**

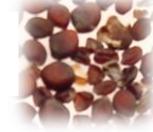


**Pas d'effet sur la teneur en protéines mais quid de la qualité protéique ?**

# Limitation en sulfate sur le rendement et la qualité de la graine **mature** de colza (cv. Capitol)

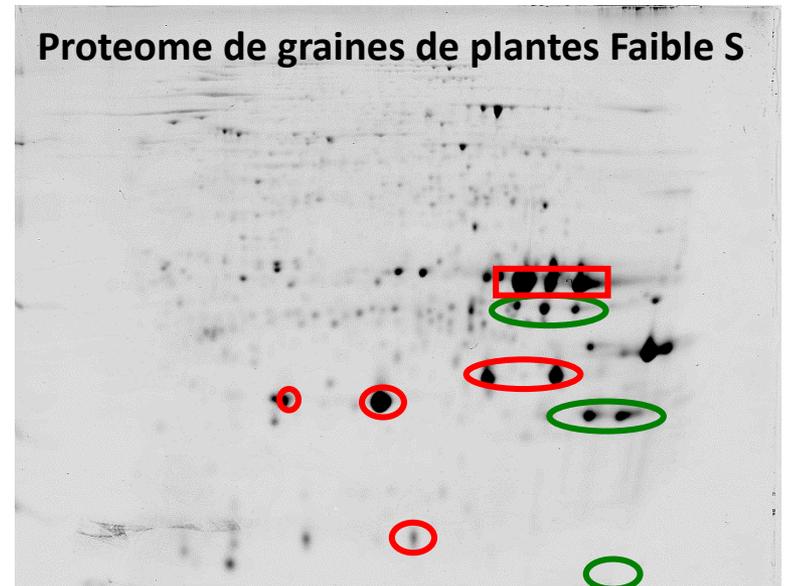
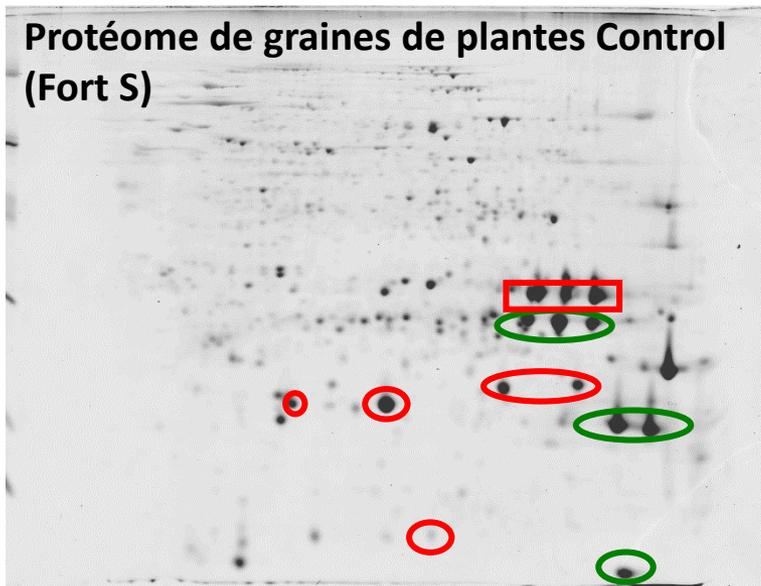


Control



Limitation en S  
Début de floraison

Impact sur la qualité protéique  
par analyse protéomique (électrophorèse bidimensionnelle)



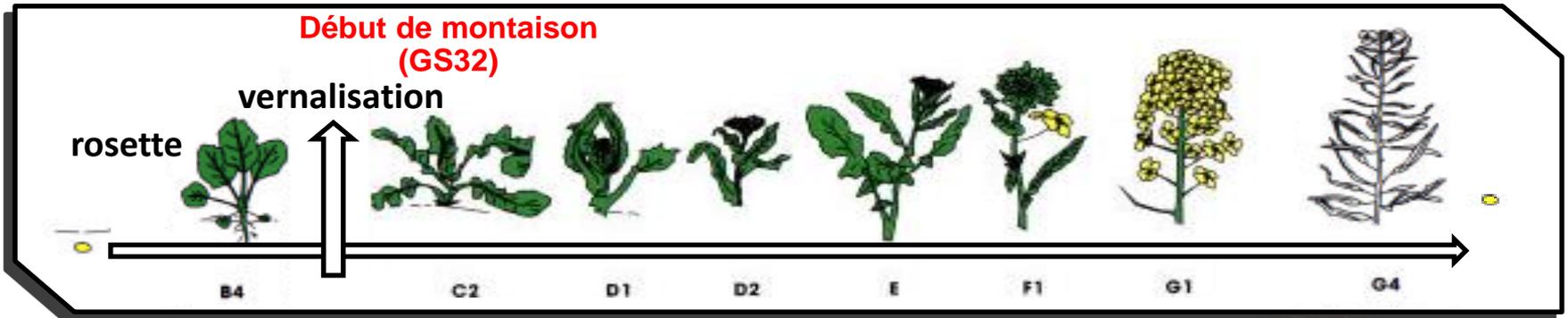
**Diminution des protéines riches en S (Napines, Cruciférine de type Cru4)**

**Augmentation des protéines pauvres en S (Cruciférine de type BnC1)**

D'Hooghe et al. 2014  
Molecular Cell Proteomics

Collaborations Karine Gallardo, INRA Dijon

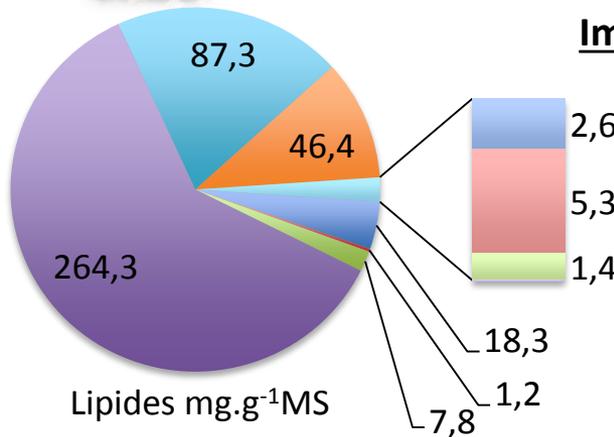
# Limitation en sulfate sur le rendement et la qualité de la graine **mature** de colza (cv. Capitol)



