

MASTER II Biologie Végétale

« Plant Integrative Biology and Breeding »

RAPPORT DE STAGE PRÉSENTE PAR :

Alexandre HEREIL

SUJET :

**Recherche de QTLs associés à la tolérance au déficit en potassium chez
la tomate par génétique d'association**

Responsable du stage :

Mathilde Causse



INRA-UR1052 Unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes
Centre INRA Avignon
Montfavet
France

Septembre 2019

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu Mathilde Causse de m'avoir accepté en stage au sein de l'unité GAFL et fait profiter de la richesse de ses connaissances sur la génétique de la tomate. Je la remercie également de m'avoir guidé dans la rédaction de ce mémoire, et de l'avoir relu avec minutie et patience.

Un grand merci aux techniciennes et mains d'œuvres Yolande, Esther et Mathilde pour les longues journées passées à la serre et au laboratoire. Je tiens également à remercier notre bio-informaticienne, Frédérique Bitton, pour son aide indispensable dans l'obtention des résultats de ce stage, ainsi que pour m'avoir initié aux joies du langage Shell. Je suis également très reconnaissant envers François Lecompte et sa doctorante Amira Beroueg pour leurs conseils avisés et pour m'avoir permis d'utiliser ce fameux XRF malgré les contraintes liées à son utilisation.

Je n'oublie pas Estelle, ma collègue de bureau, pour m'avoir fait partager sa bonne humeur et son expérience en génétique d'association. Un grand merci aux stagiaires Alessandro, Chandro, Manon, Thomas et Typhaine pour tous ces bons moments partagés à Avignon. Je leur souhaite à tous bonne chance dans leurs vies personnelles et professionnelles respectives.

Abréviations

AIA : Acide indole 3-acétique
ACA : Autoinhibited Ca²⁺-ATPases
ALMT : Aluminum-activated malate transporter-like
APREL : Association Provençale de Recherche et d'Expérimentation Légumière
AuxRE : Auxin Response Elements
AVRDC : Asian Vegetable Research and Development Center
CAX : Calcium/proton exchanger
CLIC : Chloride Intracellular Ion Channel
CBL : Calcineurin B-like protein
CHX : Cation/H⁺ Antiporter
CIPK : CBL-interacting protein kinase
CK : Cytokinine
CNGC : Cyclic-nucleotid Gated Channels
CPA : Cation/Proton Antiporter
CTIFL : Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes
DL : Déséquilibre de liaison
EMMA(X) : Efficient Mixed-Model Association (eXpedited)
ERF : Ethylene Response Factors
FDR : False Discovery Rate
GAFL : Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes
GRAB : Groupe de Recherche en Agriculture Biologique
GWAS : Genome Wide Association Study
KEA : K⁺ Efflux Antiporter
KIRC : K⁺ Inward-Rectifying Channels
KORC : K⁺ Outward Rectifying Channels
KUP/HAK/KT : K⁺ transporter / high-affinity K⁺/ K⁺ uptake
MAPKK : Mitogen-activated protein kinase kinase
ML : Maximum Likelihood
MLM : Modèles Linéaires Mixtes
MLMM : Multi-Locus Mixed-Model
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (forme réduite)
NHX : Na⁺/H⁺ Antiporter
NSCC : Non-Selective Cation Channels
PP2C : Protein phosphatase 2C
PSH : Plantes et Systèmes de Culture Horticoles
QTL : Quantitative Trait Locus
REML : Restricted Maximum Likelihood
REVEIL : REcherche de Variétés Économies en Intrants P et K pour la Laitue et la tomate
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
ROS : Reactive oxygen species
SNARE : Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment
SNP : Single Nucleotide Polymorphism
SSR : Simple Sequence Repeats
TPK : Tandem Pore K⁺ channel
TGRC : Tomato Genetic Resources Center
TrK/HKT : Transporters K⁺/ High-affinity K⁺ Transporters
UR : Unité de Recherche

Sommaire

Sommaire	
Introduction générale.....	1
1. Synthèse bibliographique	2
1.1. La tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	2
1.1.a. Taxonomie et diversité génétique	2
1.1.b. Génomique et génétique quantitative	3
1.1.c. Caractéristiques développementales	4
1.1.d. Importance économique et modes de culture	6
1.1.e. Carence en potassium : symptômes et conséquences agronomiques	7
1.2. Métabolisme du potassium chez la tomate.....	8
1.2.a Structure et fonctions des transporteurs et canaux potassiques	8
1.1.b. Absorption et transport du K ⁺ dans la plante	9
1.1.c. Senseurs et voies de régulation	12
1.1.d. Régulation transcriptionnelle et post-traductionnelle des transporteurs de K ⁺	14
1.1.e. Cross-talk entre les voies d'acquisition du potassium et du nitrate	16
1.1.f. Amélioration de l'efficacité d'utilisation/d'absorption du potassium	17
2. Matériels et méthodes	18
2.1. Matériel végétal	18
2.2. Données génomiques	18
2.3. Dispositif expérimental	19
2.4. Phénotypage.....	19
2.5. Analyses statistiques (hors association)	20
2.6. Analyse d'associations	21
2.7. Calcul des intervalles de confiance et identification des gènes candidats	22
3. Résultats	23
3. 1. Effet du stress potassique et corrélation entre les variables	23
3. 2. Détection de QTL <i>via</i> le modèle MLM	24
3. 3. Colocalisations de QTLs et sélection de gènes candidats	24
3. Analyse du polymorphisme allélique.....	26
4. Discussion.....	26
4.1. Biais expérimentaux.....	26
4.2. Effet d'un déficit en potassium sur les variables	27
4.3. Analyse des QTLs identifiés	28
4.4. Perspectives d'améliorations pour l'analyse de données GWAS	29
4.5. Perspectives d'améliorations pour le phénotypage de la core-collection	30
5. Conclusion générale et perspectives.....	31
6. Compétences acquises	32
7. Références bibliographiques	1

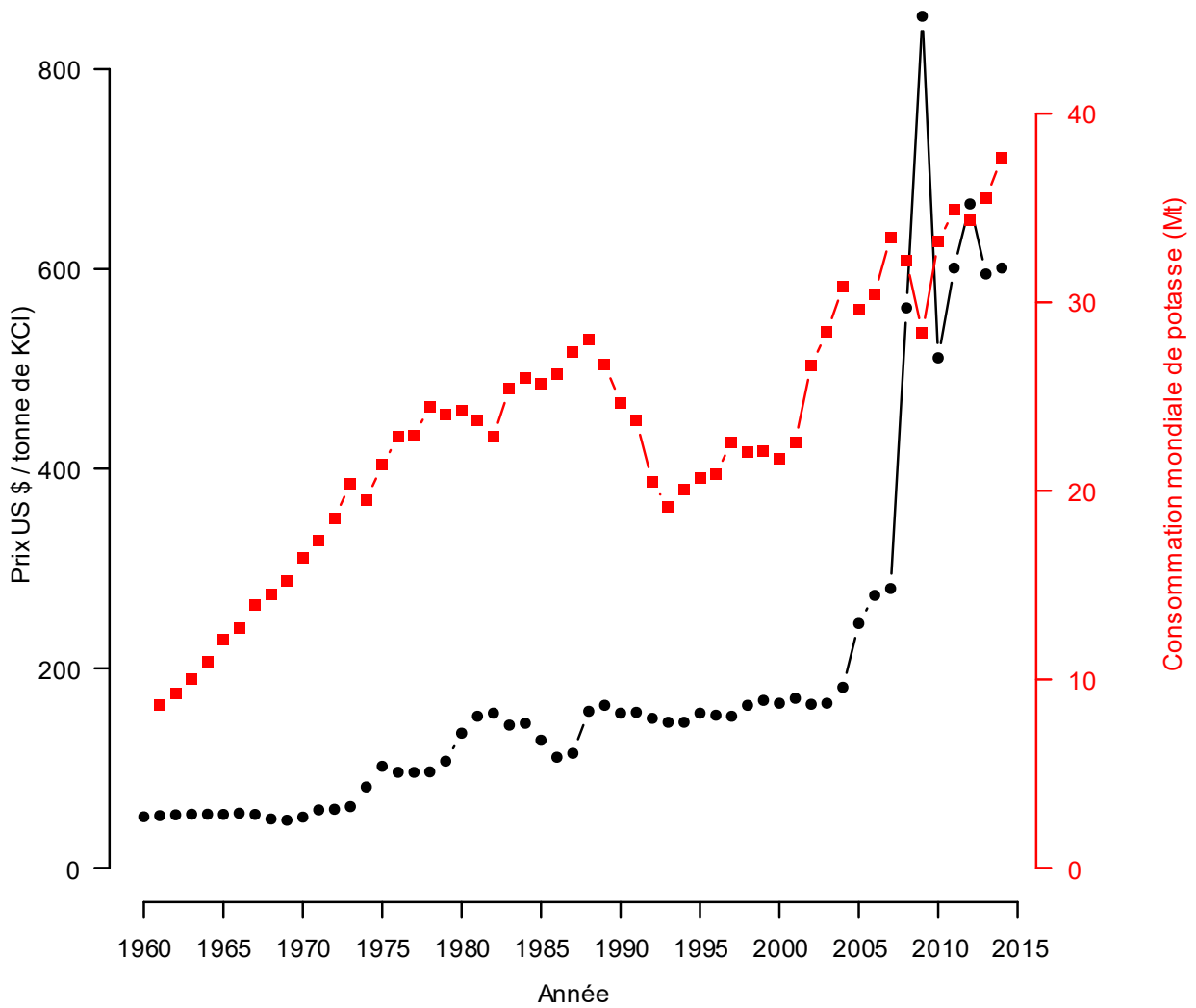


FIGURE 1 | Évolution du prix du chlorure de potassium (en noir) et de la consommation agricole de potasse (en rouge) de 1960 à 2014. Sources : USDA (National Agricultural Statistics Service)^A ; FAOSTAT^B.

Introduction générale

Afin d'adopter une agriculture durable, l'évolution vers des systèmes économes en intrants, notamment en fertilisants, est indispensable. Le raisonnement de la fertilisation NPK passe non seulement par une réduction des doses, mais également par l'optimisation de l'assimilation de ces nutriments par les cultures. Si de nombreuses connaissances ont été acquises sur la nutrition azotée, peu de données sont disponibles concernant la nutrition potassique.

Cela peut être expliqué par l'abondance relative en potassium des sols européens (et globalement de tous les sols issus de pédogénèse post-glaciation) ainsi que l'absence de problématiques et sanitaires environnementales majeures liées à son transfert dans l'environnement. Le potassium est pourtant souvent limitant dans les sols de nombreux pays tels que la Chine, l'Inde et la plupart des pays d'Afrique (Pellerin et al, 2009). À cela s'ajoute que tous ces pays à fort potentiel de développement agricole ne possèdent pas de mines de potassium (celles-ci étant présentes dans un nombre restreint de pays, principalement en Europe de l'Est, en Russie et au Canada). La consommation de potasse par l'agriculture a ainsi fortement augmenté ces dernières années (21.6 Mt en 2012, 37.6 Mt en 2014), tandis que le prix des engrais potassiques ne cesse d'augmenter, restant à des prix très élevés depuis la crise économique de 2008 (**figure 1**).

Au-delà de l'aspect agronomique, la production de végétaux riches en potassium est importante pour la santé humaine. Des études épidémiologiques et cliniques ont ainsi montré qu'une alimentation riche en potassium abaisse la tension artérielle, compense les effets néfastes de l'excès de sodium sur cette dernière et réduit le risque de calculs rénaux (He and MacGregor 2008). La tomate étant un des aliments les plus riches en potassium (256 mg pour 100 g) et le fruit le plus consommé au monde (Aprifel), il peut donc être intéressant de développer de nouveaux cultivars accumulant plus de potassium dans les fruits.

Dans le cadre du projet multipartenarial REVEIL (REcherche de Variétés Économes en Intrants P et K pour la Laitue et la tomate, collaboration INRA PSH, GAFL, CTIFL, APREL, GRAB), l'unité de recherche GAFL a pour objectif, d'une part, d'évaluer la diversité génétique de l'efficacité d'utilisation du potassium dans une core-collection de tomates à petits fruits et d'autre part, de localiser des QTL intervenant dans la réponse au déficit en potassium de façon à pouvoir les exploiter en innovation variétale.

TABLEAU 1 | Classification et origine des espèces apparentées à la tomate cultivée (*S. lycopersicum*) (Peralta et al. (2005).

Section	Groupe	Espèce	Origine géographique
Lycopersicon	Neolycopersicon	<i>S. pennellii</i>	Nord du Pérou au nord du Chili (0 – 4100 m)
	Eriopersicon	<i>S. chilense</i>	Chili côtier et sud du Pérou (0 – 4000 m)
		<i>S. corneliomulleri</i>	Sud du Pérou (1000 – 4500 m)
		<i>S. habrochaites</i>	Équateur andin et Pérou (10–4100 m)
		<i>S. huaylasense</i>	Centre-nord du Pérou, Ancash (950 – 3300 m)
		<i>S. peruvianum</i>	Centre du Pérou au nord du Chili (0 - 3000m)
	Arcanum	<i>S. arcanum</i>	Nord du Pérou, vallées côtières et intérieures des Andes (100 – 4000 m)
		<i>S. chmielewskii</i>	Sud du Pérou et nord de la Bolivie (1200 – 3000 m)
		<i>S. neorickii</i>	Sud de l'Équateur au sud du Pérou (500 – 3500 m)
	Lycopersicon	<i>S. cheesmaniae</i>	Îles du Galápagos (0 – 1300 m)
		<i>S. galapagense</i>	Îles du Galápagos (0 – 1600 m)
		<i>S. lycopersicum</i>	Forme cultivée. Probablement native de l'Équateur et/ou du Pérou.
		<i>S. pimpinellifolium</i>	Sud-ouest de l'Équateur au nord du Chili (0 – 3000m)
	Lycopersicoides		<i>S. juglandifolium</i>
		<i>S. ochranthum</i>	Colombie andine, Équateur et Pérou (1850 – 4100 m)
Juglandifolia		<i>S. lycopersicoides</i>	Sud du Pérou et nord du Chili (1250 – 3600 m)
		<i>S. sitiens</i>	Versants ouest des Andes au sud du Chili (2000 – 3500 m)

L'objectif de ce stage était, dans un premier temps, de caractériser une population de tomates à petits fruits génétiquement très diversifiée pour l'adaptation à un faible apport en K^+ . Les données ont ensuite été analysées pour identifier des QTLs associés à la tolérance à la faible disponibilité en K^+ . À l'issue de l'analyse, il a été recherché *in silico* des colocalisations avec des gènes susceptibles d'affecter la réponse des plantes (métabolisme, transport et stockage de K^+).

1. Synthèse bibliographique

1.1. La tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

1.1.a. Taxonomie et diversité génétique

La tomate cultivée et les espèces qui lui sont apparentées appartiennent à la famille des Solanaceae et plus précisément au genre *Solanum*, section *Lycopersicon*. Cette section regroupe 13 espèces relativement proches génétiquement et qui peuvent, plus ou moins facilement, s'entrecroiser. Les autres taxons sont classés dans les sections *Juglandifolia* et *Lycopersicoides*. Une forte barrière reproductive les sépare de la section *Lycopersicon* (**tableau 1**). Toutes les tomates sauvages proviennent des régions andines, du nord du Chili jusqu'à la Colombie, à l'exception de *S. cheesmaniae*, endémique des îles Galápagos (Peralta et al. 2008).

Malgré la très grande diversité morphologique que l'on observe chez les tomates cultivées, les données génomiques montrent une diversité génétique très limitée par rapport à d'autres espèces cultivées et par rapport à ses espèces apparentées. Celle-ci s'explique par trois goulots d'étranglement : (i) la domestication qui a sans doute débuté dans les vallées andines et s'est poursuivie au Mexique, (ii) l'exportation d'un nombre réduit de cultivars en Europe et (iii) les premiers programmes de sélection en Europe et aux États-Unis basés sur un pool réduit de géniteurs (Ranc et al. 2008).

