

Centre INRA	Montpellier, UMR BGPI, Equipe ICAP
Titre de la thèse*	Etude des liens génétiques et moléculaires entre la NIS (Nitrogen-Induced Susceptibility) et les composantes de la NUE (Nitrogen Use Efficiency) au sein d'un panel de riz adapté à la riziculture camarguaise
Résumé (10 – 15 lignes)	
<p>En Camargue, la pyriculariose du riz, causée par le champignon <i>Magnaporthe oryzae</i>, provoque des dommages sévères et la manifestation aléatoire des épidémies rend difficile l'identification au champ du matériel végétal résistant. Cette difficulté a malheureusement conduit à l'inscription de variétés qui se sont avérées très sensibles dans des conditions particulièrement favorables à la maladie, comme une disponibilité élevée en azote, elle-même requise pour assurer des rendements élevés. Ce phénomène, appelé Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS), est en partie corrélé à l'efficacité d'utilisation de l'azote (Nitrogen Use Efficiency, NUE). Ce projet vise à identifier des variétés de riz adaptées à la riziculture européenne combinant une bonne résistance à la pyriculariose et une NIS réduite, tout en présentant une NUE élevée. Un panel de 200 variétés de riz tempérés servira de matériel au projet. Les données de génotypage déjà disponibles sur le panel permettront d'identifier les régions chromosomiques contrôlant la résistance à la pyriculariose, la NIS et la NUE grâce à la génétique d'association. Dans un second temps, la NIS, la NUE et leur interaction seront caractérisées plus précisément et des marqueurs métaboliques et moléculaires potentiels seront quantifiés. Les résultats obtenus constitueront un appui au programme de création variétale du riz en Camargue.</p>	

Financement

Département INRA sollicité ou structure sollicitée (MétaP, autre)	Statut du financement : acquis ou demandé	% de financement concerné
Projet FSOV	acquis	Frais complémentaires
Bourse INRA	acquis	50%
Bourse région occitanie	acquis	50%

Encadrement

Responsable(s) de la thèse	Elsa Ballini	HDR ? (O/N)	N
Responsable(s) de la thèse	Tanguy Lafarge	HDR ? (O/N)	N
Directeur(s) de la thèse (si différent du(des) responsable(s))	Jean-Benoit Morel	HDR ? (O/N)	O
Nombre de doctorants dirigés actuellement par le(s) responsable(s) de la thèse	0	Nombre de post-docs ou CDD dirigés actuellement par le(s) responsable(s) de la thèse	1
Liste de 5 publications récentes du (des) responsable(s) de la thèse, en rapport avec le projet proposé			
<ul style="list-style-type: none"> Ballini E, Nguyen T and JB Morel (2013) Diversity and genetics of nitrogen-induced susceptibility to the blast fungus in rice and wheat. Rice 6:32 Grand X, Espinoza R, Michel C, Cros S, Chalvon V, Jacobs J, Morel JB (2012) Identification of positive and negative regulators of disease resistance to rice blast fungus using constitutive gene expression patterns. Plant Biotechnol J 10(7):840-50. Huang H., Nguyen Thi Thu T., He X., Gravot A., Ballini E. and Morel J-B. (2017) Increase of 			

fungal pathogenicity and role of plant glutamine synthetase in Nitrogen-induced susceptibility to rice blast. *Frontiers in Plant Science*, Feb 28;8:265

- Adriani DE, Lafarge T, Dardou A, Fabro, Clément-Vidal A, Yahya S, Dingkuhn M, Luquet D. (2016) The qTSN positive effect on panicle and flag leaf size is associated with an early downregulation of tillering. *Frontiers in Plant Science*, 6, pp 17
- Lafarge T, Seassau C, Martin M, Bueno C, Clément-Vidal A, Schreck E, Luquet D. (2010) Regulation and recovery of sink strength in rice plants grown under changes in light intensity. *Functional Plant Biology*, 37, 413-428.