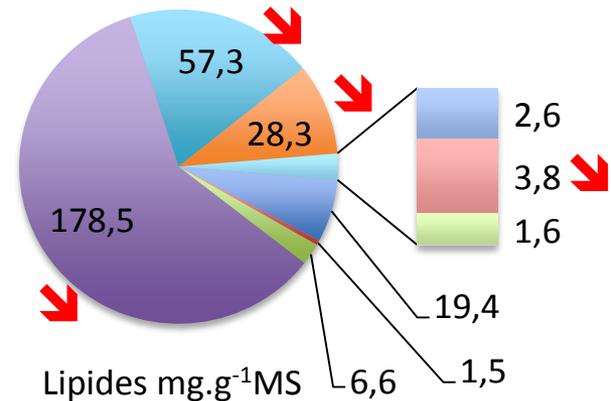
**Control**

**Rendement : -45%**

**Limitation en S à GS32**



**Impact sur l'huile ?**



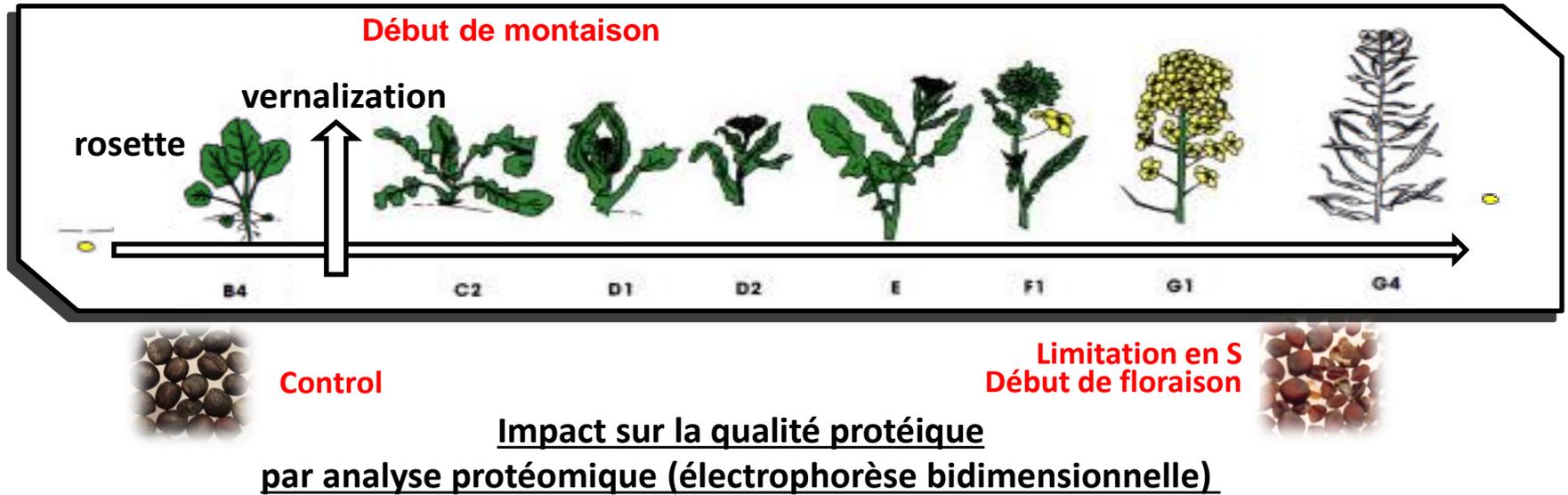
**Impact sur les protéines ?**

**Chute de 50% de la teneur en protéines**

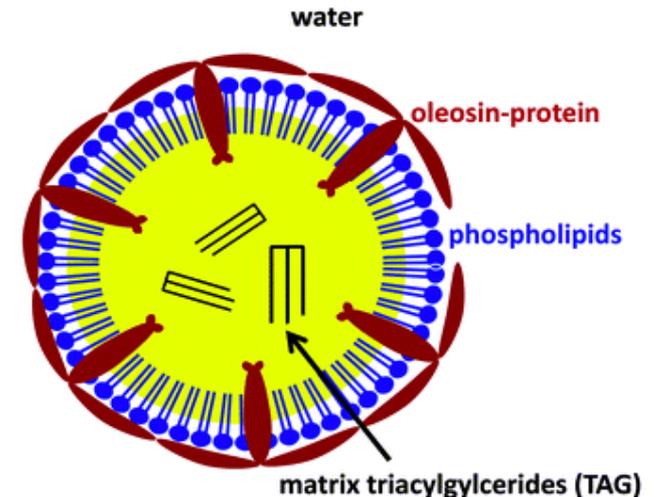
**Diminution des protéines riches en S (Napines, Cruciférine de type Cru4)**