C'est la sensibilité aux maladies des variétés traditionnelles qui a initié l'intérêt de réinjecter la diversité génétique des espèces sauvages pour leurs résistances. Ainsi, depuis les années 1930, plus de 30 gènes de résistances aux bioagresseurs (pour environ 10 maladies) ont été introgressés à partir de taxons sauvages. Notons qu'aujourd'hui, la généralisation de la sélection assistée par marqueurs permet de cumuler plus de 10 gènes de résistances. Ces espèces sauvages s'avèrent également une source de variabilité très intéressante pour l'adaptation aux stress ou l'amélioration de la qualité des fruits : par exemple *S. cheesmaniae*

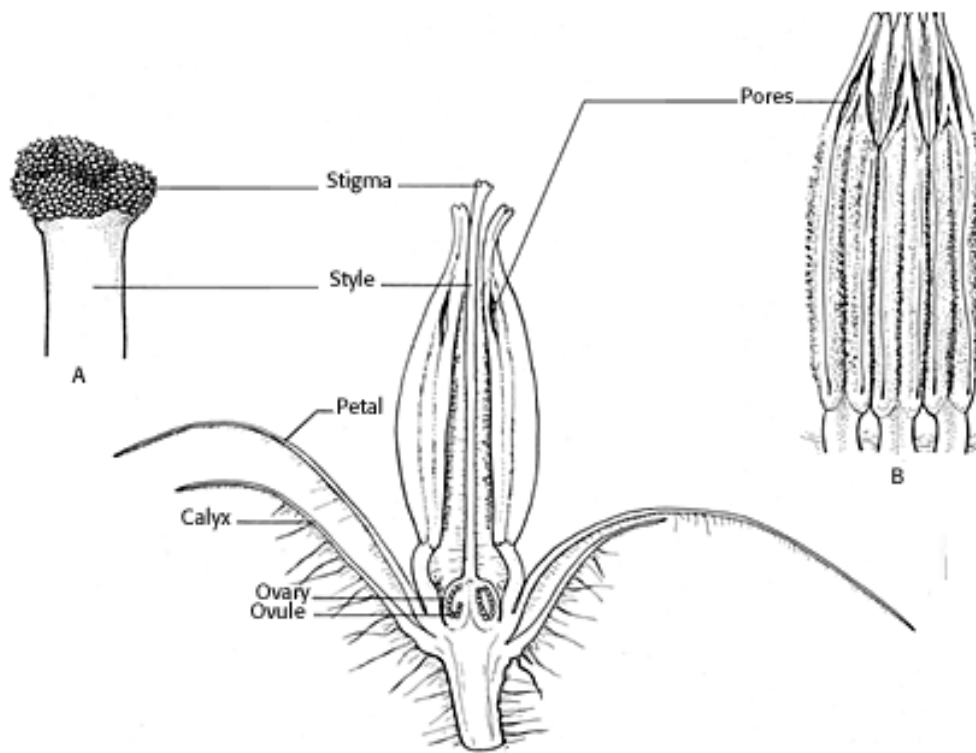


FIGURE 2 | Section longitudinale d'une fleur de tomate cultivée. A. Partie supérieures du pistil ; B. Anthères. (McGregor 1976)

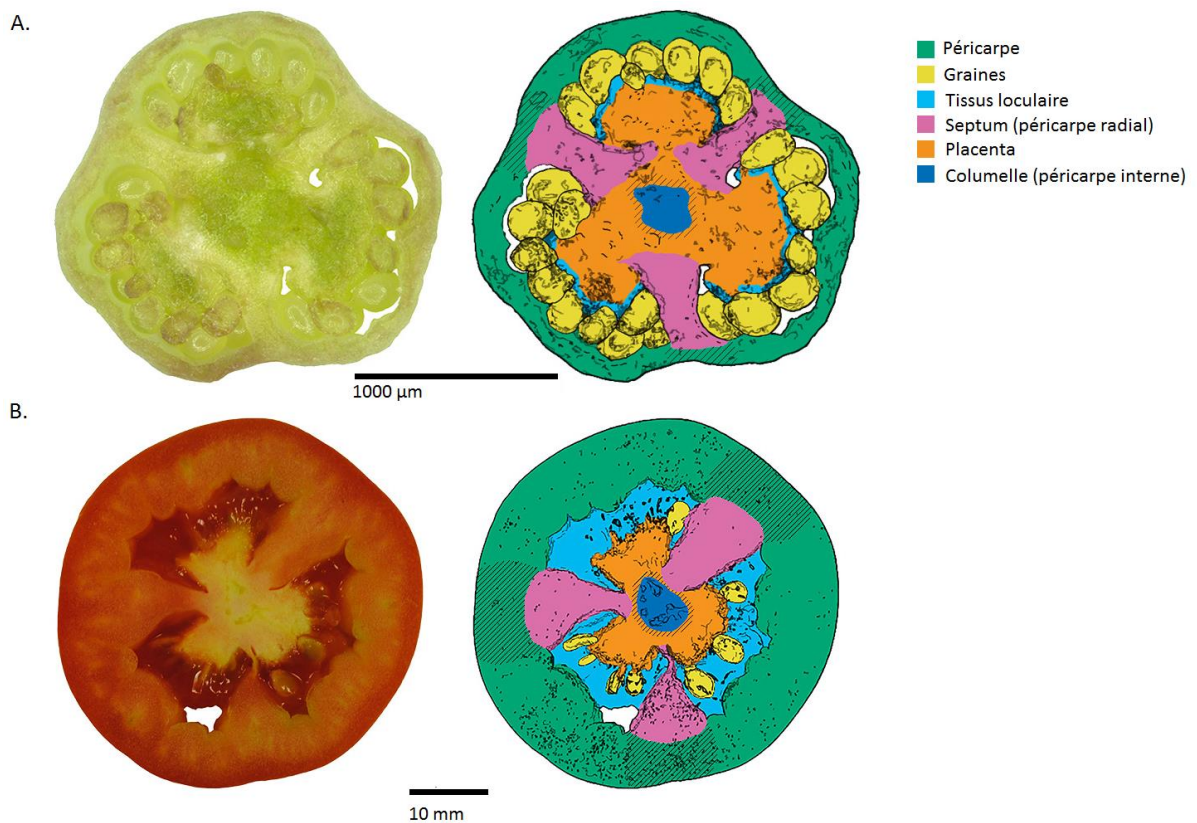


FIGURE 3 | Section équatoriale d'un fruit de tomate (cv. 'M82') au début de l'anthesis (A) et au stade 'Light red' (B). (<http://tea.solgenomics.net>)

et *S. chmielewskii* dont les fruits sont riches en matière sèche. Cette diversité génétique (plus de 80.000 accessions répertoriées) est conservée dans de nombreuses collections au travers du monde. Parmi les plus importantes, citons le Tomato Genetic Resources Center (TGRC) à Davis aux États-Unis, qui possède une importante collection d'accessions sauvages ainsi que de mutants monogéniques, le Vavilov Institute (Russie) ou l'Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC) à Taiwan. Des banques de gènes plus modestes sont entretenues dans de nombreux autres pays dont la France. L'unité de recherche GAFL de l'INRA conserve plus de 2500 accessions de tomate cultivée ainsi qu'une centaine d'accessions appartenant aux taxons apparentés.

1.1.b. Génomique et génétique quantitative

Outre son importance économique, la tomate est considérée comme une espèce modèle pour l'étude des plantes à fruits charnus. En effet, son cycle cultural est relativement rapide (120 jours en moyenne, permettant plusieurs cultures par an) et permet d'obtenir une quantité relativement importante de matériel biologique. D'un point génomique, sa structure génétique diploïde ($2n = 2x = 24$) et son petit génome (~900 Mbp, soit beaucoup plus petit que ceux d'autres espèces comme le poivron (~3500 Mbp)) sont très avantageux pour les études de génétique. Enfin, elle bénéficie du support d'un réseau scientifique spécialisé dans les solanacées : le Sol Genomics Network (<http://solgenomics.net>). Cette structure centralise de nombreuses ressources génétiques, moléculaires et biochimiques pour les rendre accessibles à la communauté scientifique.

Le génome de la tomate a d'abord été étudié grâce à de cartes génétiques basées sur des marqueurs moléculaires tels des RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism* ; (Foolad et al. 1998)) et SSR (*Simple Sequence Repeats* ; (Yang et al. 2005)) dans l'objectif de mener des études d'analyses de liaison. Toutefois, ces marqueurs ont été développés grâce à la détection de polymorphisme entre des accessions cultivées et des espèces sauvages, et sont très peu polymorphes lorsqu'utilisés sur une population intraspécifique. L'étude plus fine de la diversité nucléotidique intraspécifique est devenue possible en 2012 avec l'obtention du génome référence de la tomate (cv. 'Heinz 1706'), ainsi que le développement de puces de génotypages basées sur des SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) telles que la puce SolCAP (<http://solcap.msu.edu>). Celle-ci a eu de nombreuses applications telles que de la cartographie génétique (Sim et al. 2012) , l'étude de la diversité génétique des espèces proches de la tomate (Blanca et al. 2015), ainsi que des travaux de génétiques d'association. La

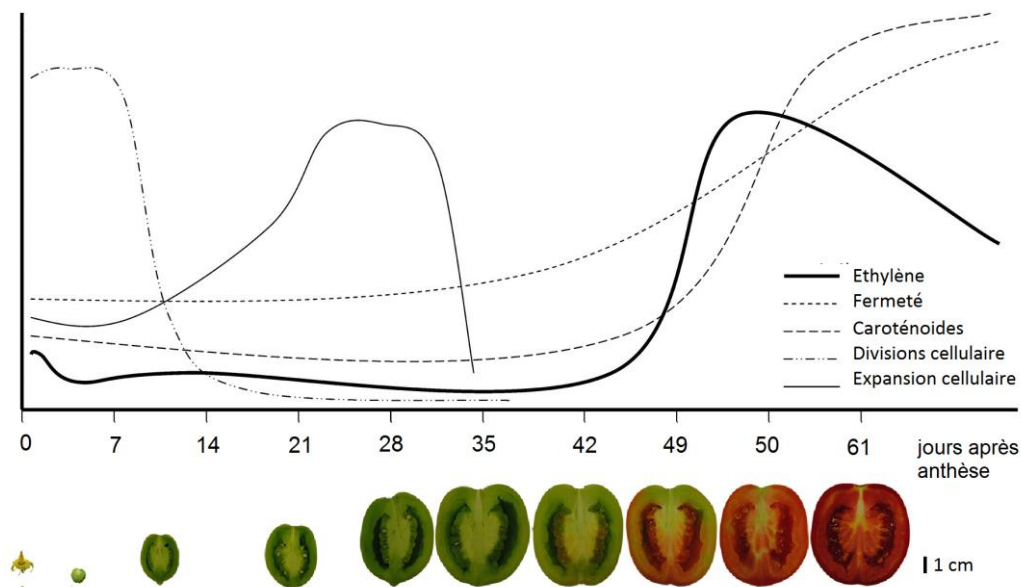


FIGURE 4 | Les étapes de la croissance du fruit : de l'anthèse à la maturité. (adapté de Giovannoni (2004))

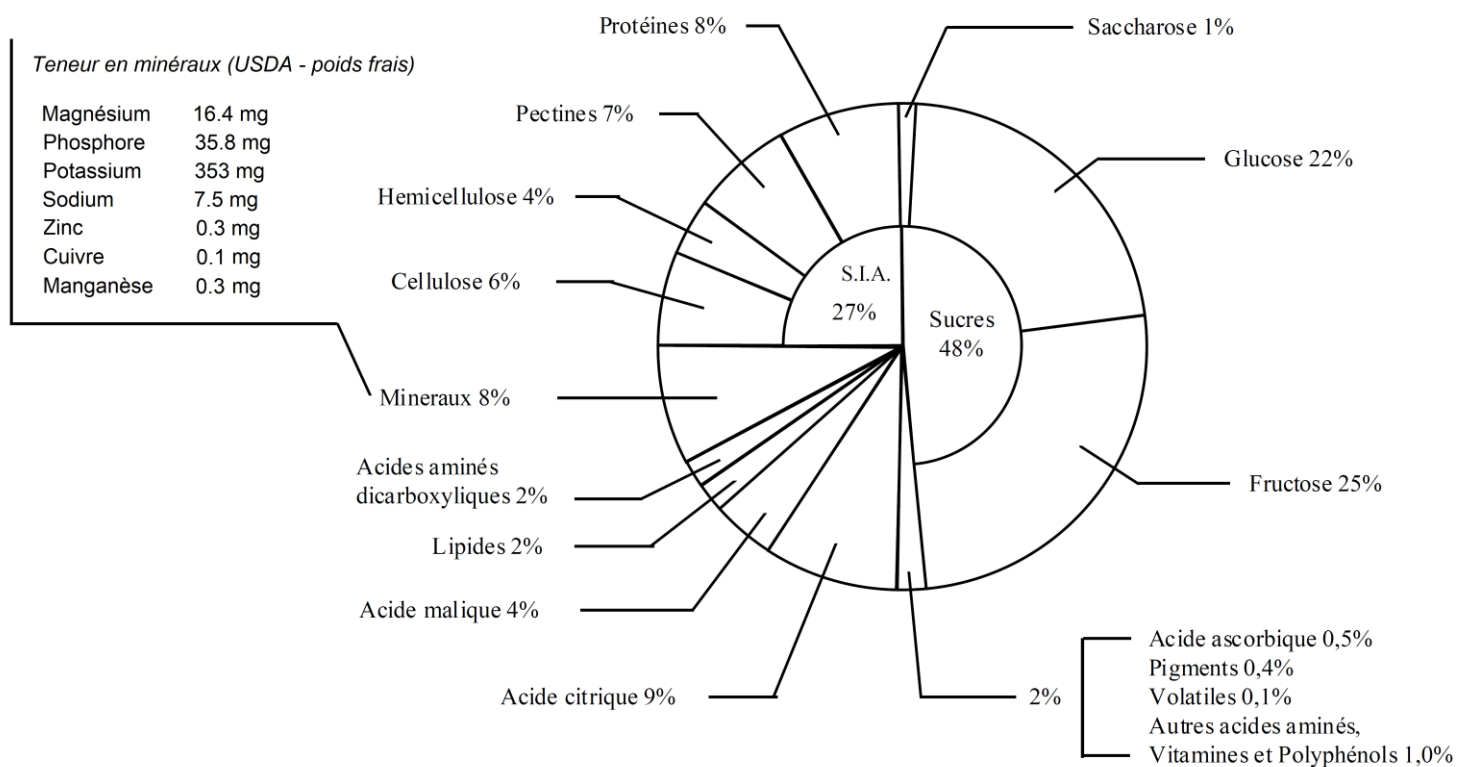


FIGURE 5 | Composition du fruit de tomate à maturité. Les proportions des différents constituants sont exprimées en % de poids sec total du fruit. S.I.A. : Substances insolubles à l'alcool (adaptée de Davis et Hobson (1981) ; USDA).

première population étudiée par GWAS avec cette puce comprenait des accessions cultivées à gros et petits fruits, ainsi que des génotypes sauvages (Sauvage et al. 2014). Ce panel a ensuite été retravaillé pour réduire les effets de structuration de la population (car causant une réduction du pouvoir de détection et source de faux-positifs) pour les travaux de Albert et al. (2016). D'autres types de populations ont par la suite été utilisées, telles que les populations MAGIC (*Multi Parent Advanced Generation Inter-Cross*) (Pascual et al. 2015). Celles-ci permettent de capturer une plus grande part de variabilité que les populations biparentales tout en faisant abstraction des difficultés liées aux panels GWAS fortement structurés.

1.1.c. Caractéristiques développementales

La tomate cultivée est une plante au port herbacé, vivace à l'état naturel, mais annuelle en culture. On classe généralement les cultivars selon leurs types de croissance : indéterminée (tige monopodiale) ou déterminée (tige sympodiale). Ce dernier type est dû à une mutation récessive du gène *self pruning* (*sp*) apparue en Floride en 1914. Ces plantes présentent un port buissonnant relativement compact et fleurissent sur une courte période. Ces caractéristiques permettent une récolte mécanique en plein champ pour la transformation industrielle. Les variétés indéterminées sont quant à elles utilisées pour la culture de frais sous abri.

Les feuilles sont disposées de manières alternes, imparipennées et composées de 7 à 11 folioles plus ou moins dentelées. Les fleurs (**figure 2**), de couleur jaune, sont portées par des cymes unipares. Selon le cultivar et les conditions environnementales, les fleurs peuvent être brévistyle (styles plus courts que les étamines) ou longistyle. Ce dernier morphe conditionne la possibilité de la tomate à sortir de son régime autogame préférentiel. En culture sous abris, la pollinisation est effectuée par le vibrage manuel des fleurs ou par des bourdons d'élevage (*Bombus terrestris*). En plein champ, la fécondation est surtout assurée par le vibrage des fleurs par le vent. Le fruit (**figure 3**) est une baie de forme, de poids et de couleur très variable selon la variété. Les graines sont réparties dans des loges remplies de gel. La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimite des loges. Le placenta constitue la partie centrale du fruit et est à l'origine des tissus parenchymateux. Le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel sont dépendants des variétés.

La croissance des fruits peut être décomposée en trois périodes (**figure 4**) :

- Une première phase de croissance lente qui correspond à une période courte (une dizaine de jours pour les petits calibres à une quinzaine de jours pour les plus gros calibres), durant laquelle a lieu la majorité des divisions cellulaires.