Université d'inscription de l'étudiant en thèse	Montpellier SupAgro
Ecole doctorale	GAIA
Composition prévue du comité de thèse (nom, laboratoire)	<ul style="list-style-type: none"> • Membre 1 : Courtois Brigitte, AGAP, CIRAD, Montpellier • Membre 2 : Maria Manzanares-Dauleux, IGEPP, AgroCampus Ouest, Rennes • Membre 3 : Vincent Allard, GDEC, INRA Clermont-Ferrand • Membre 4 : Arnaud Boissard, CFR, Arles

Description du projet (4 pages maximum)

Enjeux socio-économiques et scientifiques auxquels répond le projet

La riziculture, avec 2000 emplois directs et indirects, est la deuxième activité économique de la Camargue, après le tourisme. Les épidémies sporadiques de pyriculariose sont des contraintes majeures auxquelles doit faire face cette riziculture. Leur incidence et leur sévérité est influencée par le niveau de fertilisation azotée. Ce phénomène appelé NIS (Nitrogen-Induced Susceptibility) pourrait être limité par l'optimisation de la fertilisation azotée et par l'amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'azote (NUE, Nitrogen Use Efficiency). Cette gestion raisonnée permettrait de limiter l'usage des pesticides et de lutter contre la pollution des horizons de surface et des nappes phréatiques par le lessivage des nitrates (Lacroix, 1994 ; Garnett et al, 2015) et constituerait ainsi une réponse aux évolutions de la réglementation (plan Ecophyto 2018, Directive Nitrates, ...).

Une hypothèse avancée ici est qu'une NIS faible serait associée à la NUE résultant d'une efficacité forte de recyclage/remobilisation de l'azote après floraison. De telles plantes auraient une teneur en azote modérée jusqu'à floraison, stade au-delà duquel la plante est moins sensible. *A contrario*, une plante ayant une efficacité élevée lors du prélèvement pré-floral voire également post-floral pourrait être caractérisée par une forte NIS. L'étude d'un éventuel lien entre la NIS et les différentes composantes de la NUE permettra aussi de mieux comprendre les mécanismes moléculaires mis en jeu lors de ces deux phénomènes.

Les résultats de ce projet contribueront à la compétitivité des variétés françaises de riz à l'échelle européenne et pourront servir de référence et trouver des applications chez d'autres céréales à paille, tel que le blé, confrontées au même problème.

Etat de l'art scientifique – Originalité du projet

En Camargue du fait de la proximité du parc national, l'utilisation de la lutte chimique doit être réduite et l'utilisation de cultivars résistants s'est révélée une alternative efficace. Cependant, avec l'augmentation de l'emploi de fertilisants azotés, les résistances utilisées ont souvent été jugées insuffisantes. De plus, des souches virulentes apparaissent régulièrement 2 à 6 ans après la diffusion des cultivars résistants (Bonman et al, 1992). En culture irriguée comme en Camargue, des niveaux élevés d'intrants azotés sont favorables au développement de la pyriculariose (Long et al., 2000) et il est reconnu qu'ils augmentent la sensibilité des plantes (Ballini et al., 2013), un phénomène appelé Nitrogen-Induced Susceptibility (NIS).

L'efficacité d'utilisation de l'azote (NUE) chez les céréales présente des perspectives de bénéfices environnementaux, économiques et sociétaux (Xu et al, 2012 ; Garnett et al, 2015). La définition la plus simple de la NUE s'exprime en tant que quantité de biomasse ou de grain produite par unité d'azote (Good et al, 2004) et peut être décomposée en efficacité de prélèvement et efficacité

d'utilisation de l'azote (Figure 1).