**Augmentation des protéines pauvres en S (Cruciférine de type BnC1)**

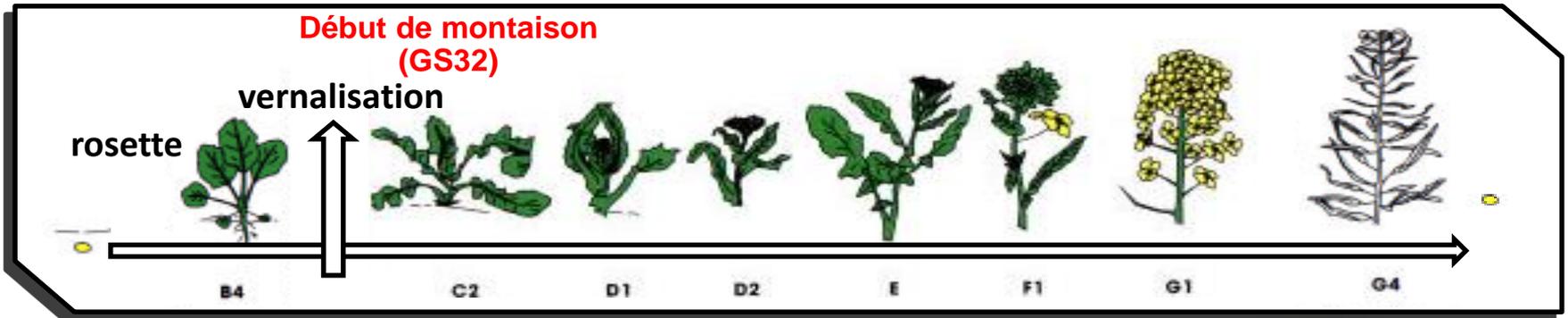
# Limitation en sulfate sur le rendement et la qualité de la graine **mature** de colza (cv. Capitol)



- Autres révélations du protéome
  - ↘ Caléosines (au niveau des corps gras)

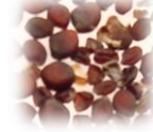


# Limitation en sulfate sur le rendement et la qualité de la graine **mature** de colza (cv. Capitol)



**Control**

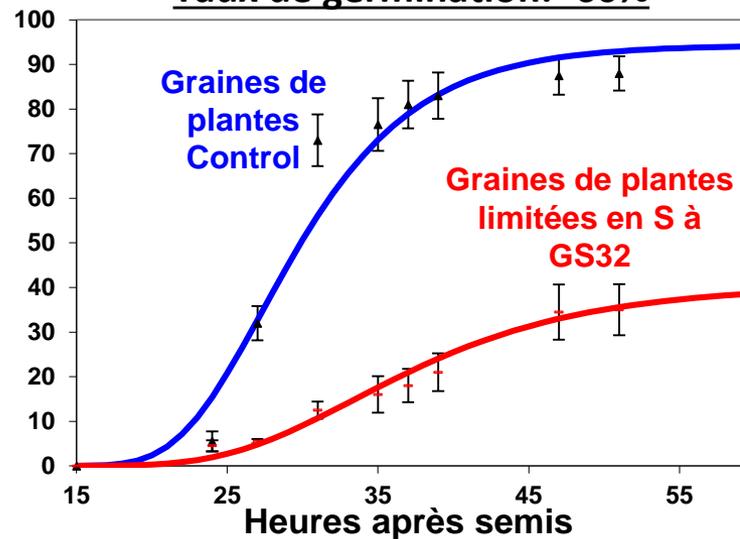
**Limitation en S à GS32**



**Viabilité de la graine (test tetrazolium) : -66%**



**Taux de germination: -60%**



## Les indices de récolte en S et en N sont-ils modifiés ?

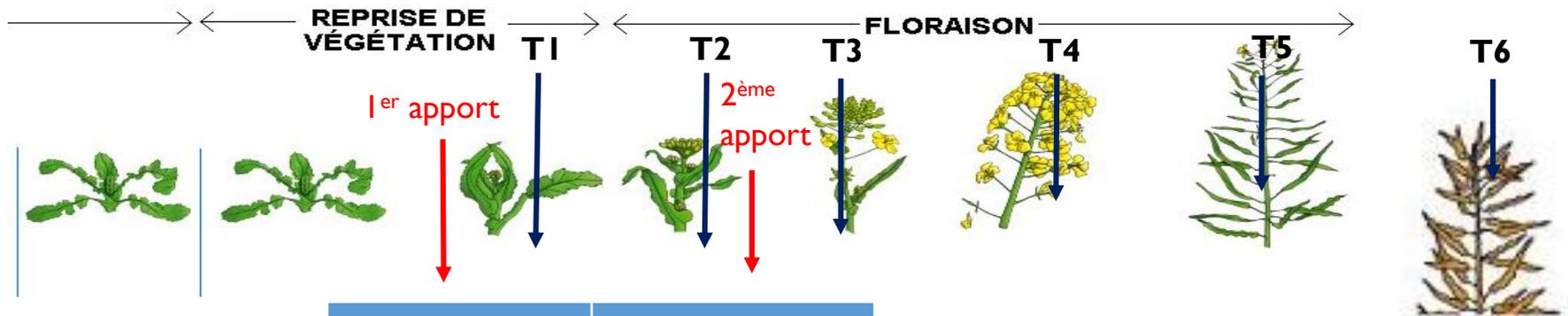
	IRS=SHI (% du S total dans la plante retrouvé dans les graines)	IRN=NHI (% du N total dans la plante retrouvé dans les graines)
Témoin	26 ±1.3 <sup>a</sup>	49 ±2.1 <sup>b</sup>
Limitation au début montaison	25 ±2.2 <sup>a</sup>	35 ±3.9 <sup>a</sup> 
Limitation aux premières inflorescences	45 ±1.8 <sup>b</sup> 	54 ±1.9 <sup>b</sup>
Limitation au début floraison	55 ±1.7 <sup>c</sup> 	53 ±2.7 <sup>b</sup>



Les efficacités d'utilisation du S et du N varient selon la période d'occurrence de la limitation en S

## Interactions S et N sur la croissance, le rendement et la qualité grainière du colza ?

Dispositif expérimental en serre (Plateforme de phénotypage 4PMI, INRA Dijon, 2016)



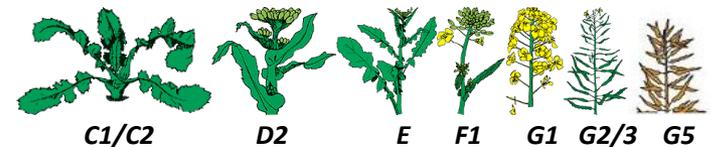
**Apport manuel**  
 (mimer le  
 champs)

Tester différents apports  
 de S et le  
 fractionnement en  
 conditions non limitante  
 en N