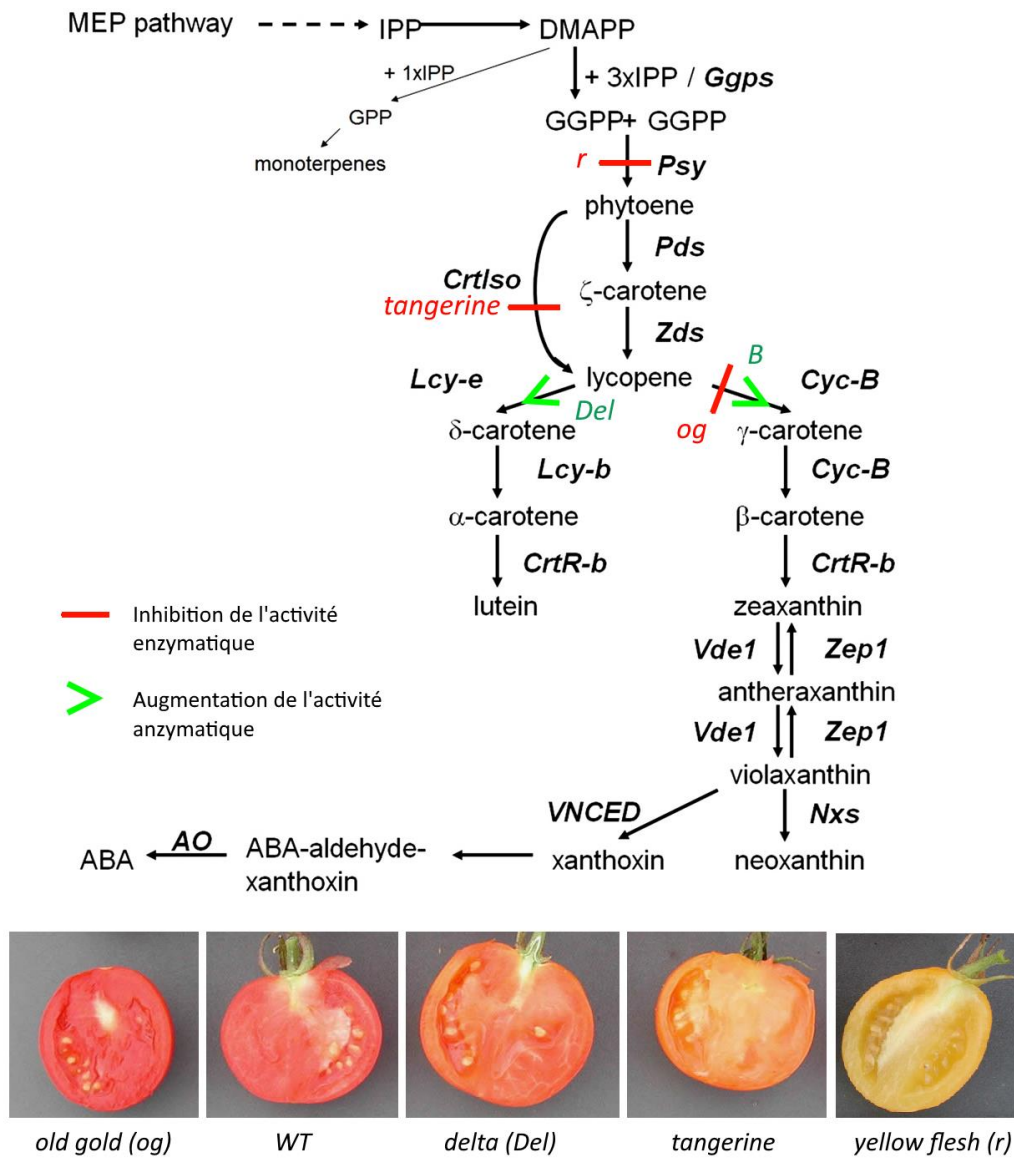


FIGURE 6 | Voies de biosynthèses des caroténoïdes et principaux mutants. ABA: acide abscissique; AO, aldéhyde oxidase; CrtR-b: carotène hydroxylase; Cyc-B: Lycopène synthase spécifique au chromoplaste; DMAPP: diméthylallyl diphosphate; GPP: genaryl diphosphate; GGPP: géranylgeranyl diphosphate; Ggps: GGPP synthase; IPP: isopentenyl diphosphate; Lcy-b: lycopène β -cyclase; Lcy-e: lycopène ϵ -cyclase; MEP: méthylerythritol-phosphate; Nxs: neoxanthine synthase; Pds: phytoène désaturase; Psy: phytoène synthase; Vde1: violaxanthin déépoxydase; VNCED: 9-cis-époxy-caroténoïde dioxygénase; Zds: ζ -carotène désaturase; Zep1: zeaxanthine epoxidase. Adapté de Bergounoux (2014).

- Une deuxième phase de croissance plus longue (environ une trentaine de jours) qui correspond à une phase d'expansion cellulaire et de développement de l'embryon. C'est pendant cette période que l'importation des composés carbonés est maximale, engendrant un gradient de pression osmotique et causant l'entrée massive d'eau dans les cellules (pression de turgescence). La fin de cette période de croissance est communément appelée stade 'vert mature'.

- Une troisième phase dite de maturation est caractérisée par plusieurs transformations biochimiques aboutissant à l'obtention du fruit mûr. Cette phase est déclenchée par un pic de respiration, liée à une augmentation de la synthèse d'éthylène, tous deux caractéristiques des fruits climactériques. Les changements physiologiques majeurs se produisant pendant cette période conduisent à une dégradation de la chlorophylle, la synthèse accrue de caroténoïdes, une perte de fermeté (dégradation des composés membranaires) ainsi qu'une modification des teneurs en sucres, acides et composés volatils (Giovannoni 2004). La composition du fruit mûr est décrite en **figure 5**.

La qualité gustative des fruits relève de la combinaison de trois paramètres : la texture, la saveur et les arômes. La texture se caractérise principalement par la fermeté du fruit. Cette dernière dépend des propriétés structurales des tissus du fruit, comme la pression osmotique au sein des cellules, l'adhésion cellulaire ou les caractéristiques de modification des parois cellulaires lors de la maturation. L'arôme se définit par la composition et la concentration en composés aromatiques volatils, dont plus de 400 ont pu être détectés (bien que seule une vingtaine soit présente en quantité suffisante pour être perçue par l'homme (Baldwin et al. 2000)). La saveur est, quant à elle, relative aux teneurs en sucres solubles et en acides organiques. La saveur sucrée est liée principalement à la concentration en fructose, dont le pouvoir sucrant est plus élevé que celui du glucose. La saveur acide est quant à elle associée à l'acide citrique, aux concentrations plus importantes que l'acide malique dans les fruits à maturité (Grasselly et al, 2000). L'hérédité polygénique de ces trois paramètres implique des centaines de QTL dont la plupart sont à effets mineurs (Causse et al. 2017). Au contraire, les variations de la morphologie du fruit et de sa coloration sont associées à quelques mutations majeures. Ainsi, les variations de forme du fruit peuvent être expliquées par 4 QTL majeurs : *ovate* (conférant une forme ovoïde), *sun* (associé à une forme allongée), ainsi que *fas* et *lc* contrôlant le nombre de loges dans le fruit (Rodríguez et al. 2011).

De même, la grande diversité de couleurs observables chez les tomates est majoritairement due à des mutations dans les enzymes de la voie de biosynthèse des caroténoïdes (**figure 6**). Les couleurs brunes sont dues des mutations affectant la persistance de pigments

Pays	Production totale(en Mt) ^a	Production transformée ^b		Surface cultivée (en millier d'hectare) ^a
		(en Mt)	(% total)	
Chine	59.62	6.20	10.4	1033.27
Inde	20.70	0.13	0.6	7970.00
Total UE	18.05	10,81	59.88	270.05
Italie	6.01	5.20	86.5	99.75
Espagne	5.16	3.35	64.92	60,82
Portugal	1.75	1.55	88.57	20,87
Pays-Bas	0.91	/	/	1,79
Pologne	0.89	0.20	22.47	20,87
Grèce	0.87	0.40	45.97	13,30
Roumanie	0.72	/	/	46,81
France	0.66	0.19	28.78	3,50
Turquie	12.75	1.90	14.9	187.07
USA	10.91	9.90	90.7	126.07
Égypte	7.29	0.32	4.4	182.44
Iran	6.17	0.98	15.9	153.73
Italie	6.01	5.20	86.5	99.75
Brésil	4.23	1.45	34.3	61.53
Mexique	4.24	0.04	0.9	92.99
Total monde	170.8	34.83	20.4	4848.38

TABLEAU 2 | Classement des dix plus grands producteurs de tomates dans le monde en 2017.

Sources : FAOSTAT^a ; World Processing Tomato Council (WPTC)^b

chlorophylliens verts (normalement dégradés à maturité) tels que les locus *green flesh (gf)* et *chlorophyll retainer (cl)*. Citons également le locus *anthocyanin fruit (Aft)*, une mutation dominante introgressée à partir de *S. chilense* qui est responsable de l'accumulation d'anthocyanes sur le péricarpe du fruit.

1.1.d. Importance économique et modes de culture

Deux grands types de production de tomates coexistent. La production de fruits frais, qui selon les régions, peut être réalisée sous serres chauffées, abris non chauffés, ou en plein champ; et une production destinée à la transformation industrielle qui est issue essentiellement de cultures en plein champ. La production globale de tomate (d'industrie et pour le marché de frais) est en constante progression. Elle est passée de 119 Mt en 2000 à 182 Mt en 2017 (FAOstat). La Chine est de loin le premier producteur mondial devant l'Inde et l'ensemble des pays de l'UE suivis de la Turquie et des USA (**tableau 2**). Parmi les pays composant cette dernière, la France se place en huitième position (0,677 Mt). La production française de tomate industrielle (139 000 t en 2018) permet seulement de couvrir 13,5 % de la demande. De même, la production de tomate en frais, bien que beaucoup plus importante (538 000 t en 2018), est également insuffisante pour une consommation nationale qui avoisine 800 000 t : les importations proviennent du Maroc, d'Espagne, de Belgique et des Pays-Bas. Notons que malgré le fait que les surfaces cultivées soient stables, la production française a baissé de 9% en 5 ans. Cette baisse de production est due à l'évolution des choix variétaux vers des tomates de type 'ancien' (types allongés, cœur et côtelées) moins productives que les tomates grappe classiques, mais plus rémunératrices (données Agreste 2018).

Si la culture des tomates en terre sous tunnel est encore courante, la majorité de la production française (97%) est réalisée sous serre hors sol. Les plantes sont enracinées dans un substrat qui peut être composé de laine de roche, de laine de verre ou de fibre de coco, qui est recyclé à la fin de la campagne de culture. Les conditions climatiques (température, humidité, taux de CO₂, et parfois photopériode et intensité lumineuse) sont modulées en fonction du stade de développement des plants. L'apport des engrais dans l'eau d'irrigation est ajusté tout au long du cycle de développement de la culture. Le pH et la conductivité des solutions sont également contrôlés et ajustés : entre 5,8 et 6,0 pour le pH et maintenu autour de 2,5 mS.cm⁻² pour la conductivité (Blanc 1987). Les plants sont tuteurés, habituellement sur un seul fil, taillés pour éliminer les rameaux axillaires et effeuillés pour conserver un bon équilibre végétatif/génératif. Les grappes de fruits ou de fleurs sont taillées en vue de leur



FIGURE 7 | Symptômes foliaires d'un déficit en K^+ . (<https://www.haifa-group.com>)

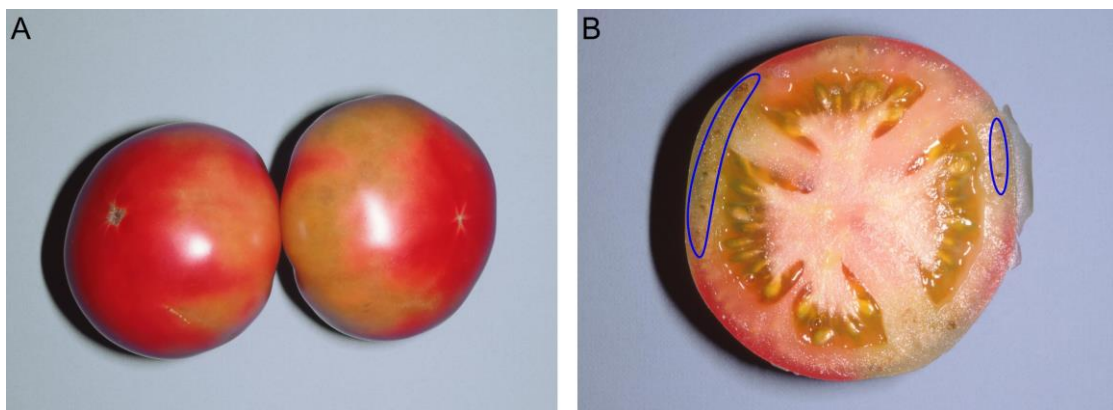


FIGURE 8 | Symptômes sur fruit d'un déficit en K^+ . A. Loges asymétriques et léger brunissement du système vasculaire (voir cercles). B. Marbrure de l'épiderme du fruit résultant d'un mûrissement inégal. (<https://www.iriisphytoprotection.qc.ca>)

donner une longueur, un nombre de fruits et un poids satisfaisant pour les besoins du marché. La protection contre les ravageurs peut intégrer des auxiliaires de cultures, notamment *Macrolophus pygmaeus*, une punaise prédatrice agissant principalement sur les aleurodes, mais également les acariens, les noctuelles, les thrips et les pucerons. Sont également utilisés des auxiliaires parasitoïdes tels que les Trichogrammes, *Encarsia sp.* et *Eretmocerus sp.* Les maladies fongiques, bactériennes et virales sont gérées par l'application de produits phytosanitaires.

1.1.e. Carence en potassium : symptômes et conséquences agronomiques

Le potassium (K^+) est le cation le plus abondant chez les plantes, dont la teneur avoisine souvent celle de l'azote (environ 4-6% du poids sec de la plante). Impliqué dans de nombreux processus physiologiques essentiels à la plante, il participe notamment à la neutralisation du contenu cellulaire, au contrôle de la polarisation membranaire et du potentiel osmotique intracellulaire. En lien avec cette dernière fonction, il joue un rôle majeur dans le contrôle de la turgescence des cellules et est notamment impliqué dans les mouvements stomatiques. Enfin, le K^+ joue un rôle important, direct ou indirect, dans la régulation d'activités enzymatiques, la synthèse des protéines, la photosynthèse et l'homéostasie du pH cytoplasmique (Wang et al. 2013). Lorsque la plante se trouve dans une situation de carence en K^+ , les flux de sève sont perturbés, ce qui se traduit par une diminution prononcée de la vitesse de circulation de la sève phloémienne. Les photo-assimilés, en particulier le saccharose dont la translocation dans le phloème est dépendante du K^+ , s'accumulent alors dans les feuilles. Cela provoque une photo-oxydation de l'appareil photosynthétique à l'origine de chloroses (Hermans et al. 2006).

Chez la tomate, les symptômes d'une carence en potassium se caractérisent dans un premier temps par des taches chlorotiques apparaissant à la périphérie du limbe. Elles gagnent ensuite progressivement les tissus internervaires puis finissent par se nécroser. La feuille devient gaufrée et s'incurve vers le bas (**figure 7**). Ces symptômes apparaissent généralement sur les feuilles les plus âgées, ce qui est la conséquence d'une remobilisation du K^+ au profit des organes plus jeunes. Le symptôme sur fruit se caractérise par un mûrissement inégal qui se manifeste par des marbrures de l'épiderme (*blotchy ripening*), une coloration irrégulière du péricarpe et parfois un léger brunissement du système vasculaire (**figure 8**). Les fruits manquent également de saveur, de caroténoïdes, d'acidité, de fermeté et affichent de faibles

valeurs Brix (% de sucres insolubles). La production de fruits est également réduite et les fruits sont de plus petits calibres (Woldemariam et al. 2018).

Contrairement à la carence en azote, la chlorose liée à la carence en potassium est irréversible, même si le potassium est administré en cours de culture. Pour prévenir ce désordre physiologique, il convient donc d'assurer une fertilisation équilibrée. Il peut s'agir d'apporter un correctif à base de potassium (chlorure ou sulfate de potassium) et éviter les excès de calcium et de magnésium.

1.2. Métabolisme du potassium chez la tomate

1.2.a Structure et fonctions des transporteurs et canaux potassiques

Le potassium est réparti de manière hétérogène dans la plante. Alors que la concentration cytoplasmique en K^+ reste très stable ($\sim 100\text{mM}$), la concentration vacuolaire est plus variable : entre 10mM et 200mM selon la disponibilité en potassium et le type de tissus (Wang and Wu 2013). En comparaison aux concentrations cellulaires en K^+ , la concentration en potassium de la rhizosphère est beaucoup plus faible, typiquement entre 0.1 et 1mM (Maathuis 2009). C'est grâce à un système de protéines de transports spécialisés que les plantes absorbent et redistribuent le potassium dans tous ses tissus.

On distingue deux grands types de systèmes de transport selon le sens de diffusion de l'élément transporté et les mécanismes permettant son passage d'un compartiment à l'autre. D'une part, les canaux ioniques qui permettent un transport passif des ions, c'est-à-dire dans le sens du gradient électrochimique. Ils se caractérisent par la présence d'un pore qui, lorsqu'il est ouvert, laisse passer les ions sans changement de conformation supplémentaire. D'autre part, les transporteurs d'ions qui se différencient des canaux ioniques par le fait qu'ils changent de conformation à chaque fois qu'ils laissent passer un substrat. On peut ensuite classer les transporteurs en plusieurs catégories : (1) Les transporteurs uniports qui ne transportent qu'un seul ion sans consommation d'énergie (utilisation du gradient électrochimique), (2) les pompes ioniques (ou transporteurs primaires) qui transportent leurs ions contre le gradient électrochimique grâce à l'énergie issue de l'hydrolyse d'un substrat énergétique tel que l'ATP, (3) les co-transporteurs (ou transporteurs secondaires) qui transportent des ions contre le gradient électrochimique grâce au couplage avec le transport d'un autre ion (dans son propre gradient). Selon le fait que les deux ions sont transportés dans le même sens ou le sens opposé, on parle de symport ou antiport.