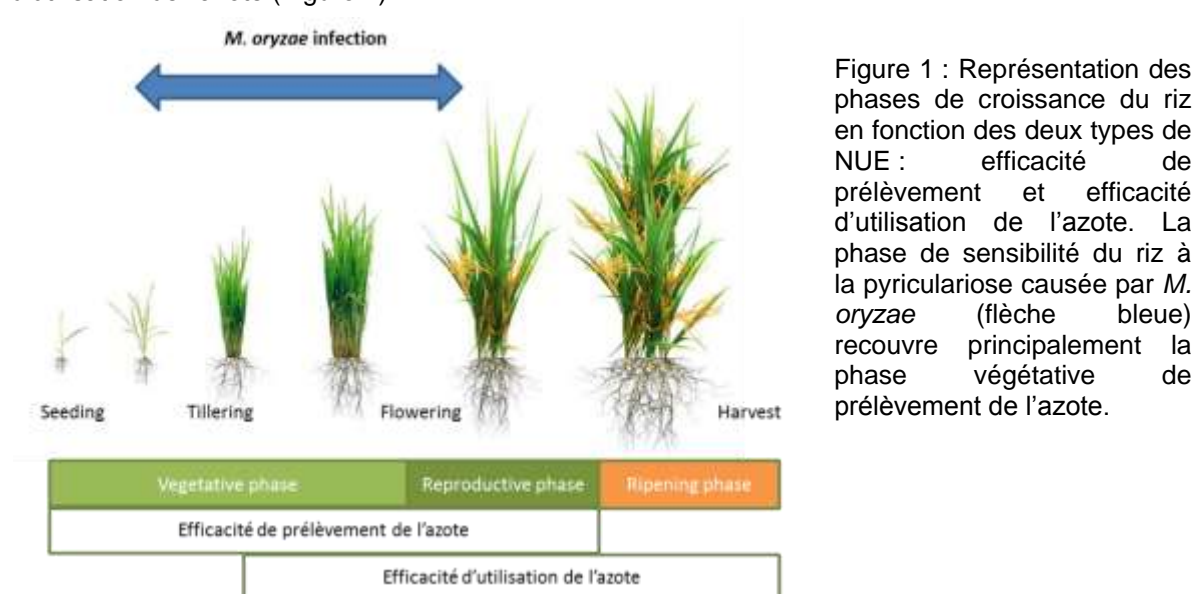


Figure 1 : Représentation des phases de croissance du riz en fonction des deux types de NUE : efficacité de prélèvement et efficacité d'utilisation de l'azote. La phase de sensibilité du riz à la pyriculariose causée par *M. oryzae* (flèche bleue) recouvre principalement la phase végétative de prélèvement de l'azote.

L'efficacité de prélèvement mesure la capacité de la plante à extraire l'azote du sol. L'efficacité d'utilisation mesure sa capacité à convertir l'azote prélevé vers d'autres organes et notamment vers la panicule. Les gènes marqueurs de ces différentes phases sont connus et caractérisés chez le riz (Yoneyama et al., 2016). L'efficacité de prélèvement est constituée de composants de type transporteurs d'azote et Nitrate reductase alors que l'efficacité d'utilisation est constituée de composants du métabolisme azoté impliqués dans le recyclage de l'azote comme la Glutamine Synthetase (GS). Un lien entre sensibilité aux maladies et efficacité de prélèvement a déjà été mis en évidence chez *Arabidopsis* au travers de l'étude de mutants des transporteurs d'azote (Camañes et al., 2012, Pastor et al., 2014) et des résultats similaires ont été obtenus chez le riz (Huang et al., soumis). Des résultats préliminaires de l'équipe suggèrent cependant que certains composants impliqués dans l'utilisation de l'azote n'impacteraient pas la sensibilité du riz à la pyriculariose.

Des études récentes ont mis en évidence que des métabolites du métabolisme primaire régulent la maintenance de la force de puits sous contrainte abiotique et stimulent la remobilisation des réserves vers les grains pendant la phase de remplissage (Nuccio et al., 2015, sur maïs). Ces processus de régulation des relations sources-puits apparaissent jouer un rôle essentiel dans l'élaboration de la NUE et, c'est une de nos hypothèses, peut-être également dans l'élaboration de la NIS. Des analyses métabolomiques de la NIS et de la NUE paraissent donc intéressantes à mener.