Tester les interactions  
 S&SN : différents  
 niveaux de S et N

Stade D2 boutons accolés		Stade E boutons séparés
Unité S	Unité N	Unité S
0	120	/
8*	120	22 S*
0	120	30 S*
8*	120	/
30*	120	/
8	80	/
30	80	/
8	40	/
30	40	/

**7 dates de récoltes**  
 (sortie de vernalisation → maturité des graines)



↓  
**5 répétitions / traitement**

\* <sup>34</sup>S (0,5%)

*9 modalités faisant varier les doses d'apports S / N ainsi que la date d'apport ou le fractionnement en S*

*Thèse d'Émilie Poisson 2016-18*

Stade d'apport du S et du N

**Apport manuel  
 (mimer le  
 champs)**

Tester différents apports  
 de S et le  
 fractionnement en  
 conditions non limitante  
 en N

Tester les interactions  
 N&S : différents niveaux  
 de S et N

\* <sup>34</sup>S (0,5%)

Stade D2 boutons accolés		Stade E boutons séparés
Unité S	Unité N	Unité S
0	120	/
8*	120	22 S*
0	120	30 S*
8*	120	/
30*	120	/
8	80	/
30	80	/
8	40	/
30	40	/

4 traitements les plus extrêmes :

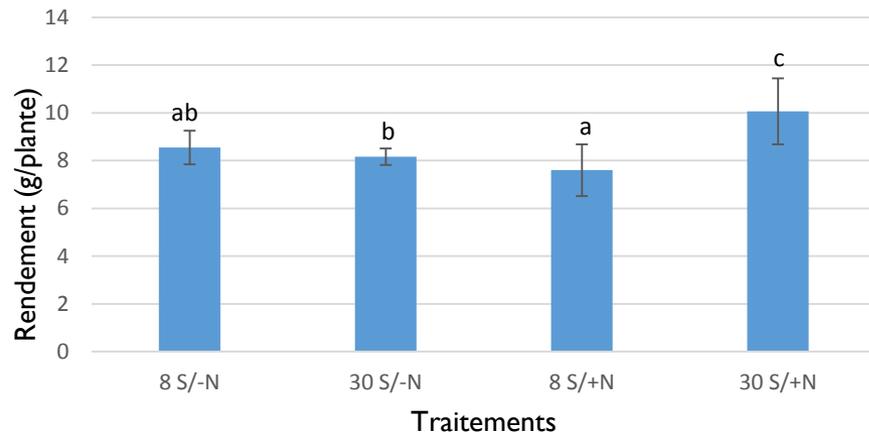
8S, 120N

30S, 120N

8S, 40N

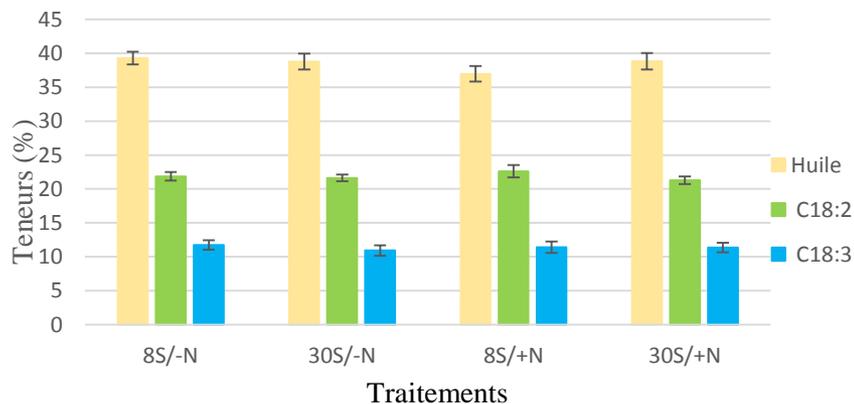
30S, 40N

### Le rendement grainier

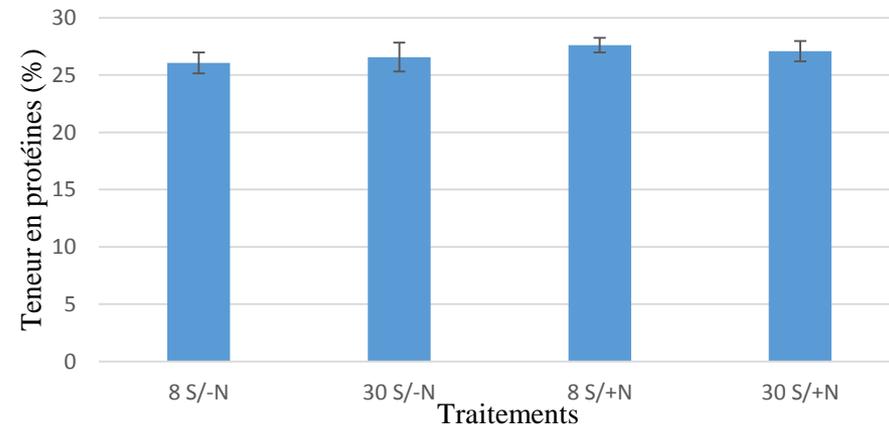


- La limitation en S et N conduit à la baisse de rendement.
- Pas d'effet traitements sur les teneurs en huiles, en acides gras (acide linoléique et acide  $\alpha$ -linoléique) et en protéines estimées par NIRS !