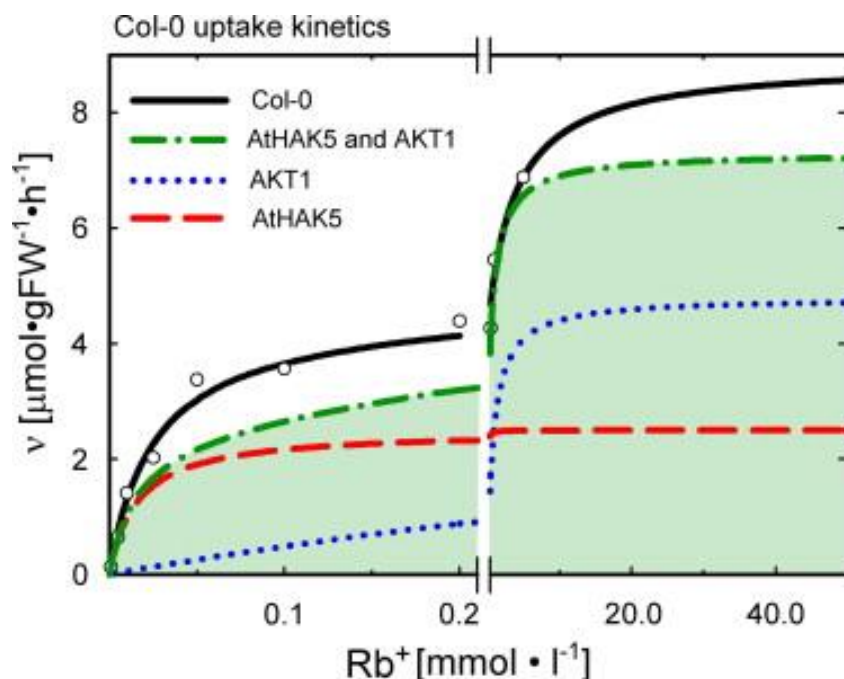


FIGURE 10 | Cinétique d'absorption du rubidium chez *Arabidopsis thaliana* cv. 'Col-0' (ligne noire) ainsi que des transporteurs *AtHAK5* (ligne rouge) et *AtAKT1* (ligne bleue) individuellement. La ligne verte représente la cinétique d'absorption combinée des transporteurs *AtHAK5* et *AtAKT1*. L'ensemble des données utilisées pour ce graphique ont été obtenues en calculant les paramètres enzymatiques K_m et V_{max} pour l'absorption de rubidium radiomarqué ($^{86}\text{Rb}^+$, utilisé comme biomarqueur du potassium) sur des plantes *wild-type* (Col-0) et des mutants knock-down *akt1*, *hak5* et *akt1-hak5* (Gierth and Mäser 2007).

TABLEAU 3 | Synthèse des connaissances sur les complexes CBL-CIPK impliqués dans la réponse au déficit en K^+ chez *Arabidopsis thaliana*.

CBL	CIPK	Cible	Réponse	Référence
CBL1/9	CIPK23	AKT1	Augmentation de l'activité de AKT1	(Xu et al. 2006)
CBL4	CIPK6	AKT2	Augmentation de l'activité de AKT2	(Held et al. 2011)
CBLs	CIPKs	PP2Cs	Levée de l'augmentation de l'activité de AKT1	(Lan et al. 2011)
CBL10	Aucun*	AKT1	Module négativement l'activité de AKT1	(Ren et al. 2013)
CBL3	CIPK9	Inconnu	Régulation de la translocation ou de la translocation du K^+ entre les racines et les parties végétatives.	(Liu et al. 2013)
CBL1	CIPK23	HAK5	Augmentation de l'affinité de HAK5 pour le K^+	(Ragel et al. 2015)

*Interaction directe

Les gènes codants des transporteurs de K^+ se répartissent en 6 familles décrites succinctement ci-dessous (pour revue détaillée voir Genies (2017)):

- Les canaux potassiques Shaker – 9 gènes chez *Arabidopsis* et 16 chez la tomate : Il s'agit de canaux de type sélectif dont l'ouverture est activée lorsque le potentiel membranaire est plus négatif que le potentiel d'équilibre du K^+ . Ils sont subdivisés en 2 groupes en fonction de leurs capacités de rectification du potentiel membranaire : entrant chez les KIRC (K^+ Inward-Rectifying Channels) et sortant chez les KORC (K^+ Outward Rectifying Channels).

- Les canaux TPK (Tandem Pore K^+ channel) – 5 gènes chez *Arabidopsis* et 6 chez la tomate : Leurs ouvertures, indépendantes du voltage, sont contrôlées par le Ca_2^+ et le pH.

- Les canaux NSCC (Non-Selective Cation Channels) – 40 gènes chez *Arabidopsis* et 35 chez la tomate : Ces protéines sont des canaux de types non sélectifs dont l'ouverture est contrôlée par des ligands. On les subdivise en deux sous-familles : les CNGC (Cyclic-nucleotide Gated Channels) et les GLR (Glutamate-Like Receptors) dont l'ouverture est respectivement activée par des nucléotides cycliques ou des acides aminés.

- Les transporteurs KUP/HAK/KT (K^+ transporter / high-affinity K^+ / K^+ uptake) – 13 gènes chez *Arabidopsis* et 21 chez la tomate : Agissant probablement comme symporteur K^+/H^+ , les membres de cette famille sont tous impliqués dans l'absorption ou le transport de K^+ .

- Les transporteurs TrK/HKT (Transporters K^+ / High-affinity K^+ Transporters) – 1 gène chez *Arabidopsis* et 2 chez la tomate : Les membres de cette famille de transporteurs peuvent agir comme uniport Na^+ ou symport K^+/Na^+ .

- Les transporteurs CPA (Cation/Proton Antiporter) – 44 gènes chez *Arabidopsis* et 32 chez la tomate : Large famille composée d'antiports de cations monovalents (Na^+/H^+ et K^+/H^+), elle est subdivisée en 3 groupes : les **KEA** (K^+ Efflux Antiporter), les **NHX** (Na^+/H^+ Antiporter) et les **CHX** (Cation/ H^+ Antiporter).

Un arbre phylogénique représentant l'ensemble des transporteurs de potassium chez la tomate est présenté en **figure 9**.

1.1.b. Absorption et transport du K^+ dans la plante

Les voies d'absorption et de transport K^+ n'ont été que peu abordées chez la tomate contrairement à l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana*. Je me baserai donc sur ces deux espèces (dont les gènes seront désignés respectivement par les acronymes *Sl* et *At*) pour décrire de manière plus exhaustive les systèmes d'absorption et de transport du potassium.

Le potassium (et également la plupart des ions) présente une cinétique d'absorption composée de deux systèmes dépendants de la concentration de l'ion. Lorsque la concentration de l'ion dans le milieu est élevée (de l'ordre du mM), c'est le système dit basse-affinité qui fonctionne parfois avec une cinétique quasi linéaire en fonction de la concentration en ion ou qui suit une cinétique de Michaelis-Menten avec un K_m relativement élevé (comme c'est le cas de K^+). À l'opposé, le système dit haute-affinité est actif pour des concentrations relativement faibles (de l'ordre du μM voire de la centaine de μM) et suit une cinétique de type Michaelis-Menten avec un petit K_m (**figure 10**). Chez *Arabidopsis*, l'absorption du K^+ au niveau des racines est réalisée principalement (84%) par le canal Shaker *AtAKT1* et le symporteur H^+/K^+ *AtHAK5* (Gierth and Mäser 2007). Notons que ces protéines présentent des orthologues chez la tomate, respectivement *SLKLT1* et *SHAK5*. (Nieves-Cordonos et al. 2016). Quand $[K^+]_{\text{ext}}$ est très faible ($< 10 \mu\text{M}$), *AtHAK5* est le seul transporteur impliqué dans l'absorption du K^+ . Lorsque $[K^+]_{\text{ext}} > 10 \mu\text{M}$, le potentiel de membrane devient plus négatif que le potentiel d'équilibre de l'ion K^+ ce qui permet le fonctionnement de *AtAKT1*. Enfin, lorsque $[K^+]_{\text{ext}} > 500 \mu\text{M}$, l'activité de *AtHAK5* est réprimée alors que celle de *AtAKT1* devient importante et prédominante. Il a également été récemment décrit que *AtKUP7* contribuerait également à l'absorption du potassium en condition de déficit en K^+ (Han et al. 2016). Il semblerait qu'il existe un autre système encore non identifié impliqué dans l'absorption du potassium pour des concentrations élevées ($> 1\text{mM}$) (Rubio et al. 2010). Notons enfin la description récente du rôle de *SHAK10* dans l'absorption de K^+ *via* le système mycorhizien (Liu et al. 2019). Spécifiquement exprimé dans les cellules contenant un arbuscule endomycorhizien, il serait impliqué dans la translocation du K^+ entre les deux organismes.

Après avoir traversé les cellules de l'épiderme, le K^+ traverse les cellules du cortex jusqu'à la stèle. Ce cheminement s'opère par deux voies complémentaires, la voie apoplastique (continuum des espaces extracellulaires) ou la voie symplasmique (à travers les cytoplasmes interconnectés par les plasmodesmes). Notons qu'en dehors des régions apicales, la subérisation de l'endoderme (cadre de Caspary) rend obligatoire le franchissement des membranes cellulaires par la voie symplasmique. Le chargement du xylème est assuré essentiellement (plus de 50%) par le canal Shaker *AtSKOR* (orthologue chez la tomate : *SHSKOR*) (Gaymard et al. 1998). Le canal *AtKUP7* aurait également la même fonction, mais son importance serait moindre (Han et al. 2016).

Après être transloqué dans le xylème, le K^+ ne circule pas de manière unidirectionnelle. Une partie du K^+ recircule des parties végétatives jusqu'aux racines à partir du phloème. La

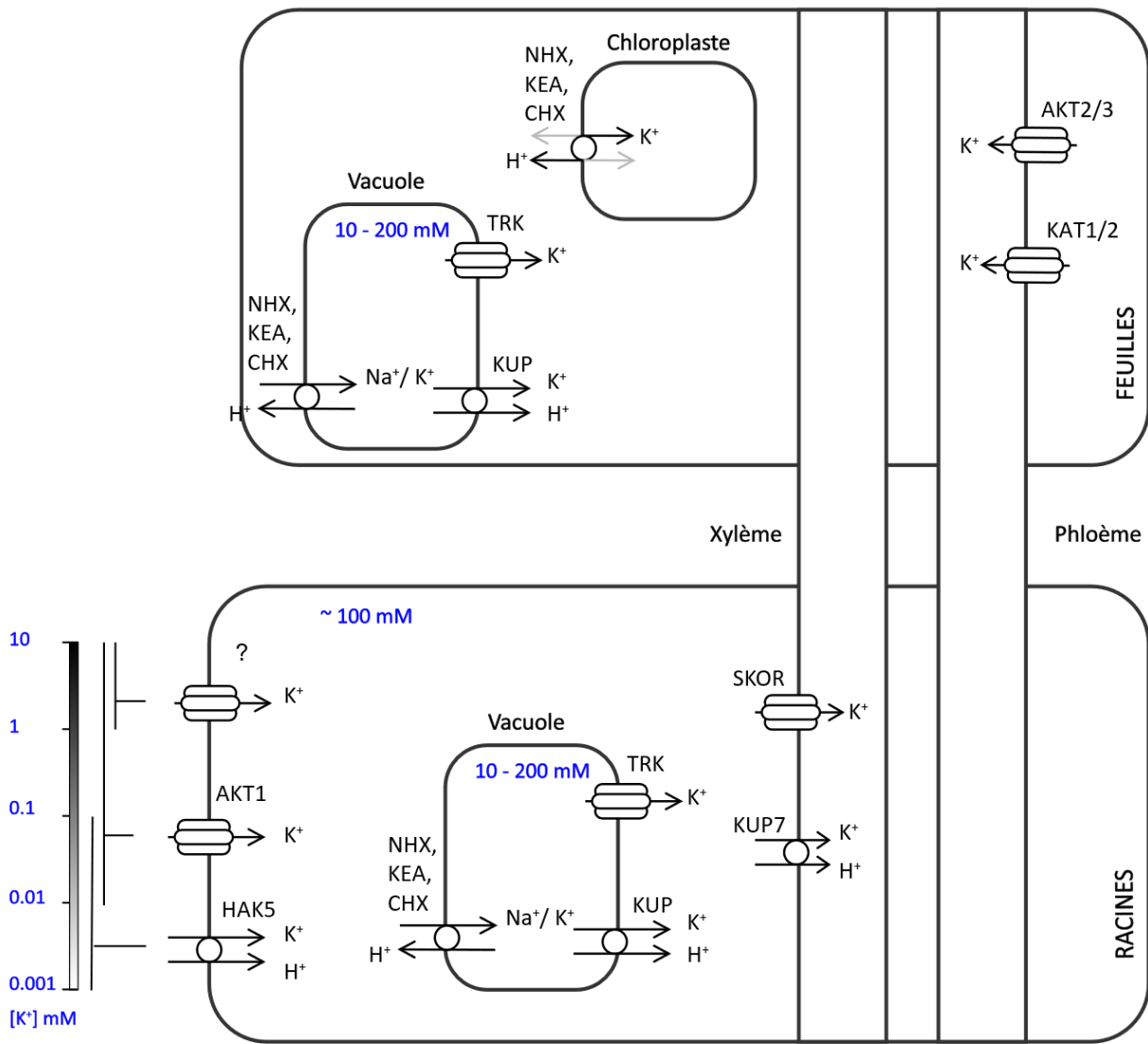


FIGURE 11 | Représentation du système d'absorption et de transport du potassium dans la plante.

translocation du K^+ dans le phloème est réalisées par divers transporteurs dont *AtKAT1*, *AtKAT2* et *AtAKT2/3* (Lacombe et al. 2000). Cette recirculation permet une régulation de l'absorption du K^+ au niveau des racines en fonction de son niveau dans les parties végétatives. Elle a également un rôle important dans le transport dans le xylème du NO_3^- (voir partie 2.e.), et permet également de redistribuer le K^+ des organes sénescents à ceux en développement. Ce phénomène est relativement important puisqu'il a été estimé que 90% du K^+ exporté des racines aux organes végétatifs *via* le xylème est réexporté *via* le phloème aux racines (Hell and Mendel 2010) (**figure 11**).

Les mouvements intracellulaires de K^+ entre le cytoplasme et les vacuoles ont plusieurs fonctions comme la séquestration de K^+ ou le contrôle osmotique de l'ouverture/fermeture stomatique. La séquestration de K^+ permet non seulement de contrôler l'homéostasie, mais également de permettre à la plante de stocker du potassium. C'est donc un mécanisme essentiel dans la tolérance au manque en potassium. Les protéines impliquées dans ces mécanismes appartiennent à la famille des NHXs. Ces protéines sont des antiports K^+/H^+ mais peuvent également fonctionner comme des antiports Na^+/H^+ . Elles jouent donc également un rôle dans la détoxification du sodium (Hanana et al. 2009). Chez *Arabidopsis*, quatre de ces protéines sont exprimées dans le tonoplaste (*AtNHX1-4*) avec une contribution plus importante des transporteurs *AtNHX1* et *AtNHX2* pour la translocation des ions Na^+ et K^+ (Bassil et al. 2019). Les travaux de Galvez et al. (2012) chez la tomate concordent avec ce système. Leurs travaux indiquent que, en condition de stress salin, l'espèce tolérante *S. pimpinellifolium* présente une expression plus importante de *S/NHX3* et *S/NHX4* (respectivement orthologues de *AtNHX1* et *AtNHX2*) par rapport à un cultivar sensible (Gálvez et al. 2012).

L'ouverture/fermeture stomatique par le mouvement des cellules de garde est régulée par des modifications osmotiques. L'influx de K^+ dans les cellules de garde (ouverture) est effectué par les complexes *AtKAT1* et *AtKAT2* (Lebaudy et al. 2010) ainsi que l'antiport Ca^{2+}/H^+ *AtCHX20* (Padmanaban et al. 2007). L'efflux de K^+ est accompli essentiellement par un canal à rectification sortante appelé *AtGORK*. Il est activé par la sortie d'anions de la cellule de garde, c'est-à-dire la dépolarisation et son activation a pour effet une perte d'eau et la fermeture des stomates (Hosy et al. 2003).

1.1.c. Senseurs et voies de régulation

Si les conséquences phénotypiques dues au stress lié au déficit en K^+ (ci-après désigné 'stress K^+ ') apparaissent après plusieurs jours, la perception de la privation par la plante est beaucoup plus rapide. Le premier événement détectable chez *Arabidopsis* est une hyperpolarisation du potentiel membranaire des cellules racinaires. Elle paraît quelques minutes après la privation en K^+ (Maathuis et Sanders, 1993). Le même phénomène a été décrit plus tard chez la tomate (Nieves-Cordones et al. 2008).

Un pic de production de ROS est détecté 6h (24h chez la tomate) après la privation en K^+ dans les cellules de l'épiderme de la zone d'élongation, ainsi que dans les cellules méristématiques de l'apex racinaire (Shin et al. 2005 ; Hernandez et al. 2012). Elle serait due à l'activité de plusieurs oxydoréductases, dont la NADPH oxydases *AtRHD2* et la peroxydase *AtRCL3* (Kim et al. 2010). L'accumulation de $O_2^{\cdot-}$ et H_2O_2 qui en résulte régule l'expression de plusieurs gènes dont le transporteur de haute affinité *AtHAKT5* (augmentation de la transcription) (Kim et al. 2010).