Il existe une variabilité génétique de la NIS (Ballini et al., 2013) et nos données préliminaires de 7 accessions de riz indiquent un lien fort entre cette variabilité et la NUE. Une variabilité génétique pour la NUE existe aussi chez le riz (Wei et al., 2012 ; Liu et al., 2016). L'implication de gènes sous-jacents à certains QTL dans la NUE a été confirmée par validation fonctionnelle. Ainsi, une augmentation significative du rendement a été constatée chez des lignées de riz sur-exprimant un gène codant une glutamate synthase NADH-GOGAT (Yamaya et al., 2002). De même, la surexpression chez le riz d'un gène de l'orge codant une Alanine aminotransférase AlaAT améliore significativement la NUE (Beatty et al., 2013). Des lignées de riz sur-exprimant le gène OsGS1-2 codant pour une glutamine synthetase présentent une réduction de rendement (Cai et al., 2009) et le mutant KO de ce même gène est moins sensible à la pyriculariose en présence d'une forte fertilisation azotée (Huang et al., soumis). La caractérisation fonctionnelle de ces différentes lignées (toutes déjà disponibles au laboratoire) permettra de mieux comprendre la relation entre NIS et NUE et d'identifier des gènes candidats pour une amélioration du riz à la fois pour la résistance à la pyriculariose et pour la NUE.

L'originalité de ce projet repose sur trois constats : (1) le lien NUE/NIS n'a jamais été rigoureusement évalué, (2) il n'existe ni d'analyse GWAS de la NUE, ni de la NIS ; enfin (3) les études combinées de deux « stress », ici la fertilisation azotée et la maladie, restent encore rares et révèlent, à chaque fois, que les régulations biologiques mises en jeu sont nouvelles et difficilement prévisibles à partir de la connaissance des stress isolés (Kissoudis et al., 2016 ; Pandey et al., 2015).

Question de recherche proposée au candidat

La question générale posée est d'identifier au laboratoire et au champ, au niveau génétique et

physiologique, quels sont les liens entre les différentes composantes de la NUE et la NIS, en utilisant la pyriculariose du riz comme modèle d'intérêt agronomique.

Ce projet vise à (i) caractériser la diversité de la NIS et de la NUE et leurs corrélations éventuelles au sein d'un panel de riz tempéré, (ii) déterminer si cette diversité dépend plutôt de l'efficacité de prélèvement ou d'utilisation de l'azote, (iii) identifier des marqueurs physiologiques ou biochimiques qui corréleront avec les performances des plantes pour la NIS et les différentes composantes de la NUE, (iv) révéler ou confirmer des gènes candidats associés à une NIS faible et une NUE élevée et qui pourraient augmenter l'efficacité de la résistance à la pyriculariose.

Hypothèses de travail

La première hypothèse de travail est qu'il existe une forte corrélation, mais heureusement incomplète, entre les composants de la NUE et la NIS qu'il convient de caractériser. Dans ce contexte, une des hypothèses à explorer est qu'une plante ayant une forte capacité de prélèvement de l'azote montrera une NIS plus forte qu'une plante favorisant la remobilisation de l'azote. Cette balance entre les deux principales composantes de la NUE n'ayant pas le même impact sur la NIS selon que l'on soit avant ou après la floraison.

Une autre hypothèse est qu'il sera possible d'identifier des marqueurs métabolomiques et génétiques de la NIS et des composantes de la NUE qui permettront un phénotypage précoce de ces phénomènes au champ.

Matériel nécessaire (disponible et/ou à produire), et méthodes envisagées

Dans le cadre de deux projets européens (RESGEN et EURIGEN), les principaux programmes publics de sélection du riz en Europe ont mis en commun leurs ressources génétiques pour constituer une collection représentative (European Rice Germplasm Collection (ERGC)) composée de quelques 450 accessions. Celle-ci, hébergée par le Centre de ressources biologiques tropicales du Cirad à Montpellier (<http://golo.cirad.fr/FR/>), a fait l'objet de nombreuses caractérisations phénotypiques et génétiques (Courtois et al, 2011; Courtois et al., 2012). Ces travaux ont donné lieu à la définition d'un panel représentatif composé d'environ 200 accessions (Ahmadi et al. 2011). Plus récemment l'UMR AGAP (qui collabore à ce projet) a génotypé ce panel par la méthode de génotypage par séquençage (GBS), ce qui a permis d'obtenir les données de plus de 20 000 marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism ; données non publiées). Enfin, la moitié des accessions de ce panel a fait l'objet d'un séquençage 25 X dans le cadre du projet international 3,000 Rice Genomes Project. C'est ce panel de diversité, enrichi de matériel spécifique du programme de sélection du riz en Camargue, en cours de génotypage GBS, qui sera utilisé pour la mise en œuvre du présent projet.