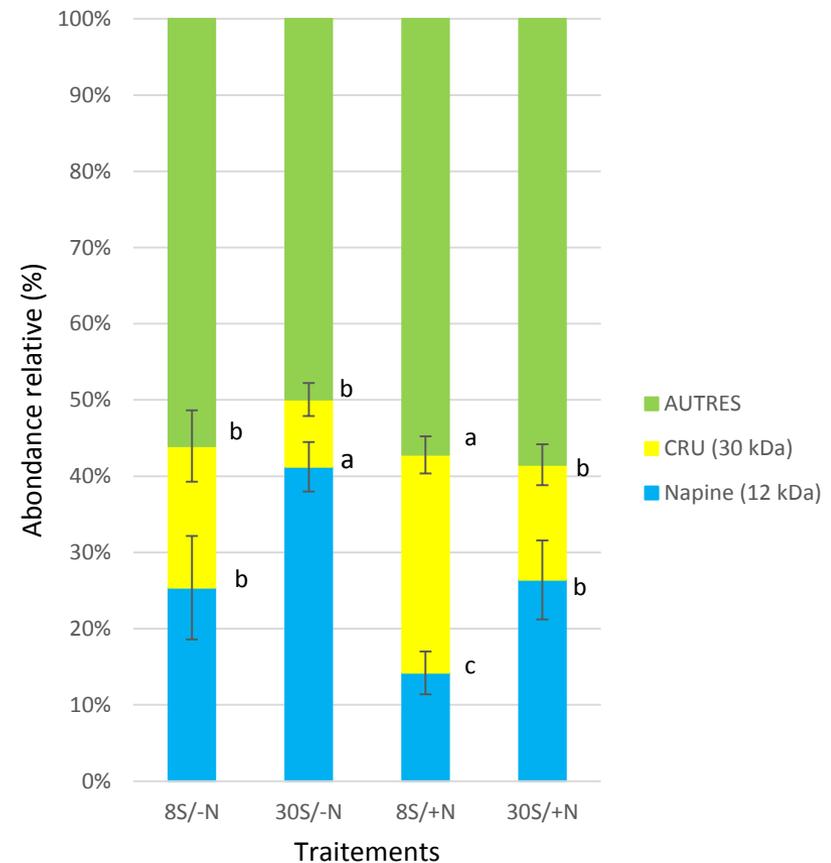
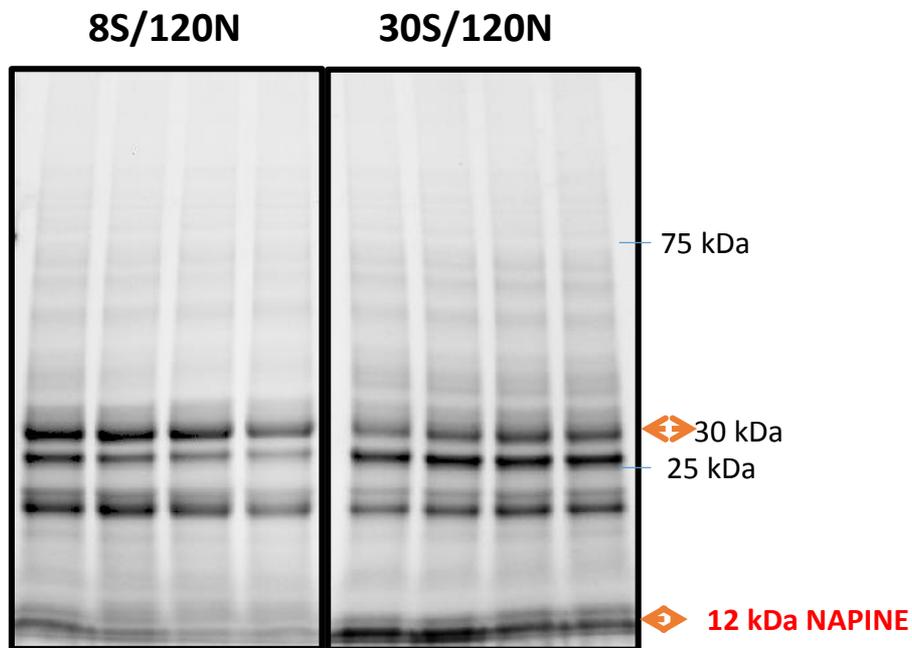
### La teneur en huile et en AG (NIRS)



### La teneur en protéines (NIRS)

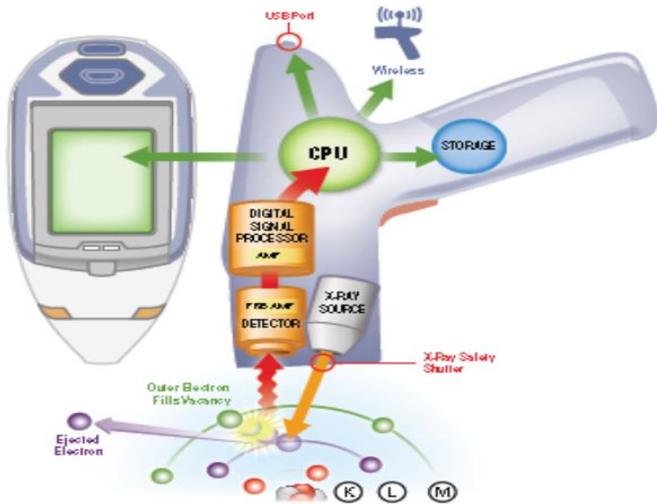


## Impacts de la fertilisation S et N sur la qualité protéique de la graine de colza



- Forte fertilisation en S : **Accumulation de la napine (12 kDa)**
- Limitation en S : **Accumulation de cruciférines (30 kDa)**
- Plus forte accumulation de la napine en Fort S/ -N

# Analyse élémentaire XRF (Fluorescence à rayons X) – Système portable Titan (Bruker)



**S1 TITAN 600-800 GeoChem Calibration**  
P/N: 730.0088

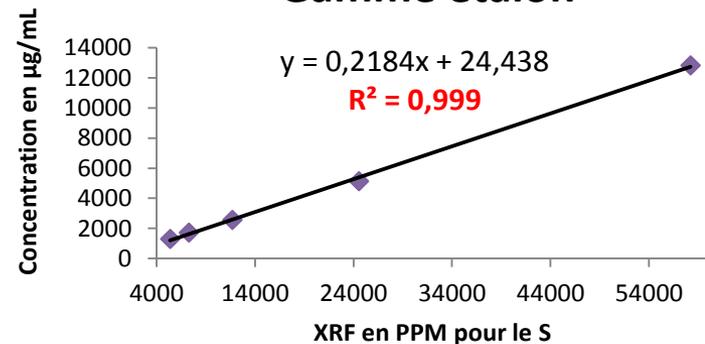
H																	He				
Li	Be															B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg															Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr				
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe				
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn				
Fr	Ra	Ac																			