En parallèle à l'accumulation de ROS, sont détectés des changements dans la concentration cytoplasmique en Ca^{2+} . Il est bien connu que la signalisation calcique intracellulaire joue un rôle crucial pour plusieurs voies de transduction en réponse à des stress abiotiques. La signature calcique observée chez *Arabidopsis* après privation en K^+ a été récemment décrite : elle est composée de deux signaux Ca^{2+} successifs ayant des patterns spatio-temporels spécifiques (Behera et al. 2017). Elle entraîne l'activation de complexes CBL-CIPK connus pour réguler par phosphorylation de nombreuses protéines cibles.

La signalisation associée au déficit en K^+ implique également de nombreuses phytohormones telles que l'éthylène, l'acide jasmonique et l'auxine qui sont très souvent cités dans la littérature. Dans les racines d'*Arabidopsis*, c'est après 6 à 30h de privation en K^+ que la transcription de gènes liés à des voies de biosynthèses d'éthylène est augmentée. Il en résulte une production d'éthylène deux fois supérieure par rapport au contrôle (Shin and Schachtman 2004). Kim et al. (2012) ont ensuite démontré l'importance de l'éthylène dans l'élongation racinaire et l'expression de *AtHAK5* (notamment *via* le facteur de transcription de type ERF *AtRAP2.11*), ce qui suggère que l'éthylène agirait comme un régulateur de la production de ROS.

Le déficit en K^+ impacte également la concentration et la distribution en auxine dans les racines. Il a en effet été montré que le déficit en K^+ réduit la concentration racinaire en acide indole 3-acétique (AIA) chez *Arabidopsis* (Shin et al. 2007). De plus, la carence en K^+

perturbe le transport de l'auxine dans les racines, ce qui entraîne une distribution erratique de cette phytohormone (accumulation au niveau des cellules du cylindre central situé dans l'apex racinaire (Vicente-Agullo et al. 2004). Plusieurs auteurs ont ensuite montré que l'interaction entre l'auxine et la signalisation liée au déficit K^+ implique des transporteurs potassiques.

En effet, l'expression de canal *AtTHR1/AtKUP4* facilite les flux d'auxines dans les racines et régule ainsi le développement des racines latérales. Le mutant perte de fonction *thr1* se distingue notamment par une distribution aberrante du transporteur d'auxine *AtPIN1* et un blocage des flux d'auxines au niveau de l'apex racinaire (Dolan 2013). Le mécanisme par lequel *AtTHR1/AtKUP4* et *AtPIN1* est toutefois encore inconnu. Inversement, le niveau d'auxine module positivement l'expression de plusieurs canaux potassiques tel que *AtKAT1* et *AtKAT2* (Philippar et al. 2004). L'ensemble de ces résultats suggère que c'est le maintien des flux d'auxines lors du déficit en K^+ qui serait associé à une tolérance. Zhao et al. (2018), par la comparaison du transcriptome de deux cultivars de tomate sensible et tolérant au déficit en K^+ , ont ainsi pu mettre en évidence des différences dans la transcription de gènes liés à la biosynthèse et au transport de l'auxine. Plusieurs transporteurs d'auxine de type PIN (*SIPIN2*, *SIPIN5* et *SIPIN10*) sont exprimés de manière plus importante chez le cultivar tolérant. Les auteurs suggèrent que c'est l'expression de ces transporteurs qui serait à l'origine de la plus forte accumulation d'auxine chez le cultivar tolérant ainsi que d'un ratio AIA/cytokinine plus élevé (modification de l'architecture racinaire).

La concentration en cytokinine (CK) est également réduite lors du déficit en potassium. Chez *Arabidopsis*, un mutants perte de fonction pour des récepteurs de CK (*ahk2/ahk3*) a perdu plusieurs caractéristiques de la signalisation liée au stress K^+ tel que l'accumulation de ROS et l'augmentation de la croissance des poils absorbants. De même un mutant CK-déficient (*ipt1,3,5,7*, présentant plusieurs mutations de plusieurs ATP/ADP isopentenyltransferases impliquées dans la biosynthèse de plusieurs formes de CK) accumule plus de ROS et exprime de manière plus importante le transporteur de haute affinité *AtHAK5* (Nam et al. 2012). Les résultats de cette étude suggèrent donc que la réduction des cytokinines lors du stress K^+ stimule l'accumulation de ROS, la croissance des poils absorbants et l'expression de *AtHAK5*. Ces ajustements du cross-talk hormonal lors du stress K^+ participent donc à la modification de l'architecture racinaire pour améliorer l'efficacité d'absorption du potassium.

Enfin, citons une probable voie de signalisation lié au stress K^+ impliquant le métabolisme des sucres. Plusieurs études ont suggéré que les sucres solubles pouvaient être impliqués indirectement dans la production de ROS *via* la formation de NADPH (produit de la phase

oxydative de la voie des pentoses phosphates (Couée et al. 2006)). Ils auraient également un autre rôle dans la régulation du stress oxydatif *via* la détoxification du radical hydroxyle (Matros et al. 2015). L'existence d'une telle voie de signalisation chez la tomate est suggérée par les résultats de l'étude de transcriptomique de Zhao et al. (2018) (voir plus haut pour plus de détails). Les auteurs de ce travail ont ainsi identifié plusieurs gènes liés au transport des sucres solubles dont l'expression était plus importante chez le cultivar tolérant en condition de stress K^+ . Ces gènes appartiennent aux familles de transporteurs SWEET et SLC (*SoLute Carrier*), tous deux impliqués dans la translocation de sucres solubles des organes sources aux organes puits (donc aux racines). Les auteurs suggèrent que l'augmentation de l'allocation de sucres solubles aux racines lors du stress K^+ participerait à la modification de l'architecture racinaire indirectement en favorisant l'accumulation de ROS, et de manière directe en augmentant l'allocation de photo-assimilés aux racines. Des résultats similaires ont également été observés au niveau du péricarpe des fruits de raisin où l'expression des protéines impliquées dans le transport du potassium et des sucres étaient fortement corrélés (Coetzee et al. 2019).

1.1.d. Régulation transcriptionnelle et post-traductionnelle des transporteurs de K^+

La régulation transcriptionnelle des transporteurs de K^+ est un mécanisme majeur dans le mécanisme de tolérance au déficit en K^+ . Par exemple, il a été décrit chez la tomate qu'une hyperpolarisation de la membrane entraînait une accumulation du transcrit du gène *S/HAK5* (Nieves-Cordones et al. 2008). La question ici est de savoir comment les signalisations ROS, éthylène et autres voies hormonales sont liées à l'accumulation de transcrit HAK5. Une première réponse a été apportée en utilisant des lignées de type '*activation tagging*' qui a montré que le facteur de transcription RAP2.11 pouvait se fixer sur une séquence promotrice (sur un élément GC-box) de *AtHACK5* et activer sa transcription (Kim et al. 2012). Avec la même technique, 4 autres facteurs de transcription augmentant la transcription de *AtHAK5* ont été décrits : DDF2, JLO, TF_IIA, et bHLH121 (Hong et al. 2013). Plus récemment, le rôle crucial du facteur de transcription *AtARF2* en tant que répresseur de *AtHAK5* a été mis en évidence. Lorsque le niveau en K^+ n'est pas limitant, *AtARF2* peut se fixer sur les éléments AuxRE de la séquence promotrice de *AtHAK5* ce qui inhibe sa transcription. En condition de stress K^+ , *AtARF2* est phosphorylée ce qui lève sa capacité à se fixer sur *AtHAK5* (Zhao et al. 2016). Notons que la transcription de HAK5 ne s'accompagne pas nécessairement d'une

absorption de haute affinité du potassium. En effet Rubio et al. (2014) ont montré que chez *Arabidopsis* et la tomate, la privation en azote (NO_3^-) et en phosphore (Pi) augmentait le niveau d'expression de HAK5, mais sans affecter l'absorption du K^+ . Lorsque les traitements $-\text{NO}_3^-$ et $-\text{Pi}$ étaient appliqués en même temps que la privation en K^+ , le niveau de transcription de HAK5 et l'absorption du K^+ étaient similaires à un simple traitement $-\text{K}^+$. Contrairement à *AtHAK5*, la transcription du gène *AtAKT1* est constitutive et n'est donc pas affectée par le statut en potassium (Lagarde et al. 1996). La régulation de *AtAKT1* est en fait de nature post-traductionnelle.

La régulation post-traductionnelle est aussi un levier majeur de régulation des transporteurs de K^+ . Le premier exemple décrit est l'activation par la privation en K^+ de *AtCBL1-9* qui va ensuite recruter la kinase *AtCIPK23*. Ce complexe va phosphoryler le canal *AtAKT1* ce qui permet d'augmenter l'influx de K^+ (Xu et al. 2006). Par la suite, plusieurs autres CBLs interagissant avec des CIPKs impliqués dans la réponse au stress K^+ ont pu être identifiés (**tableau 3**). *Arabidopsis* compte au total 10 CBLs et 26 CIPKs ; la tomate 13 CBLs et 23 CIPKs (Zhang et al. 2014).

Notons que certains complexes CBL/CIPK (*AtCIPK6*, *AtCIPK16* et *AtCIPK23*) peuvent interagir avec des phosphatases de type PP2Cs. Ces dernières se lient, sur le domaine kinase des CIPK afin de désactiver indirectement *AtAKT1* en inhibant sa phosphorylation. Il a également été décrit que certains CBL interagissent avec les PP2C et inhibent leur activité, ce qui améliore l'activation de l'*AtAKT1* induite par la CIPK (Lan et al. 2011). Ces mécanismes permettent une régulation très fine de l'activité de AKT1. *AtHAK5* peut subir un autre pattern de phosphorylation par un complexe formé par une Raf-like MAPKK appelée *AtLK1* et une calmoduline-like (*AtCML9*) ce qui favorise son accumulation au niveau de la membrane (Brauer et al. 2016).

Hormis les mécanismes de phosphorylation/déphosphorylations, l'activité de AKT1 est régulée par des interactions avec d'autres sous-unités. Ainsi, dans sa forme hétérotétramérique avec la sous-unité régulatrice *AtKC1*, l'activation de *AtAKT1* nécessite un potentiel membranaire plus négatif (de -70 mV) que sa forme homotétramérique (Geiger et al. 2009). De plus, *AtKC1* interagit avec des protéines SNARE : *AtSYPA21* dont l'interaction a un impact activateur sur *AtAKT1/AtKC1* (Honsbein et al. 2009), et *AtVAMP721* dont l'interaction est inhibitrice (Zhang et al. 2015).

1.1.e. Cross-talk entre les voies d'acquisition du potassium et du nitrate

La suggestion d'un couplage entre l'acquisition du nitrate (NO_3^-) et celle du potassium remonte aux années 60. Elle s'est concrétisée par le modèle de Dijkshoorn-Ben Zioni (Dijkshoorn et al. 1968) qui décrit le transport couplé du K^+ et du NO_3^- . Selon ce modèle, ces deux nutriments sont co-transportés dans le xylème en interagissant comme contre-ion. Une fois dans les parties végétatives, NO_3^- est réduit puis assimilé en acides aminés. Cette synthèse s'accompagne d'une formation d'acides organiques pour détoxifier le groupe OH^- libéré par la réduction de NO_2^- en NH_3 . Ces acides organiques, principalement du malate, sont renvoyés aux racines par le phloème toujours grâce au K^+ en contre-ion pour y être décarboxylés. Les ions HCO_3^- sont finalement échangés contre de nouveaux NO_3^- . La recirculation du K^+ sert ainsi de signal régulant à la fois l'absorption du K^+ et celle du NO_3^- (Coskun et al. 2017).

Les composants communs aux voies de régulation de l'acquisition et la translocation du NO_3^- et du K^+ ont été identifiés plus récemment. Il a pu ainsi être montré que le complexe *AtCBL1/9-AtCIPK23* n'active pas seulement l'import de K^+ via *AtAKT1*, mais régule également le transporteur *AtNRT1.1/AtCHL1*. Cette phosphorylation a pour effet d'augmenter l'affinité de *AtNRT1.1/AtCHL1* pour le NO_3^- et augmente donc son acquisition au niveau des racines (Ho et al. 2009). Un autre exemple de la co-régulation du transport du K^+ et du NO_3^- est le transporteur de NO_3^- *AtNRT1.5*. Le mutant perte de fonction (*nrt1.5*) présente une concentration en K^+ dans le xylème anormalement faible lorsqu'il est cultivé en condition de déficit en NO_3^- (Lin et al. 2008). Ce transporteur serait donc impliqué dans la translocation du K^+ par un mécanisme encore non élucidé. Notons que cette même étude a montré une augmentation simultanée de la transcription de *AtNRT1.5* et *AtSKOR*.

Un exemple concret du cross-talk pour l'acquisition de ces deux ions chez la tomate est l'interconnexion de leurs voies de régulation. Zhao et al. (2018) ont ainsi montré par une étude de transcriptomique que le déficit en K^+ affecte également l'expression de plusieurs transporteurs de NO_3^- . Inversement, la privation en NO_3^- entraîne l'augmentation du canal potassique *S/HAK5* (Rubio et al. 2014). Tous ces résultats suggèrent que l'amélioration de l'efficacité de l'acquisition du potassium doit également prendre en compte d'autres nutriments, en particulier le NO_3^- .

1.1.f. Amélioration de l'efficacité d'utilisation/d'absorption du potassium

L'adaptation d'un génotype à une faible quantité de potassium peut être quantifiée par sa KUE (*potassium use efficiency*). Cette variable reflète la capacité d'une plante à absorber et/ou utiliser le K^+ et est généralement calculée comme le ratio entre la teneur en potassium et la biomasse. La variation de la KUE entre génotypes d'une même espèce peut être très importante. Par exemple, Yang et al ont rapporté une variation de KUE 6 fois supérieure entre les génotypes les plus contrastés (min-max) d'une core-collection de riz ($n = 134$ génotypes). Des études similaires ont été menées chez la tomate, mais sur des nombres plus limités de génotypes, et montrent une étendue de variation de KUE atteignant 162% ($n = 9$; Chen and Gabelman 1995) et 124% ($n = 5$; Sánchez-Rodríguez et al. 2010) entre les génotypes les plus et les moins performants. Ces résultats confortent l'existence d'un potentiel d'amélioration de la KUE de la tomate.

Afin d'améliorer l'efficacité d'absorption ou d'utilisation du potassium, plusieurs études ont été menées pour identifier des QTLs associés à la réponse au déficit en potassium chez *Arabidopsis* (Prinzenberg et al., 2010), le blé (Zhao et al., 2014) ou le riz (Fang et al., 2015). Toutefois, très peu de gènes candidats ont pu être proposés. Citons néanmoins le transporteur *OsHKT2;1* qui a récemment été identifié par GWAS (Hartley et al. 2019) comme QTL majeur pour l'adaptation au déficit en potassium. Notons que deux de ses homologues chez la tomate, *SlHKT1.1* et *SlHKT1.2* ont également été identifiés comme QTLs pour la teneur en K^+ et Na^+ à partir d'analyses de liaison effectuées sur deux populations biparentales constituées du croisement entre une accession de *S. lycopersicum* et deux accessions d'espèces décrites comme tolérantes au stress salin : *S. cheesmaniae* et *S. pimpinellifolium*. Ces protéines ne sont pas directement impliquées dans le transport du K^+ , car fonctionnant comme uniporteur de Na^+ (Asins et al. 2013). Sunarpi et al. (2005) suggèrent que la translocation de Na^+ via *AtHKT1* dépolariserait les cellules du parenchyme xylémien, ce qui aurait comme effet d'activer les transporteurs d'efflux de K^+ impliqués dans le chargement du xylème.