La caractérisation de la NUE et de la NIS a permis d'identifier plusieurs gènes impliqués : NADH-GOGAT, GS1-2, AlaAT, OsNAP. Des lignées mutantes ont été obtenues au laboratoire pour une caractérisation de ces gènes.

Les principales méthodes utilisées pour cette thèse sont la génétique d'association (GWAS) et les méthodes d'écophysiologie des plantes (caractérisation phénotypique, mesures de rendement, de photosynthèse, de quantités d'azote...) qui constituent les domaines d'expertises de l'UMR AGAP. L'analyse de la résistance se fait grâce à l'expertise de BGPI (inoculations en laboratoire, expression de gènes, analyse de mutants de riz). Depuis deux années BGPI a mis en place, avec le CFR, des protocoles permettant d'effectuer des inoculations contrôlées au champ.

Programme de recherches

Le programme de recherche comporte trois objectifs (Figure 2) :

1. Cartographier la résistance du riz à la pyriculariose et la NIS en condition contrôlée sur le panel de 375 accessions de japonica tempérés et valider les loci en testant au champ des lignées typiques de certains comportements NIS et, le cas échéant, en analysant au laboratoire des mutants dans les gènes candidats des QTLs identifiés.
2. Identifier des composants moléculaires et/ou génétiques qui pourraient faire un lien entre NUE et NIS via l'étude au laboratoire de génotypes types et de mutants. Cela devrait permettre entre autre d'identifier des marqueurs de la NIS et de la NUE.
3. Valider l'utilisation des marqueurs identifiés dans l'objectif 2 dans les conditions de terrain et valider des génotypes candidats sur le terrain.

L'objectif 1 (Figure 2, en bleu) sera mis en place en année 1 de la thèse. Le phénotypage du panel des 374 accessions de japonica tempérés peut être fait en serre où ce phénotypage a déjà été conduit (Ballini et al., 2013). Une analyse génétique sera également conduite sur le panel afin de prédire la NUE et la résistance des différents génotypes. Les données de GBS déjà disponibles seront utilisées pour analyser le polymorphisme au niveau de gènes candidats (NUE et résistance) déjà répertoriés au laboratoire et pour maximiser la diversité génétique à l'intérieur d'une sélection

de 50 accessions (Ahmadi et al, 2011). Ces dernières seront sélectionnées pour leur représentativité, leurs données disponibles sur la résistance à la pyriculariose (projet EUROOT) et le NUE (projet GS-RUSE) et des polymorphismes éventuels de gènes candidats. L'analyse GWAS se fera au cours de l'année 1 et pour les QTLs les plus intéressants certains gènes candidats pourront être analysés. Pour cela des mutants d'insertion seront choisis dans la collection disponible au CIRAD (Lorieux et al., 2012) et seront caractérisés en année 2 et 3. Enfin une validation des génotypes du panel les plus intéressants sera faite au champ au cours de l'objectif 3.

L'objectif 2 (Figure 2, en rose) est de faire une caractérisation moléculaire approfondie de la NIS et de la NUE. Il s'agira (i) d'affiner les méthodes de mesure de la NIS et de la NUE et (ii) d'analyser les relations entre NIS et NUE pour des accessions contrastées ainsi que des mutants existants au laboratoire, notamment pour des gènes impliqués dans l'efficacité de prélèvement de l'azote (transporteurs d'azote) et dans l'efficacité d'utilisation de l'azote (Glutamine synthetase, Alanine Aminotransferase). La caractérisation de nouveaux mutants dans des gènes clefs de la NUE (candidats issus de Obj 1) devrait permettre d'identifier des régulateurs communs à la NIS et à la NUE. L'hypothèse d'une relation privilégiée entre efficacité de prélèvement de l'azote et NIS sera testée. Les acides aminés, métabolites indicateurs potentiels de la NIS et de la NUE (Huang et al., soumis), seront quantifiés dans un panel d'accessions représentatives et le stade optimal de prélèvement sera défini grâce à une cinétique de prélèvement. Ces mesures détermineront si ces métabolites sont prédictifs de la NIS, une hypothèse qui sera aussi testée par des analyses de prélèvements au champ en année 2 et 3. Les dosages de métabolites s'effectueront sur une plateforme spécialisée (A. Gravot, IGEPP, Rennes)