Phase 1: 45 kV, TiAl filter  
Phase 2: 15 kV, no filter

Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr

Gamme K2SO4 (Hoagland1/4) : Liquide					
Concentration µg/mL	1282,5	1709,4	2565,1	5130,1	12825,3
XRF 1 (ppm)	5299,0	7396,0	11659,0	24594,0	58422,0
XRF 2 (ppm)	5454,0	7177,0	11740,0	24503,0	57994,0
moyenne XRF	5376,5	7286,5	11699,5	24548,5	58208,0

## Gamme étalon



**Optimisation pour analyses éléments légers: 64 sec.**

**Impact du niveau de fertilisation en S – Conditions de plein champ (Essais Terres Inovia)**

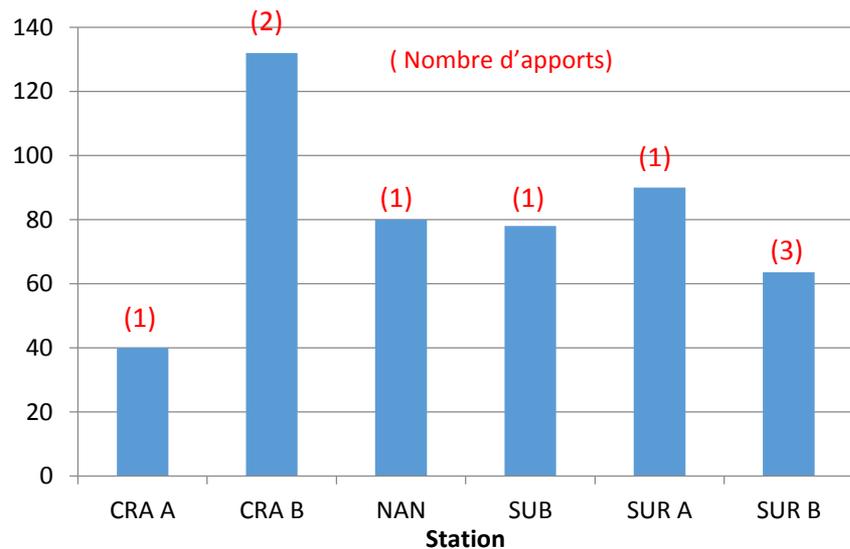
➤ **Analyses XRF sur graines de colza récoltées en 2015 par Terres Inovia**



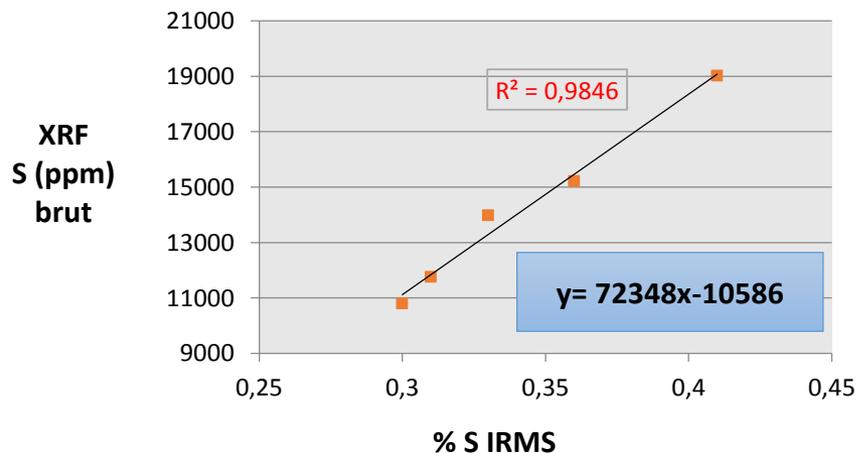
Capsule contenant un échantillon de graine en poudre

Station	Fertilisation S	Fertilisation N	Fertilisation P
CRA A (Payra sur L'Hers, Aude)	40	52	
CRA B	132	81	48
NAN (Bienville, Haute Marne)	80	30	
SUB (Danzé, Loir & Cher)	78	175	
SUR A (Lauzerte, Tarn & Garonne)	90	30	
SUR B	63,5	187	54