Citons également plusieurs approches de transgénèse ayant amélioré de manière significative l'efficacité d'utilisation du potassium. Par exemple, la surexpression du transporteur de haute affinité *OsHAK5* chez le riz augmente l'influx de K^+ des racines aux parties aériennes et augmente le ratio K^+/Na^+ dans les feuilles. Au contraire, l'inactivation de *OsHAK5* présente des effets opposés (Yang et al. 2014). Toujours chez le riz, la surexpression du transgène *ApKUP3* provenant de *Alternanthera philoxeroides* augmente la vigueur des plantes

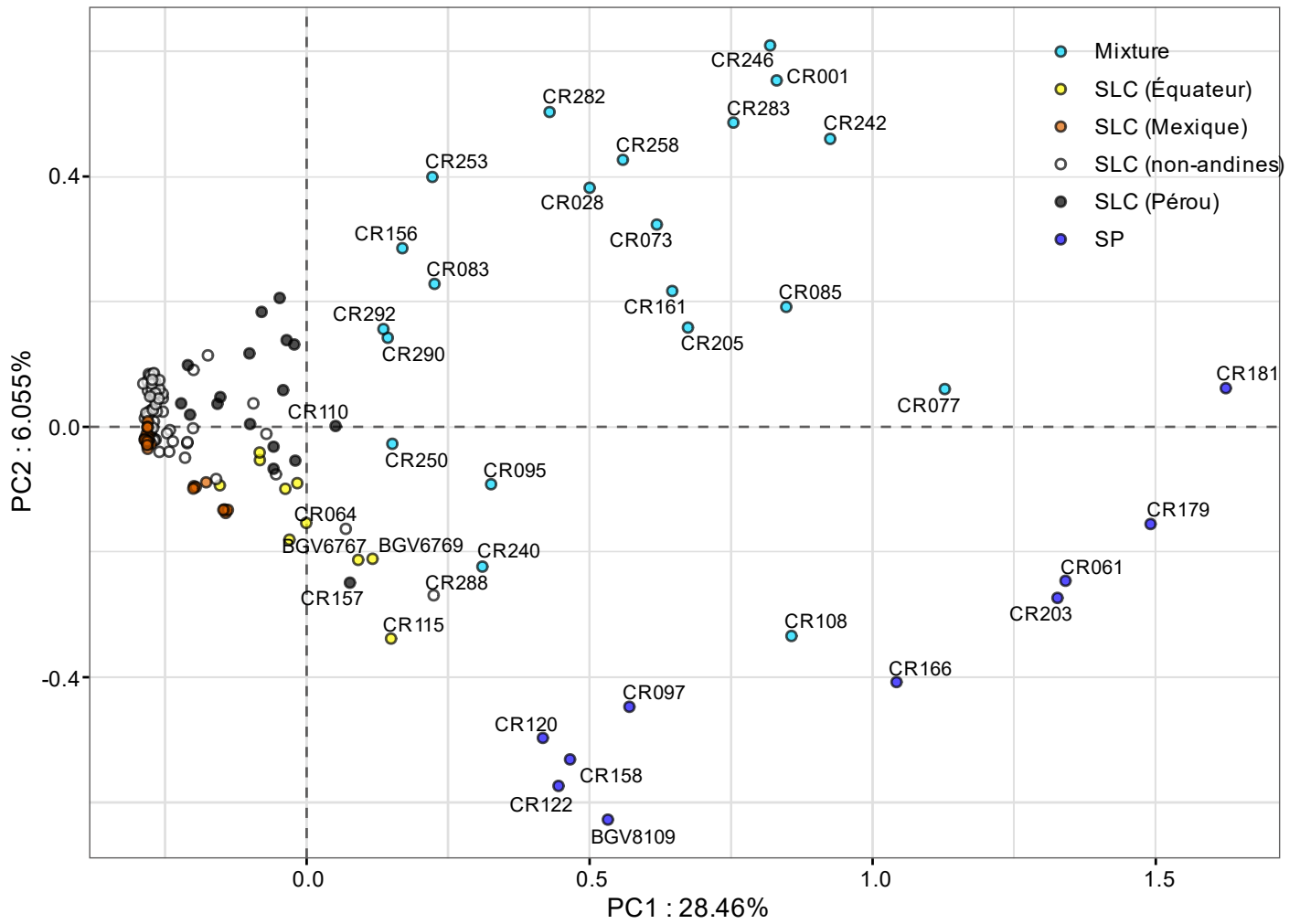


FIGURE 12 | Représentation des deux premières composantes de l'analyse en composantes principales estimées à partir des 6100 SNPs. SP : *S. pimpinellifolium* ; SLC : *S. Lycopersicum* var. *cerasiforme*.

transformées et l'accumulation de K^+ dans les feuilles (Song et al. 2014). Notons que la surexpression de transporteurs de potassium n'est pas systématiquement associée à une meilleure efficacité d'absorption/utilisation du potassium. Par exemple, la surexpression de *AtCHX14* chez *Arabidopsis thaliana* diminue sa tolérance au déficit en K^+ , alors que le knockout de *AtCHX14* augmente sa tolérance au stress potassique (Zhao et al. 2015). Notons que les mêmes auteurs ont précédemment montré que la surexpression et le l'inactivation de *AtCHX13* présente des effets opposés à ceux observés pour *AtCHX14* (Zhao et al. 2008). Ces résultats suggèrent donc que les transporteurs de potassium sont une cible prometteuse pour l'adaptation au déficit en potassium, et étayent également la nécessité de mieux comprendre les mécanismes physiologiques associés à la tolérance au déficit en potassium.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel végétal

La population GWAS est constituée de 140 génotypes de tomate de petits calibres. Cette core-collection a été constituée de manière à maximiser la diversité génétique existante et minimiser les effets de structures (notamment générés par les accessions de gros calibres). Parmi ces 140 accessions, 108 appartiennent à l'espèce *S. lycopersicum var. cerasiforme* et proviennent d'origines variées, 11 sont rattachées à l'espèce *S. pimpinellifolium* et proviennent principalement du Pérou et de l'Équateur et 21 accessions sont regroupées dans un groupe mixte comprenant à la fois des cultivars de tomates cerises, ainsi que des génotypes probablement issus d'hybridations entre les deux groupes précédents (génotypes en admixture). La structuration de la population GWAS est présentée en **figure 12**.

2.2. Données génomiques

La totalité de la population GWAS a été génotypée en utilisant la puce 'SolCAP Tomato Infinium Array' (<http://solcap.msu.edu/>). Cette puce comporte 8784 SNP dispersés sur la totalité du génome, mais dont seulement 7663 ont passé les tests préliminaires de qualité (Sim et al. 2012). Un dernier filtrage a été appliqué de manière à éliminer les marqueurs présentant trop de données manquantes ($> 10\%$), et ceux présentant un MAF faible (> 0.05) pour éliminer les variants rares. La matrice de génotypage qui en résulte est finalement constituée de 6100 SNP. Les SNPs ont été renommés selon leurs localisations sur le génome de la

TABLEAU 4 | Composition en macroéléments des solutions nutritives (en mmol.L⁻¹). Les différences de compositions entre traitements sont mises en évidence par les zones grisées. EC : Electro-conductivité (en mS.cm⁻¹)

	Traitement témoin	Traitement stress 1	Traitement stress 2
EC	3,01	2,95	2,95
NO ₃ ⁻	6,45	6,45	6,45
NH₄⁺	0,8	0,8	2,83
SO ₄ ²⁻	3,5	3,5	3,5
Cl⁻	8,04	9,31	9,31
H ₂ PO ₄	1,76	1,76	1,76
K⁺	10,07	2,03	0
Ca ²⁺	4,08	4,08	4,08
Mg ²⁺	4,8	4,8	4,8
Na⁺	0	9,30	9,30

tomate (version SL2.50) ; par exemple S02_4560050 signifie que le SNP se situe sur le chromosome 2 à la paire de bases 45600050.

2.3. Dispositif expérimental

L'expérimentation a eu lieu dans une serre du site expérimental de l'INRA d'Avignon (Domaine Saint-Maurice, Monfavet, France). Les génotypes ont été semés le 08/03 dans un substrat neutre (bouchon de laine de roche – Ø 2,3cm) puis ont été transplantés dans des cubes de laine de roche (10 × 10 × 6,5 cm). Le 17/04, les plantes ont été déposées dans la serre expérimentale sur des pains de laine de roche (1m × 15cm × 7,5cm) à raison de 3 plantes par pains de culture. La disposition des génotypes dans la serre d'essai est présentée en **figure 13**. Les génotypes sont disposés en deux conditions de traitement : témoins (2 répétitions par génotypes) et stressée (3 répétitions). La composition des solutions nutritives au cours de la culture est présentée dans le **tableau 4**. Le stress potassique a débuté le 30/04 (solution nutritive 'traitement stress 1'), puis a été ajusté le 27/05 avec une nouvelle solution ('traitement stress 2'). La fertirrigation s'est déclenchée de manière automatique lorsque l'humidité volumique des pains de roche était inférieure à 65%. La température de serre était contrôlée de manière à être au minimum de 16°C (chauffage) et régulée négativement à partir de 25°C grâce système d'ouverture des lucarnes de la serre couplé à un voile d'ombrage puis au blanchiment de la serre.

Les plantes ont été tuteurées jusqu'à atteindre une hauteur de 2.20 m et les bourgeons axillaires ont été éliminés pendant l'intégralité de la période de croissance (sauf sur les plantes à croissance déterminée (*sp*)). Enfin, un traitement à base de soufre a été appliqué les 07 et 12/06 pour lutter contre l'acariose bronzée (*Aculops lycopersici*).

2.4. Phénotypage

Plusieurs caractères morphologiques ont été notés : la date de floraison des bouquets 2 à 7 (B2-B7, en jours juliens); la hauteur, le diamètre de plante et la longueur de feuille au B6 (cm) ; le nombre de fleurs et de fruits au B6. À maturité, plusieurs mesures ont été réalisées sur fruits frais (B6) :

- Poids moyen (g)

- Colorimétrie, mesurée avec un colorimètre (Minolta CR300, Konica). Les coordonnées de l'espace chromatique (L^* , a^* , b^*) sont données pour chaque mesure.
- pH (Crimson compact titrator).
- Indice réfractométrique (Brix) grâce à un réfractomètre digital (Palette PR 101, Atago). Cet indice correspond à la teneur en solides solubles (exprimée en °Brix) qui est corrélée avec la teneur en sucres réducteurs et acides organiques.
- Acidité titrable (AT) par dosage au NaOH/phénolphthaléine. Les mesures sont réalisées grâce à un titrateur automatique (Crimson compact titrator ; en mmol/kg).
- Les teneurs en minéraux sur fruits (Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba, Hg, Pb – en % de poids sec) ont été mesurées grâce à un spectromètre de fluorescence X (S1 TITAN, Bruker). Les échantillons ont été préalablement déshydratés 4 jours à 70°C, puis ont été réduits en poudre fine grâce à un broyeur oscillant. Les dosages XRF avaient préalablement été calibrés par corrélation avec des données de dosages obtenues par ICP-MS (spectrométrie de masse à plasma induit) sur 35 lignées.

2.5. Analyses statistiques (hors association)

L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (3.5.3). Les données brutes ont été transformées en utilisant la méthode de Box-Cox pour se rapprocher d'une distribution normale (**annexe 1 et 2**).

L'effet génotypique (G), environnemental (E) et l'interaction entre ces derniers (G×E) pour chaque phénotype ont été testés par ANOVA selon le modèle linéaire suivant : $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i \cdot \beta_j + \varepsilon$ où Y_{ij} est la valeur phénotypique du génotype i en condition j ; μ est la moyenne de la population ; α_i est l'effet fixe du génotype i ; β_j est l'effet fixe de la condition j ; ε est l'erreur résiduelle.

Les estimateurs des variances génétique (α_G^2) et résiduelle (α_e^2) ont été calculées avec le modèle linéaire suivant : $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon$. L'héritabilité au sens large (H^2) a ensuite été calculé tel que : $H^2 = \alpha_G^2 / (\alpha_G^2 + \alpha_e^2)$.

La plasticité phénotypique a été calculée tels que : $\Delta_{ki} = (S_{ki} - C_{ki})/C_{ki}$ avec Δ_{ki} la valeur de la plasticité du génotype i pour le trait k , S_{ki} la moyenne du génotype i pour le trait k en condition stressée et C_{ki} la moyenne du génotype i pour le trait k en condition contrôle.

2.6. Analyse d'associations

L'analyse GWAS sur les 6100 SNPs a été conduite grâce au modèle d'association MLM (Modèle Linéaire Mixte Multi-locus) de Segura et al. (2012) sur les 6100 marqueurs SNP. Cet algorithme repose sur une inclusion séquentielle des marqueurs les plus significatifs en cofacteurs (effets fixes). La variance attribuée au fond génétique pour le trait considéré diminue ainsi à mesure que les marqueurs sont ajoutés au modèle. La résolution des différents modèles linéaires est effectuée grâce au modèle EMMA (Efficient Mixed-Model Association) qui est un modèle mixte complet, c'est-à-dire dont la variance polygénique est estimée pour chaque SNP (Kang et al. 2010). Une description du fonctionnement de l'algorithme MLM est présentée ci-dessous :

(1) Initialisation du modèle initial ($Y = W\alpha + X\beta + Zu + \varepsilon$) qui inclut comme effets fixes uniquement l'intercept et éventuellement des covariables supplémentaires que l'utilisateur peut spécifier (par exemple un indice de précocité).

Forward inclusion (étape 1 \rightarrow i)

(2) à partir du modèle précédent, une analyse EMMA sur tous les marqueurs est lancée à partir des estimateurs de REML $\hat{\sigma}_g^2$ et $\hat{\sigma}_e^2$ du modèle défini à l'étape $i - 1$.

(3) Le SNP le plus significatif x_i est sélectionné (sur la base de sa p-value obtenue par un F-test) et est ajouté au modèle comme effet fixe (cofacteur) à l'étape i , soit $Y = X\beta + Zu + \varepsilon$

(4) Les étapes (2) et (3) sont répétées tant que la pseudo-héritabilité \hat{h}^2 n'est approximativement pas proche de 0, soit :

$$\hat{h}^2 = \hat{\alpha}_g^2 / \text{Var}(Y) = \hat{\alpha}_g^2 / (\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_e^2) \sim 0$$

Backward elimination (étape 1 \rightarrow i)

(5) Le SNP le plus moins significatif x_i est retiré des cofacteurs et la pseudo-héritabilité est réestimée.

(6) L'étape (5) est répétée jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un seul marqueur sélectionné.

Afin de ne pas surestimer les p-values des faibles associations du fait de la faible taille de la population d'étude, le nombre maximal de cofacteurs autorisé a été fixé à 3. Pour chaque association, l'inflation de la statistique de test est vérifiée visuellement grâce à un diagramme quantile-quantile (qq-plot) et le pourcentage de variation expliqué (PVE) est estimé.

La covariable modélisant l'apparement cryptique entre les individus a été estimée avec la fonction PCoA du package R 'Factominer' à partir de la matrice de génotypage. Seules les

trois premières composantes ont été utilisées dans le modèle. Pour chaque trait étudié, la matrice PCoA est re-estimée en ne conservant que les individus pour lesquels la valeur phénotypique associée n'est pas manquante (afin d'éviter une imputation des valeurs phénotypiques manquantes). La variance expliquée moyenne pour l'ensemble des traits est d'environ 39%. La matrice de Kinship est estimée grâce *via* la méthode IBS (*Identity-By-State*) à partir des 6100 SNPs de la matrice de génotypage. Le seuil de significativité choisi pour la détection de QTLs est de 10^{-4} . À titre comparatif, le test de Bonferroni, décrit unanimement comme très stringent, renvoie un seuil de 10^{-5} pour 6100 marqueurs).

2.7. Calcul des intervalles de confiances et identification des gènes candidats

Les intervalles de confiance autour des QTLs ont été obtenus grâce à un algorithme écrit en Python développé en interne. Celui-ci est basé sur la décroissance du déséquilibre de liaison (DL) entre paires de marqueurs autour du variant causal. Un premier intervalle de 2Mb autour du marqueur est d'abord défini, avant d'être resserré en amont et aval jusqu'à ce que le DL entre le marqueur causal et celui testé soit inférieur à un seuil fixé (DL non significatif). Nous avons choisi la valeur $r^2 = 0.28$ comme seuil à partir duquel le déséquilibre de liaison entre deux marqueurs n'est plus considéré comme significatif. Celle-ci correspond au 95^e percentile de la distribution des r^2 de 100,000 paires de locus choisis aléatoirement et appartenant à des groupes de liaison différents. Les matrices de DL ont été estimées grâce à l'estimateur r^2_{vs} , une forme corrigée du r^2 intégrant l'effet de la structure et de la kinship (Mangin et al. 2012).

L'analyse du polymorphisme génétique a été réalisée grâce à un script Python développé par Frédérique Bitton. Il permet d'extraire les variants alléliques d'un set donné de génotypes reséquencés, et annote de manière automatique l'effet des mutations selon qu'ils sont en dehors des gènes ou bien causent des mutations synonymes, non synonymes, un décalage du cadre de lecture ou un codon stop. Les 15 génotypes utilisés pour la recherche de variants sont : Cervil, Criollo, LA1420, PlovdivXXIVa, BGV005895, BGV006767, BGV006779, BGV006931, BGV008036, BGV008096, BGV008219 BGV008221, BGV012627, BGV013161 et BGV013945. Les données VCF (*Variant Call Format*) de ces accessions sont disponibles sur le site <https://solgenomics.net/>. Un jeu de données de RNAseq a également été utilisé pour identifier les gènes candidats. Il correspond au transcriptome du cultivar 'Heinz 1706' pour différents organes : racines, feuilles, bourgeons, fleurs, fruit 1cm, fruit 2cm, 'Immature green', 'Mature green', 'Breaker', 'Breaker' + 5/10 jours.

TABLEAU 5 | Partition de la variation phénotypique totale pour les traits morphologiques et qualitatifs. L'effet génotypique (G), traitement (T) et leurs interactions (G×T) sont exprimés en pourcentage par rapport à la somme des carrés des écarts totale. \bar{x} , σ et H^2 correspondent respectivement aux moyennes, écarts-types et héritabilités au sens large mesurées dans les conditions contrôle (C) et stressé (S).