L'objectif 3 (Figure 2, en vert) est de valider au champ les principaux résultats obtenus au laboratoire dans les objectifs 1 et 2. Un panel de variétés issues du phénotypage en année 1 sera évalué pour la résistance à la pyriculariose, la NIS et la NUE. La NIS et la NUE seront caractérisées au champ à partir d'un essai mis en place selon un dispositif de type alpha lattice avec deux répétitions et deux niveaux contrastés de fertilisation azotée (la référence du CFR, et un niveau plus élevé pour la NIS, et un niveau plus faible pour la NUE). L'essai sera conduit selon les pratiques culturales validées par le CFR et BGPI lors des campagnes 2014 à 2016. La NUE sera caractérisée à partir de l'analyse de la teneur en azote des tissus avant et après floraison ainsi qu'à maturité. En année 1 et 2, une sélection de 50 génotypes sélectionnés sur la base de l'analyse génétique prédictive et du phénotypage obtenus lors de l'objectif 1, sera caractérisée au champ. En année 3, 12 génotypes seront sélectionnés pour tester au champ les résultats obtenus dans l'objectif 2 et lors de la cartographie GWAS. Les variétés ainsi validées pourront être directement intégrées dans les programmes de sélection du CFR. Les indicateurs de la NIS et de la NUE identifiés pendant l'objectif 2 seront confirmés et pourront être valorisés dans les futurs programmes de sélection et réseaux de phénotypage. Ils pourront aussi être transposés dans les programmes de sélections d'autres céréales.

Calendrier

Thèse janvier 2017-Décembre 2019

Le calendrier prévisionnel de la thèse est décrit dans la Figure 2. Bien que connectés, les trois objectifs conduisent chacun à des résultats indépendants les uns des autres, garantissant ainsi la production de résultats valorisables. Objectif 1 : bleu, Objectif 2 : rose, Objectif 3 : vert.