**Fertilisation soufrée dans les différents sites**

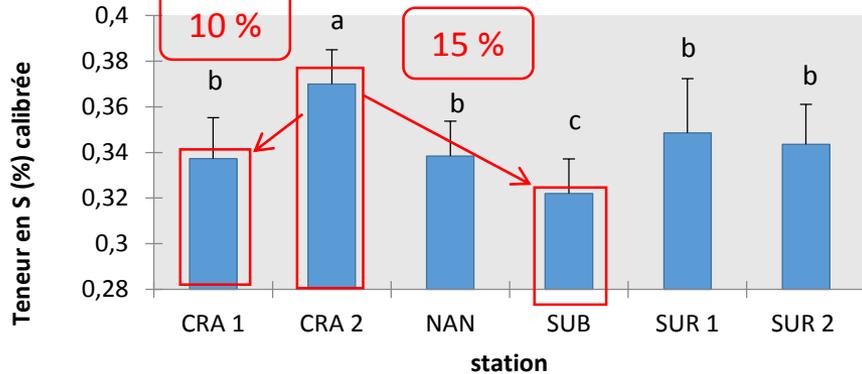


**Calibration pour les graines de colza**



➔ 14 génotypes communs à tous les sites

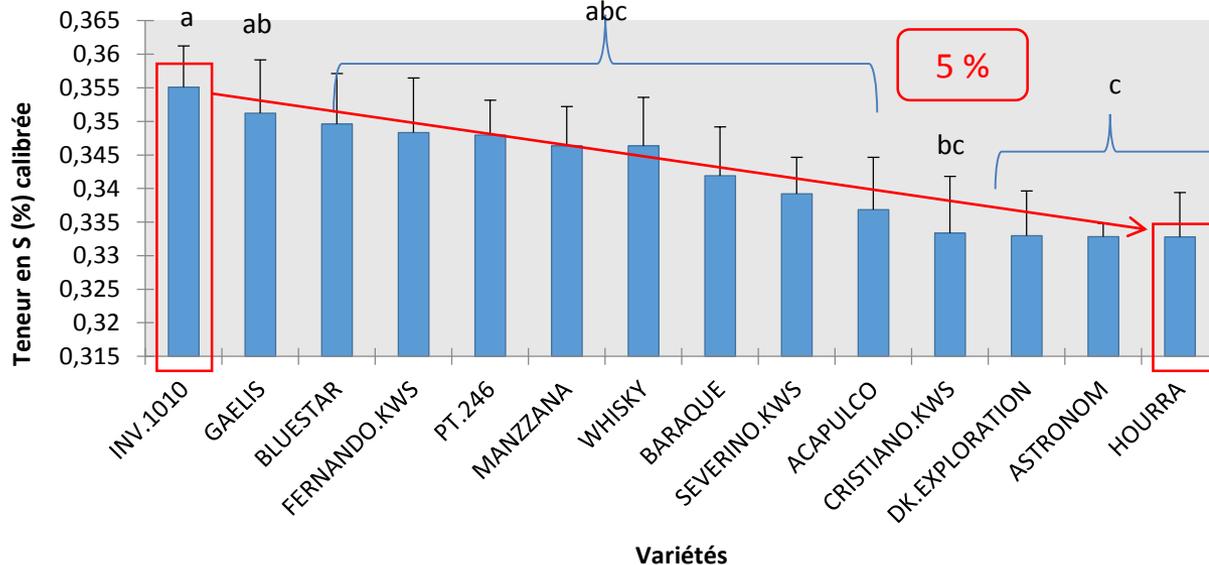
Effet site et pratiques culturales sur la teneur en S  
 des graines de colza.



Variabilité du niveau de soufre selon les sites de cultures et les pratiques culturales (toutes variétés confondues)

Effet environnement

Effet génotype sur la teneur en S dans les graines de colza



Variabilité du niveau de soufre selon les variétés (tous sites de cultures et pratiques culturales confondues)

Effet Génotype

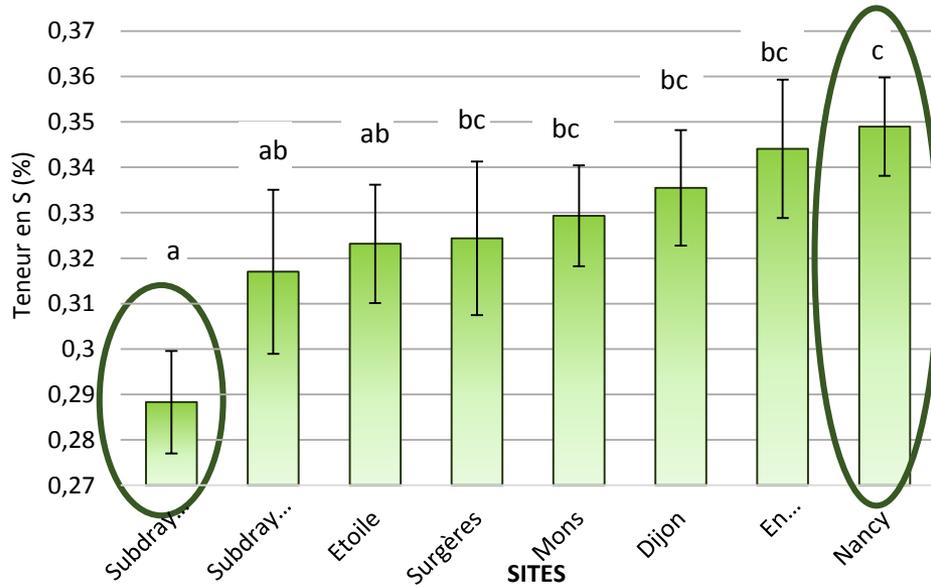
## Etude de la variabilité environnementale et génotypique de la qualité des graines de colza

Impact du niveau de disponibilité en sulfate

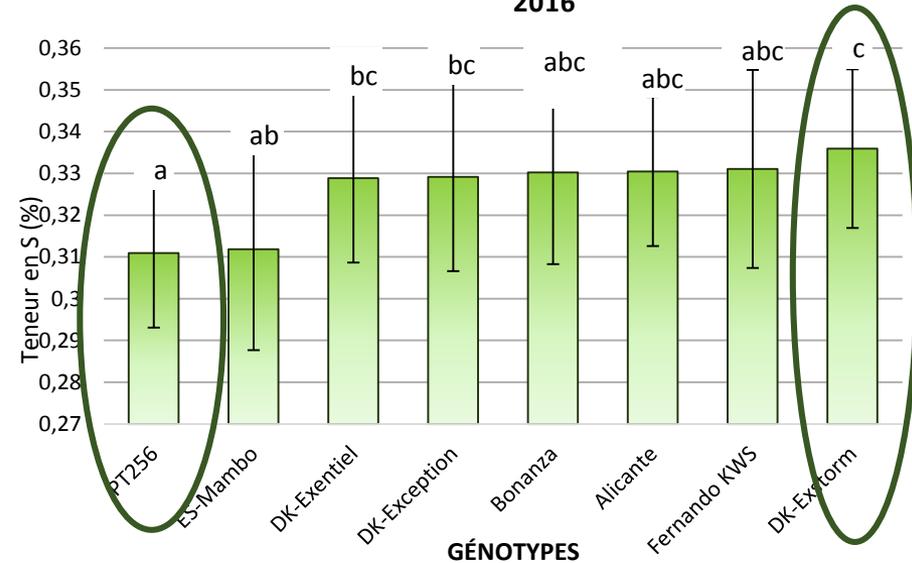
Lots de graines Terres Inovia (récoltes 2015 et 2016)