Trait	\bar{x}_C (σ_C)	\bar{x}_S (σ_S)	G	T	G × T	H^2_C	H^2_S
Brix	7,08 (1,39)	7,82 (1,07)	63,53***	7,68***	17,00***	83,13	75,76
Diam_B6	14,35 (2,35)	12,94 (2,20)	66,26***	7,25***	12,88***	73,11	78,27
AT	121,21 (27,26)	108,91 (27,22)	48,92***	5,16***	14,90***	49,59	46,76
Poids	13,67 (12,39)	9,66 (7,52)	82,60***	3,00***	5,72***	92,71	87,47
Long_B6	39,53 (5,47)	37,76 (5,1)	75,24***	2,21***	13,09***	84,50	83,43
pH	4,15 (0,18)	4,20 (0,21)	81,74***	1,74***	6,60***	86,84	82,90
Col_b	22,89 (7,17)	24,63 (7,75)	80,73***	1,32***	2,60***	84,32	81,78
Col_L	40,22 (4,41)	41,22 (4,93)	75,98***	1,32***	2,57***	80,13	75,77
Col_a	21,42 (6,73)	22,79 (7,06)	82,10***	1,15***	2,66***	85,65	82,72
NbFl_B6	11,18 (5,56)	12,35 (8,47)	64,58***	0,28*	12,85***	44,35	69,30
NbFr_B6	10,51 (5,21)	11,27 (7,03)	64,35***	0,12 ^{ns}	11,37**	43,70	66,10
Haut_B6	126,00 (26,36)	125,61 (25,11)	93,38***	0,04 ^{ns}	3,18***	95,50	93,51
Flo_B7	142,26 (5,35)	142,11 (5,43)	92,00***	0,01 ^{ns}	3,16***	93,34	91,60
Flo_B6	137,47 (5,81)	137,40 (5,56)	93,65***	0,00 ^{ns}	3,09***	94,81	94,57
Flo_B5	133,01 (5,09)	132,87 (4,97)	93,47***	0,01 ^{ns}	3,16***	96,32	93,54
Flo_B4	128,23 (4,54)	128,05 (4,51)	92,44***	0,02 ^{ns}	3,88***	95,41	93,34
Flo_B3	123,28 (3,63)	123,18 (3,53)	93,62***	0,01 ^{ns}	2,89***	95,12	93,99
Flo_B2	118,23 (3,42)	118,19 (3,27)	92,50***	0,00 ^{ns}	3,55***	94,79	93,06

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns non-significatif

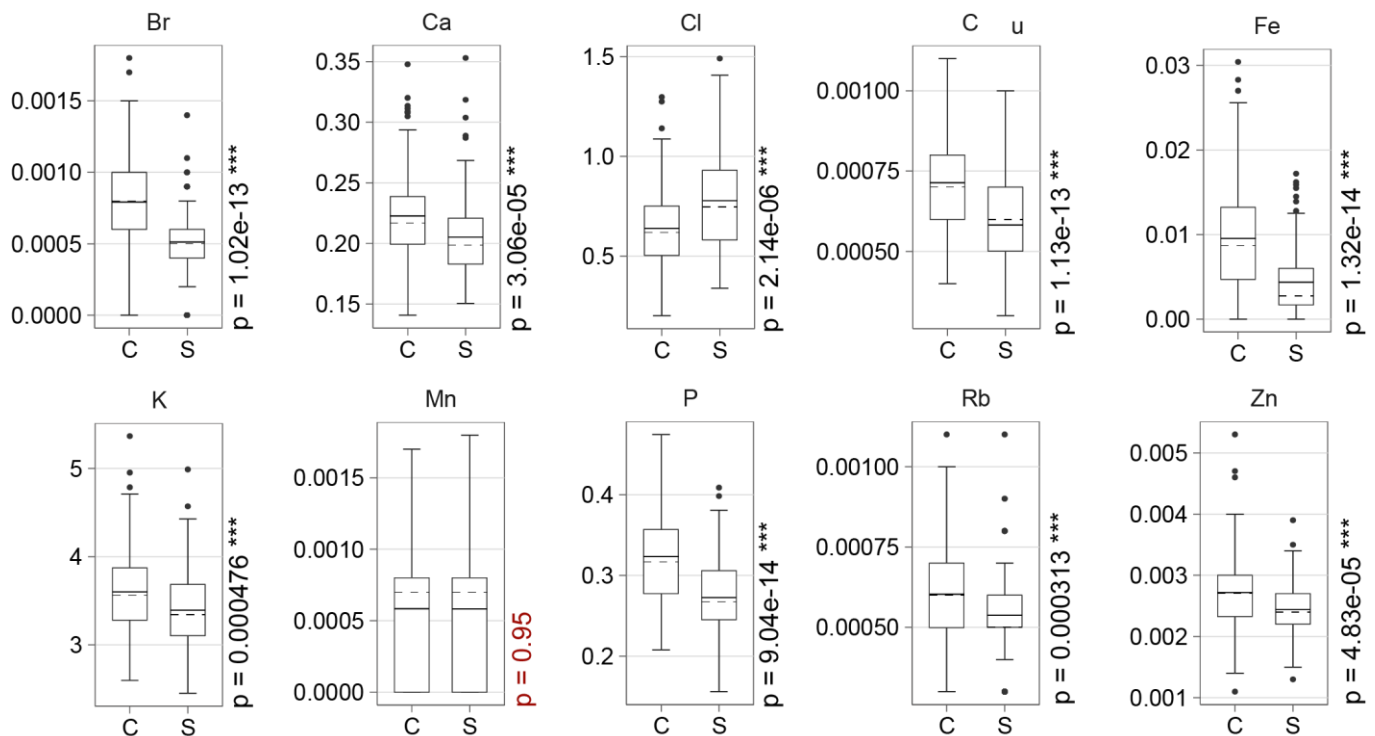


FIGURE 14 | Distribution des teneurs en éléments minéraux sur fruits en condition contrôle (C) et stressée (S). La ligne solide et hachurée renvoie respectivement à la moyenne et la médiane. Les bornes de la barre d'erreur correspondent aux 10^e et 90^e percentiles

3. Résultats

3. 1. Effet du stress potassique et corrélation entre les variables

La variation expliquée par l'effet génotype est prédominante pour l'ensemble des traits (48,92% à 93,65%, toutes p-values < 0.001) (**tableau 5**). La variation expliquée par l'effet traitement varie de 0 à 7,68%. Les traits Brix, Dia_B6, AT et Poids sont les variables les plus affectées par le stress potassique (> 3%, p-value < 0.001). Au contraire, les traits Flo_B2-B7, Haut_B6 et NbFr_B6 ne varient pas de manière significative en fonction du stress (> 0.15, p-value > 0.05). L'effet de l'interaction entre génotype et traitement est également très variable selon les traits (3,85 à 17%, toutes p-values < 0.001). Cet effet est particulièrement fort pour les variables Brix, Diam_B6, AT, Long_B6 et NbFr_B6 (> 12%).

L'héritabilité au sens large (H^2) varie de 43,7 à 96,32% en condition contrôle, et de 46,76 à 94,57% en condition stressée ce qui confirme que ces traits sont largement expliqués par des mécanismes génétiques. Les traits Flo_B2-Flo_B7, Haut_B6, Col_a, pH, Long_B6, Poids et TTS montrent une H^2 particulièrement élevée (> 85%). Les héritabilités pour un même trait étaient plus fortes en condition contrôle qu'en condition de stress potassique, malgré le plus faible nombre de répétitions, sauf pour les traits Diam_B6, NbFl_B6 et NbFrB6.

Les éléments minéraux aluminium (Al), silicium (Si), titane (Ti), vanadium (V), chrome (Cr), nickel (Ni), arsenic (As), sélénium (Se), baryum (Ba), mercure (Hg) et plomb (Pb) n'ont pas été détectés ou sont présents à l'état de traces (< 0.001% de matière sèche). Ils n'ont donc pas été analysés. L'effet du stress sur la teneur en minéraux est très significatif pour toutes les variables sauf pour le manganèse (**figure 14**). Le stress potassique diminue la teneur moyenne en minéraux sauf pour le chlore dont la teneur est plus importante en condition stressée qu'en condition contrôle.

Des corrélations significatives entre les variables sont observables et révèlent l'existence de liens statistiques entre certains traits liés à la qualité du fruit, la morphologie de la plante, ainsi que la teneur en minéraux (**figure 15**). On peut ainsi observer une forte corrélation positive entre le poids et les teneurs en chlore (Cl ; $r > 0.55$), potassium (K ; $r > 0.44$) et en brome (Br ; $r > 0.47$). Le pH et le brix sont quant à eux fortement négativement corrélés à ces mêmes traits ($r > 0.4$, tous traits confondus). On observe également une forte corrélation positive entre les teneurs en Cl, K et Br. De manière moins marquée, on peut observer une

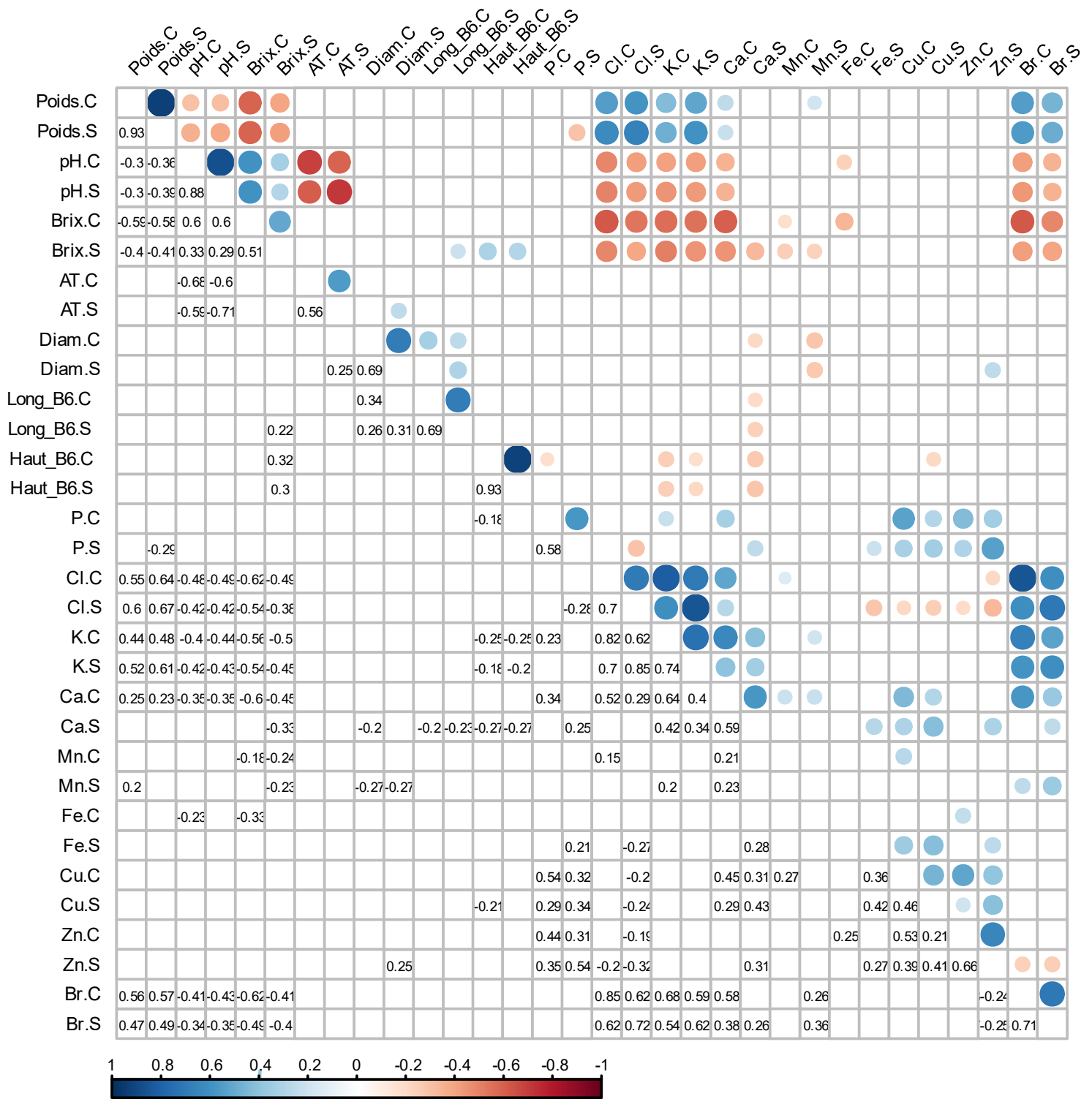


FIGURE 15 | Corrélogramme de l'ensemble des traits retenus pour l'analyse GWAS. L'intensité de la couleur et la taille des cercles sont proportionnelles aux coefficients de corrélation. Les corrélations présentant une p-value > 0.01 (non significatives) ne sont pas représentées.

corrélation positive entre la teneur en phosphore et celles en cuivre (Cu ; $r > 0.29$) et en zinc (Zn ; $r > 0.31$). Les moyennes de chaque trait dans les 2 conditions sont plus ou moins fortement corrélées. Ces liens seront utilisés ultérieurement pour comprendre certaines colocalisations de QTLs.

3. 2. Détection de QTL *via* le modèle MLM

Le modèle mixte multi-locus (MLMM) a permis d'identifier un total de 64 associations significatives (p -value $< 10^{-4}$) pour l'ensemble des 17 traits étudiés sous les trois modalités d'étude (**figure 16 ; annexe 4**). Parmi elles, 25 associations présentent une p -value inférieure au seuil de Bonferroni (8.10^{-6}). Les intervalles de confiance estimés pour ces QTLs sont en moyenne de 0.245 Mbp, mais avec une grande variation.

22 QTLs ont été détectés en condition témoin et 20 en condition stressée. Parmi eux, 5 QTLs (Poids – S09_02210922; pH – S04_66307772 et S06_40541271; Brix - S09_03477979, Potassium - S05_64816591) ont été détectées dans les deux conditions (QTLs constitutifs). Enfin, 22 QTLs de plasticité, c'est-à-dire relié à la stabilité des traits phénotypiques entre les deux conditions (Δ), ont pu être mis en évidence.

3. 3. Colocalisations de QTLs et sélection de gènes candidats

On observe une grande variation dans la taille des intervalles de confiance autour des QTLs (de 3 kb à 1.88 Mb, $\mu = 0.245$ Mbp) ainsi que du nombre de gènes qui y sont localisés (de 1 à 87 gènes). Le nombre de gènes inconnus (non annoté) est également variable (0 à 47%, $\mu = 0.14$). Parmi les gènes candidats identifiés, citons les QTLs :

- [S06_40544466 – pH.C / pH.S] qui présente dans son intervalle de confiance le gène candidat Solyc06g072910 codant un transporteur de type 'Aluminum-activated malate transporter' (*SIALMT9*). Les transporteurs ALMT sont impliqués dans le transport (influx ou efflux) du malate et du citrate dans différents organes chez la tomate (Sasaki et al. 2016). *SIALMT9* est spécifiquement exprimé dans les bourgeons floraux et les fleurs (**annexe 3**). Les travaux Ye et al. (2017) ont validé par clonage positionnel le gène *SIALMT9*.

- [S09_03477979 – Brix.C / Brix.S] /dont l'intervalle de confiance de 7458 pb recouvre 2 gènes codant tous deux pour des bêta-fructofuranosidase : Solyc09g010080 (*Lin5*) et Solyc09g010090 (*Lin7*). Ces enzymes sont des invertases pariétales impliquées dans le

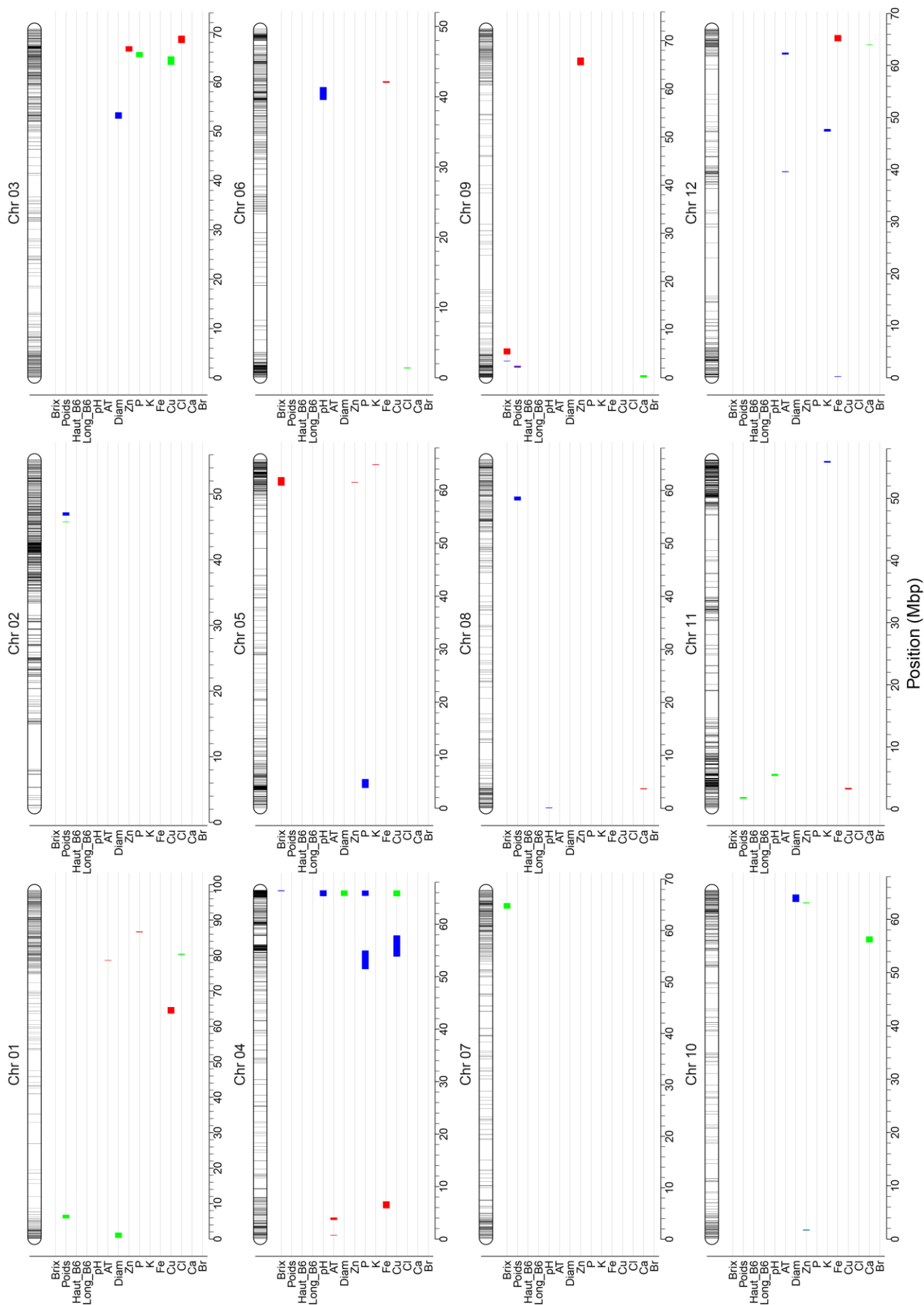


FIGURE 16 | Vue d'ensemble des QTLs identifiés par le modèle MLMM. Les QTLs sont représentés par les segments colorés. Les couleurs rouge, bleu et vert indiquent que le QTL a été identifié respectivement en condition stressée, contrôle et delta (plasticité phénotypique). Les segments noirs représentent la position des 6100 SNP de la puce SolCAP sur les chromosomes.

clivage du sucrose en hexoses. Leurs profils d'expression montrent que ces enzymes sont exprimées uniquement dans les bourgeons et les fleurs (**annexe 3**). Le rôle de *Lin5* dans la variation du taux de sucres du fruit a été montré par clonage positionnel (Lipman et al, 2002) et a été confirmé *via* interférence par ARN (Zanor et al. 2009).