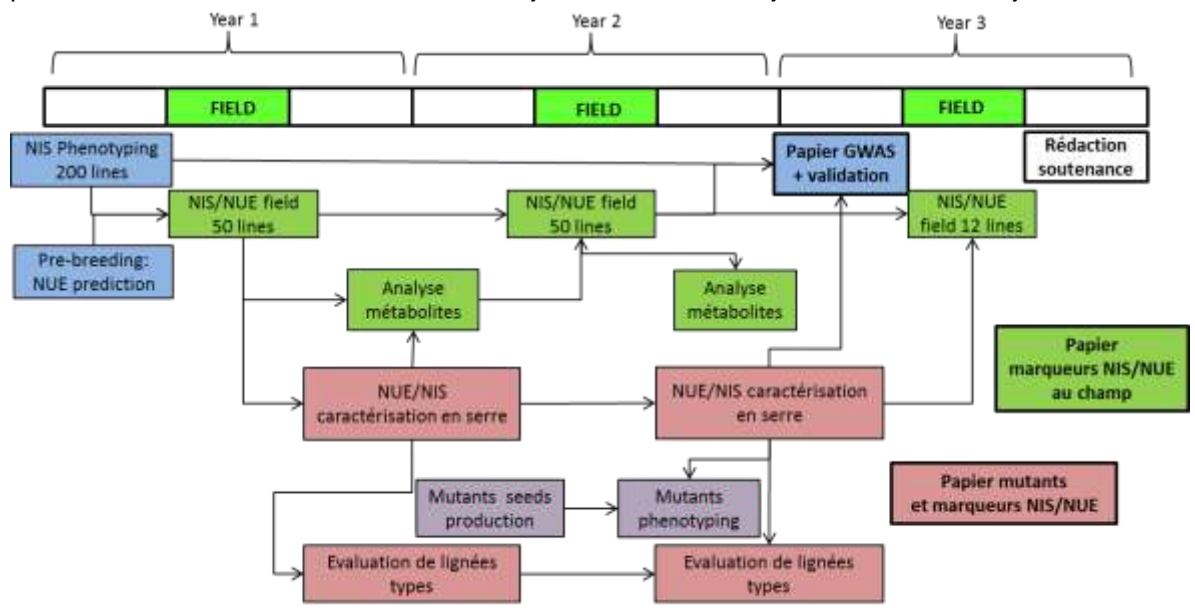


Figure 2 : Calendrier de la thèse
Publications envisageables
<p>Publication 1 : Identification des bases génétiques de la résistance à la pyriculariose, de la NIS et des composantes de la NUE chez le riz.</p> <p>Publication 2 : Identification de marqueurs de la NIS et/ou des composantes de la NUE. Caractérisation de gènes candidats expliquant la corrélation entre NIS et NUE.</p> <p>Publication 3 : Validation au champ du lien entre NIS et NUE et de marqueurs de la NIS et de la NUE.</p>
Compétences cognitives et techniques acquises par le doctorant
<p>Métabolisme de l'azote à l'échelle de la plante entière et au cours du cycle entier</p> <p>Elaboration et mise en place d'un protocole dédié et phénotypage au laboratoire et au champ de la pyriculariose et des composantes de la NUE.</p> <p>Méthodes d'analyses biochimiques et métabolomiques (en collab. avec Plateforme A. Grivot, IGEPP, Rennes)</p> <p>Suivis d'expérimentations au champ</p> <p>Analyse de génétique d'association</p> <p>Partenariat/interaction avec un centre de sélection</p>
Partenariat scientifique et industriel dans lequel s'inscrit le travail
<p>Cette thèse s'effectue dans le cadre d'un projet FSOV sur 3 ans obtenu (SEPYA : SElection pour la résistance à la PYriculariose et l'utilisation efficace de l'Azote janvier 2017-décembre 2019). Le projet finance 50% du salaire de la thèse, les frais de fonctionnement d'expérimentation et les frais de participation à des congrès. Ce projet rassemble des experts en NUE (UMR AGAP), en pathologie du riz (BGPI) et satisfait les attentes du secteur privé puisque le CFR est porteur de ce projet.</p> <p>Partenariat avec le CFR Centre Français du riz (Arnaud Boisnard)</p> <p>Partenariat avec le CIRAD (UMR AGAP- Tanguy Lafarge, Brigitte Courtois, Nour Ahmadi)</p>
Références bibliographiques
<p>Ahmadi N, Negrão S, Katsantonis D, Frouin J, Ploux J, Letourmy P, Droc G, Babo P, Trindade H, Bruschi G, Greco R, Oliveira MM, Piffanelli P, Courtois B. (2011) Targeted association analysis identified japonica rice varieties achieving Na⁺/K⁺ homeostasis without the allelic make-up of the salt tolerant indica variety Nona Bokra. <i>Theor Appl Genet</i> 123(6):881-95.</p> <p>Ballini E, Nguyen T and JB Morel (2013) Diversity and genetics of nitrogen-induced susceptibility to the blast fungus in rice and wheat. <i>Rice</i> 6:32.</p> <p>Beatty PH, Carroll RT, Shrawat AK, Good AG. (2013) Physiological analysis of nitrogen-efficient rice overexpressing alanine aminotransferase under different N regimes. <i>Botany</i> 91: 866–883</p> <p>Bonman, J., Khush, G., Nelson, R. (1992). Breeding rice for resistance to pests. <i>Annu. Rev. Phytopathol.</i> 30, 507–528.</p> <p>Cai H, Zhou Y, Xiao J, Li X, Zhang Q, Lian X. 2009. Overexpressed glutamine synthetase gene modifies nitrogen metabolism and abiotic stress responses in rice. <i>Plant Cell Reports</i> 28, 527-537.</p> <p>Camañes G, Victoria P, Cerezo M, García-Agustín P, Flors V. 2012. A deletion in the nitrate high affinity transporter NRT2.1 alters metabolomic and transcriptomic responses to <i>Pseudomonas syringae</i>. <i>Plant Signaling & Behavior</i> 7, 619-622.</p> <p>Courtois B, Greco R, Bruschi G, Frouin J, Ahmadi N, Droc G, Hamelin C, Ruiz M, Evrard JC, Katsantonis D, Oliveira M, Negrão S, Cavigiolo S, Lupotto E, Piffanelli P. (2011) Molecular characterization of the European rice collection in view of association mapping. <i>Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization</i> 9(2); 233–235.</p> <p>Courtois B, Frouin J, Greco R, Bruschi G, Droc G, Hamelin C, Ruiz M, Clément G, Evrard J-C, van Coppenole S, Katsantonis D, Oliveira M, Negrão S, Matos C, Cavigiolo S, Lupotto E, Piffanelli P, Ahmadi N (2012) Genetic diversity and population structure in a European collection of rice. <i>Crop Science</i> 52:1663–1675.</p> <p>Garnett T, Plett D, Heuer S, Okamoto M. (2015). Genetic approaches to enhancing nitrogen-use efficiency (NUE) in cereals: challenges and future directions. <i>Functional Plant Biology</i> 42, 921-941</p> <p>Good AG, Shrawat AK, Muench DG (2004) Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? <i>Trends in Plant Science</i> 9(12), 597–605</p>