➔ 8 sites avec 8 géotypes communs

Teneur en S des graines de colza tous géotypes confondus  
2016



Teneur en S des graines de colza tous sites confondus  
2016



## Etude de la variabilité environnementale et génotypique de la qualité des graines de colza

Impact du niveau de disponibilité en sulfate

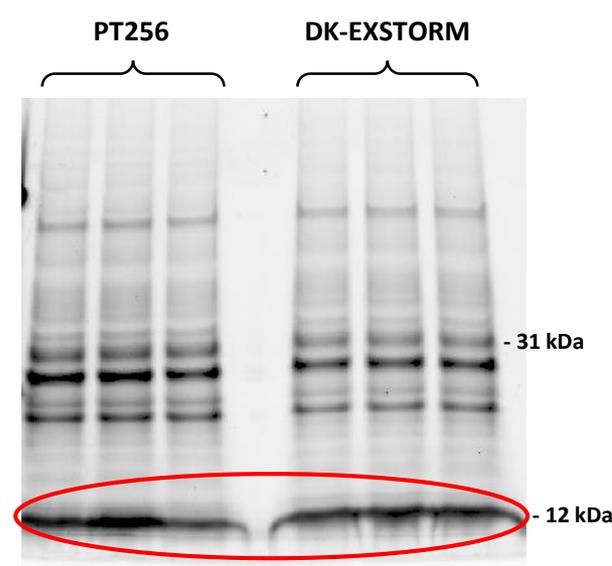
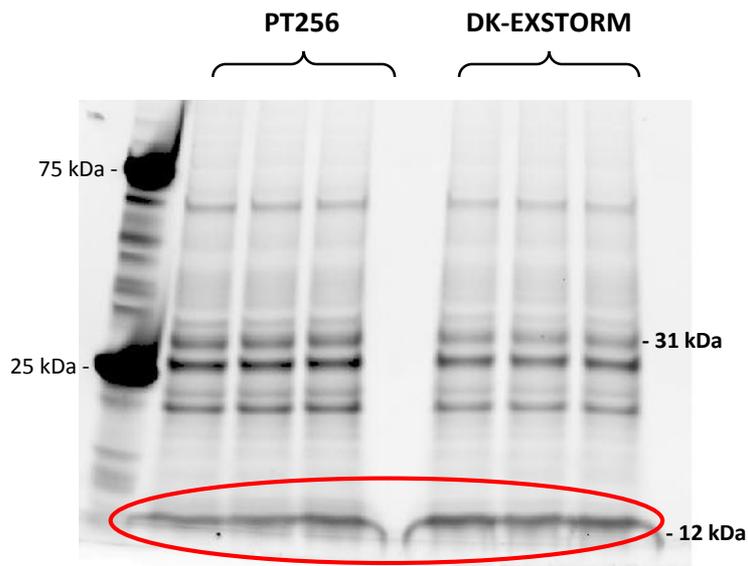
Lots de graines Terres Inovia (récoltes 2015 et 2016)

➔ 8 sites avec 8 génotypes communs

➔ Comparaison qualité protéique entre:

*Subdray B*

*Nancy*



➔ Confirmation des résultats observés en conditions contrôlées: Une limitation entraine un risque d'altération de la qualité protéique du tourteau de colza

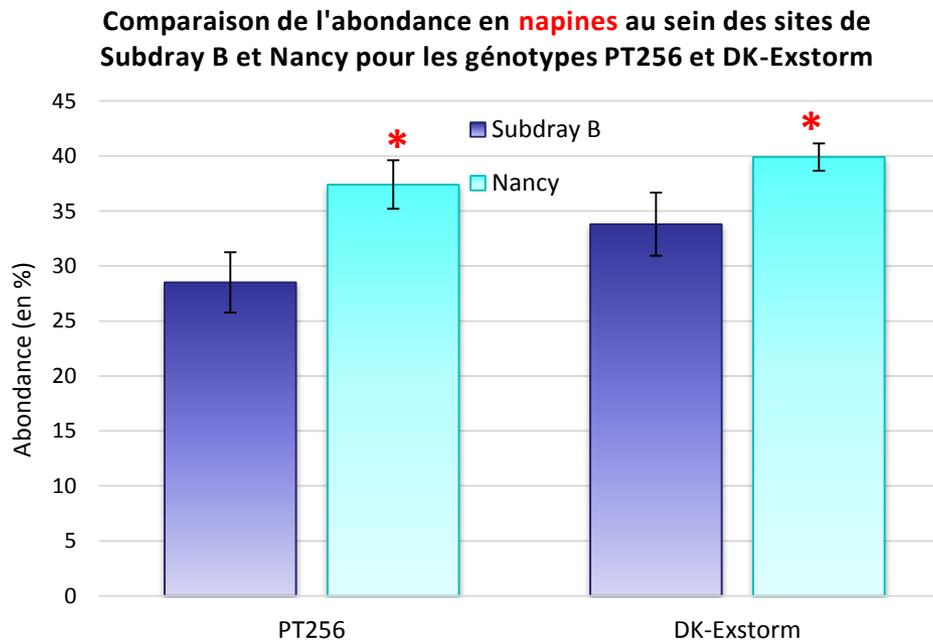
## Etude de la variabilité environnementale et génotypique de la qualité des graines de colza

Impact du niveau de disponibilité en sulfate

Lots de graines Terres Inovia (récoltes 2015 et 2016)

➡ 8 sites avec 8 génotypes communs

➡ Comparaison qualité protéique entre:



➔ Confirmation des résultats observés en conditions contrôlées:  
Une limitation entraîne un risque d'altération de la qualité protéique du tourteau

## Perspectives de recherche et développement

### Profil minéral des graines :

-Variabilité environnementale et génotypique de la teneur en S des graines de colza

### Profil S-protéique des graines :

-Variabilité de la teneur en S des protéines

Vers la mise au point de nouveaux indices de qualité grainière et de statut S du colza ...

Etude des Interactions Nutrition (N, S, P) x Environnement x Conduites (INEC) sur l'élaboration de la qualité grainière, l'aptitude à la conservation et leur impact sur le déroulement des procédés industriels.