Huang H., Nguyen Thi Thu T., He X., Gravot A., Ballini E. and Morel J-B. Increase of fungal pathogenicity and role of plant glutamine synthetase in Nitrogen-induced susceptibility to rice blast. *Journal of Experimental Botany* submitted

Kissoudis C, Sunarti S, van de Wiel C, Visser RGF, van der Linden CG, Bai Y. (2016) Responses to combined abiotic and biotic stress in tomato are governed by stress intensity and resistance mechanism. *Journal of Experimental Botany*.

Lacroix A. (1994). Les solutions agronomiques à la pollution azotée. *Courrier de l'Environnement de l'INRA* 24, 29-41

Liu, Z., Zhu, C., Jiang, Y. et al. (2016) Association mapping and genetic dissection of nitrogen use efficiency-related traits in rice (*Oryza sativa* L.) *Funct Integr Genomics* 16: 323.

Long DH, Lee FN, TeBeest DO. (2000). Effect of nitrogen fertilization on disease progress of rice blast on susceptible and resistant cultivars. *Plant Dis* 84.

Lorieux M, Blein M, Lozano J, Bouniol M, Droc G, Diévarit A, Périn C, Mieulet D, Lanau N, Bès M, Rouvière C, Gay C, Piffanelli P, Larmande P, Michel C, Barnola I, Biderre-Petit C, Sallaud C, Perez P, Bourgis F, Ghesquière A, Gantet P, Tohme J, Morel JB, Guiderdoni E. (2012) In-depth molecular and phenotypic characterization in a rice insertion line library facilitates gene identification through reverse and forward genetics approaches. *Plant Biotechnol J*. 28.

Nuccio ML, Wu J, Mowers R, Zhou HP, Meghji M, Primavesi LF, Paul MJ, Chen X, Gao Y, Haque E, Basu SS, Lagrimini LM. (2015). Expression of trehalose-6-phosphate phosphatase in maize ears improves yield in wellwatered and drought conditions. *Nature Biotechnology* 33

Pandey P, Ramegowda V, Senthil-Kumar M. (2015). Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. *Frontiers in Plant Science* 6.

Pastor V, Gamir J, Camañes G, Cerezo M, Sánchez-Bel P, Flors V. 2014. Disruption of the ammonium transporter *AMT1.1* alters basal defences generating resistance against *Pseudomonas syringae* and *Plectosphaerella cucumerina*. *Frontiers in Plant Science* 5.

Wei, D., Cui, K., Ye, G. et al. (2012) QTL mapping for nitrogen-use efficiency and nitrogen-deficiency tolerance traits in rice *Plant Soil* 359: 281.

Xu G, Fan X, Miller A-J. (2012) Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2012. 63:153–82.

Yamaya T, Obara M, Nakajima H, Sasaki S, Hayakawa T, Sato T (2002) Genetic manipulation and quantitative trait loci mapping for nitrogen recycling in rice. *Journal of Experimental Botany* 53(370), 917–925.

Yoneyama T, Tanno F, Tatsumi J and Mae T (2016) Whole-Plant Dynamic System of Nitrogen Use for Vegetative Growth and Grain Filling in Rice Plants (*Oryza sativa* L.) as Revealed through the Production of 350 Grains from a Germinated Seed Over 150 Days: A Review and Synthesis. *Front. Plant Sci.* 7:1151.