- [S02_46763987 – Poids.C / Poids.S]. Ce QTL correspond à un QTL déjà décrit dans la littérature sous le nom de *lc* (*locule number* ; parfois nommé *lcn2.1*) et augmentant le nombre de locules de 2 à 3-4. Ce QTL a récemment été cloné : il est associé à deux SNPS en aval du gène WUSHEL, un facteur de transcription à homéodomains impliqué dans la différenciation des cellules du méristème (Muños et al. 2011).

- [S09_02210922 – Poids.C / Poids.D]. Ce QTL a également déjà été détecté dans une population biparentale de tomates à gros fruits (fw9 ; Brekke et al. 2019).

- [S12_00241878 – Fe.C] dont l'intervalle de confiance de 5807 pb comprend un unique gène candidat Solyc12g005400 codant pour le canal CNGC18. Cette famille de protéines est décrite pour être des canaux non sélectifs de cations (Kaplan et al. 2007). Son profil d'expression montre que ce canal est actif dans les tissus foliaires, les bourgeons et les fleurs.

- [S12_47510753 – K.C] qui présente dans son intervalle de confiance (1.8 Mb) un transporteur de type MSF (Major facilitator superfamily), Solyc12g038220, fortement exprimé au niveau des racines (**annexe 3**). Notons qu'une protéine homologue chez *Arabidopsis*, ZIFL2 (At3g43790), est impliquée dans l'influx de potassium au niveau des racines (Remy et al. 2014) Deux autres QTL pour la teneur en potassium ont été détectées : [S11_55958042 – K.C] et [S05_64816591 – K.C/K.S]. Cependant, aucun gène candidat n'a pu être relié à ces deux associations.

On peut également noter la colocalisation de 6 QTL sur le chromosome 4 (66.16 – 66.39 Mb ; **figure 17**). Le marqueur S04_66307772 a été détecté à la fois pour les traits Brix.C, pH.C et pH.S (QTL constitutif). Cette colocalisation s'explique la forte corrélation négative entre ces deux variables. Un gène candidat intéressant pour le trait Brix a été identifié : il s'agit d'une diphosphate fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase (PF6) fortement exprimé lors de la maturation du fruit (Annexe 2). Un autre gène candidat pour être le gène Solyc04g082700 codant pour un transporteur SLC (*Solute carrier family*) impliqué dans le transport de glucose selon l'annotation ITAG.2.4. Notons qu'un QTL de Brix a été détecté à la même position dans une précédente expérimentation (Albert et al. 2016).

Les QTL [S04_66394819 – P.C] ou [S04_66273758 – Cu.D] peuvent potentiellement être expliqués par le gène Solyc04g082610 codant pour un canal de type non sélectif (*SIGLR3.3*).

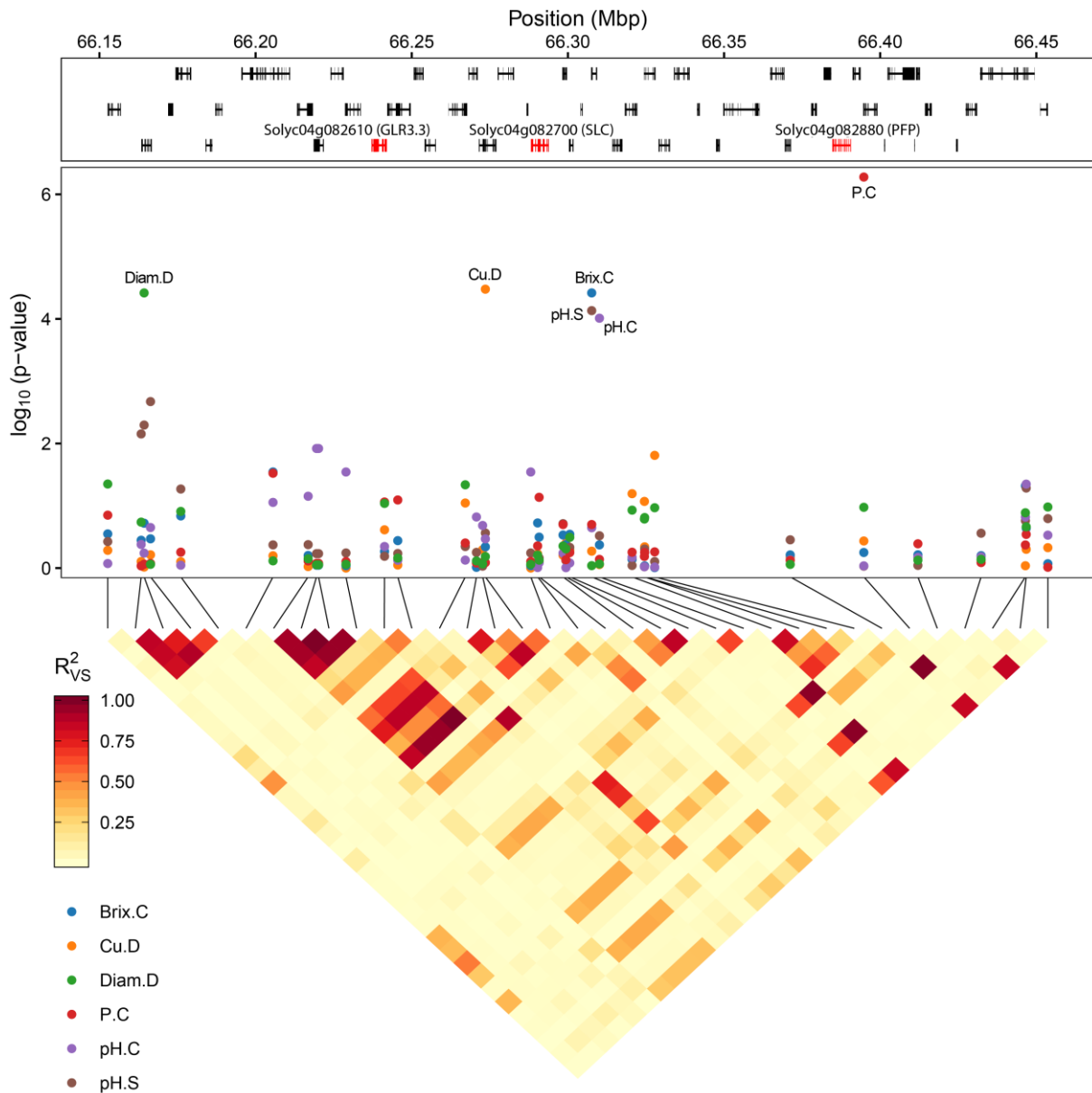


FIGURE 17 | Manhattan plot des QTLs détectés dans la région comprise entre 66.15 et 66.45 Mb du chromosome 4 et carte du déséquilibre de liaison. Cette région inclut les associations détectées pour les traits Diam.D [S04_66164607], Cu.D [S04_66273758], Brix.C [S04_66307772], pH.C [S04_66310248], pH.S [S04_66307772] et P.C [S04_66394819]. La carte de déséquilibre de liaison entre paires de marqueurs a été obtenue en mesurant le r^2 corrigé par l'apparentement entre individus et la structure de la population (Mangin et al. 2012). Les segments rouges représentent la position des gènes candidats par rapport aux autres gènes présents dans cette région.

3. Analyse du polymorphisme allélique

L'analyse du polymorphisme (SNPs et indels) sur 15 accessions ne montre qu'aucun des 12 gènes candidats sélectionnés n'est affecté par une mutation à effet fort (codon stop par exemple) dans sa séquence codante (**tableau 6**). Sept gènes candidats présentent des mutations de type faux-sens localisées dans leurs exons (effet faible à modéré). Quatre gènes (Solyc03g114110, Solyc03g119640, Solyc04g082700, Solyc09g010080) présentent des indels (insertions ou délétions) sans décalage du cadre de lecture. Une unique délétion avec décalage du cadre de lecture a été détectée : Solyc09g010080 qui présente une délétion (-T) dans son premier exon.

4. Discussion

4.1. Biais expérimentaux

La première solution nutritive utilisée pour la condition stressée n'a pas induit de symptômes visibles de stress sur la culture après 4 semaines (pas de différences phénologiques et morphologiques entre les deux modalités). L'analyse de la composition minérale des feuilles sur certains génotypes pour les conditions témoin et stressée étayait également ce constat. Pourtant, les effets de la teneur en potassium sur la hauteur de plante, le diamètre de tige ou la biomasse totale ont déjà été décrits plusieurs fois dans la littérature (El-Nemr et al. 2012 ; Shah et al. 2016). Pour accentuer le stress, nous avons donc choisi de modifier la composition de la solution nutritive en retirant totalement la source de potassium. De fait, les QTLs de plasticité détectés reflètent à la fois la capacité de la plante à accumuler le potassium avant le second stress (efficacité d'absorption) ainsi que la capacité de remobilisation de son pool de potassium (efficacité d'utilisation).

Afin d'éviter un biais lié à un différentiel dans l'électro-conductivité de la solution nutritive entre les deux modalités de culture, il a été choisi de compenser le KNO_3 et le $\text{H}_2\text{KO}_4\text{P}$ par du NaCl . Ce choix est critiquable si l'on se réfère à plusieurs études récentes qui suggèrent que le potassium peut être partiellement suppléé par du sodium chez la tomate (Idowu et Aduayi 2007 ; Amjad et al. 2014). En effet, la fonction d'osmolyte du potassium dans les vacuoles (90% du K^+ total) peut être remplie par d'autres cations tels que le Na^+ . Il est donc probable

TABLEAU 6 | Distributions des polymorphismes (SNPs et indels) pour 11 gènes candidats sur 15 accessions de la core-collection. Les régions 'up/down' (pour *upstream/downstream*) correspondent aux régions situées 1 kb en aval du site d'initiation de la transcription et 1 kb en amont du terminateur de la transcription.

Gene	SNP					Indel	
	UTR	up/down	intronique	faux-sens.	synonyme	non-frameshift	frameshift
Solyc01g095770		5	5	2	1		
Solyc02g083950	2	18	4		2		
Solyc03g114110	8	24	24	3	5	2	
Solyc03g119640	1	19	9	1	1	1	
Solyc04g082610	1	14	9		2		
Solyc04g082700	6	12	19	2	2	1	
Solyc04g082880			7		1		
Solyc05g053370	5	24	13		1		
Solyc06g072910	3	8	1	1	2		
Solyc09g010080	4	26	25	8	9	1	1
Solyc12g005400		11	44		6		
Solyc12g038220		15	7	4			

que l'ajout de sodium dans la solution nutritive de la condition stressée ait réduit l'intensité du stress. Par ailleurs, l'ajout de NaCl dans la solution nutritive a entraîné un différentiel de 15% de chlorure entre les modalités, expliquant la teneur moyenne en chlorure plus élevée pour la condition stressée. Au-delà de cette expérimentation, la substitution partielle de Na⁺ par du K⁺ peut se justifier d'un point de vue économique ; le NaCl étant à 20% du prix du KCl (Almeida et al. 2010). Il serait donc intéressant de se pencher sur l'impact de telles solutions nutritives sur la qualité de variétés de plus gros calibre pour extrapoler ces résultats.

Pour corriger le protocole expérimental, une application de la restriction en potassium dès le début de culture (au repiquage par exemple) aurait peut-être permis d'éviter que les plantes ne constituent une réserve de potassium remobilisable. Il faudrait également baisser drastiquement la teneur en potassium de la solution nutritive de la condition stressée, par exemple à 0.5 mmol.L⁻¹ (contre 2.0 mmol.L⁻¹ ici), comme pour les expérimentations de Walker et al. (2000), ou plus récemment Zhao et al. (2018). Enfin, pour éviter l'effet de l'interaction entre sodium et potassium, il faudrait que les teneurs en NaCl⁺ soient identiques entre les deux traitements. Ce choix implique toutefois une différence d'électro-conductivité entre les deux traitements (pour cette expérimentation, l'EC passerait de 2.95 à 1.90 mS.cm⁻¹), et donc potentiellement d'un nouveau biais expérimental.

4.2. Effet d'un déficit en potassium sur les variables

Le stress potassique a impacté négativement les traits morphologiques liés à la vigueur de plante (diamètre, hauteur et longueur de feuille). Ces effets concordent avec les expérimentations ayant mesuré ces effets (El-Nemr et al. 2012 ; Shah et al. 2016). Les variables phénologiques (dates de floraison des bouquets 2 à 7) n'ont pas été impactées par le stress. Il n'est pas possible de conclure sur l'absence réelle d'effets du déficit en potassium sur les dates de floraisons, car le second stress a débuté trop tard (131 génotypes avaient déjà été notés pour la date de floraison B6 lorsque le stress potassique 'ajusté' a été mis en place). Bien qu'un léger impact du stress sur la couleur de l'épiderme du fruit ait été détecté, ces données n'ont pas été analysées au niveau des QTL, car risquant d'être trop biaisées (récolte de fruits surmatures). L'impact du stress est également significatif sur les composantes de la qualité (diminution du poids et de l'acidité (acidité titrable et augmentation du pH) et augmentation de la teneur en sucres solubles). Ainsi, le ratio sucres/acides augmente lorsqu'on applique un stress potassique, ce qui risque d'affecter négativement la saveur du fruit (communication personnelle ; Mathilde Causse). La restriction en potassium a eu

également un impact sur le ionome des fruits. On observe une baisse de la teneur moyenne pour chaque minéral, hormis pour le chlore et le manganèse. Du fait de la distribution particulière des teneurs en Mn (**figure 14**), et le niveau d'imprécision de la mesure par XRF pour ce minéral (0,0005 % pour une distribution variant de 0 à 0,0018%), nous ne pouvons pas tirer d'interprétations sur ces données.

Il est intéressant de noter que certaines variables sont fortement corrélées entre-elles. La corrélation négative entre le poids et le taux de solides solubles peuvent être expliqués notamment par un effet de dilution (ration sucre/matière fraîche), mais également l'existence de fortes liaisons génétiques entre QTLs distincts (Lecomte et al. 2004). Les corrélations positives entre toutes les teneurs en macro-éléments (K, Cl, Ca) confortent l'hypothèse de l'existence de voies de régulations communes pour l'acquisition de ces macronutriments (Shin 2014). Au contraire, on constate l'absence de corrélation entre la teneur en potassium et celles en micronutriments (Mn, Fe, Cu, Zn – exception faite pour le brome) malgré le fait que le stress potassique ait impacté négativement leurs teneurs moyennes. On peut donc supposer que ces variables sont plus affectées par les interactions de type Génotype × Environnement que les macronutriments. La corrélation entre la teneur en Br et celles en K et Cl est probablement attribuable au fait que l'anion Br⁻ est un analogue du Cl⁻ et utilise probablement les mêmes voies de transport que ce dernier (Lobet et Dutzler 2006). Enfin d'autres corrélations en éléments minéraux, comme celle entre la teneur en P et Zn, ont déjà été décrit dans la littérature chez la tomate (Orabi et al. 1982).

4.3. Analyse des QTLs identifiés

L'analyse GWAS conduite au cours de cette expérimentation a permis de détecter 64 associations pour l'ensemble des 17 traits étudiés sous les trois modalités. Au total, 22 QTLs de plasticité, c'est-à-dire relié à la stabilité des traits phénotypiques entre les deux conditions, ont été détectées. Parmi eux, 5 QTLs (Poids – S09_02210922; pH – S04_66307772 et S06_40541271; Brix - S09_03477979, Potassium - S05_64816591) ont été détectées dans les deux conditions (QTLs constitutifs).

3 QTL pour la teneur en potassium des fruits ont été détectés (S12_47510753, S11_55958042, S05_64816591). On peut également noter la colocalisation de 6 QTL sur le chromosome 4 (66.16 – 66.39 Mb ; **figure 17**).

Concernant les polymorphismes, aucune mutation à effets forts (mutation non-sens par exemple) n'a été détectée. Globalement, les mutations à effets modérés restent également

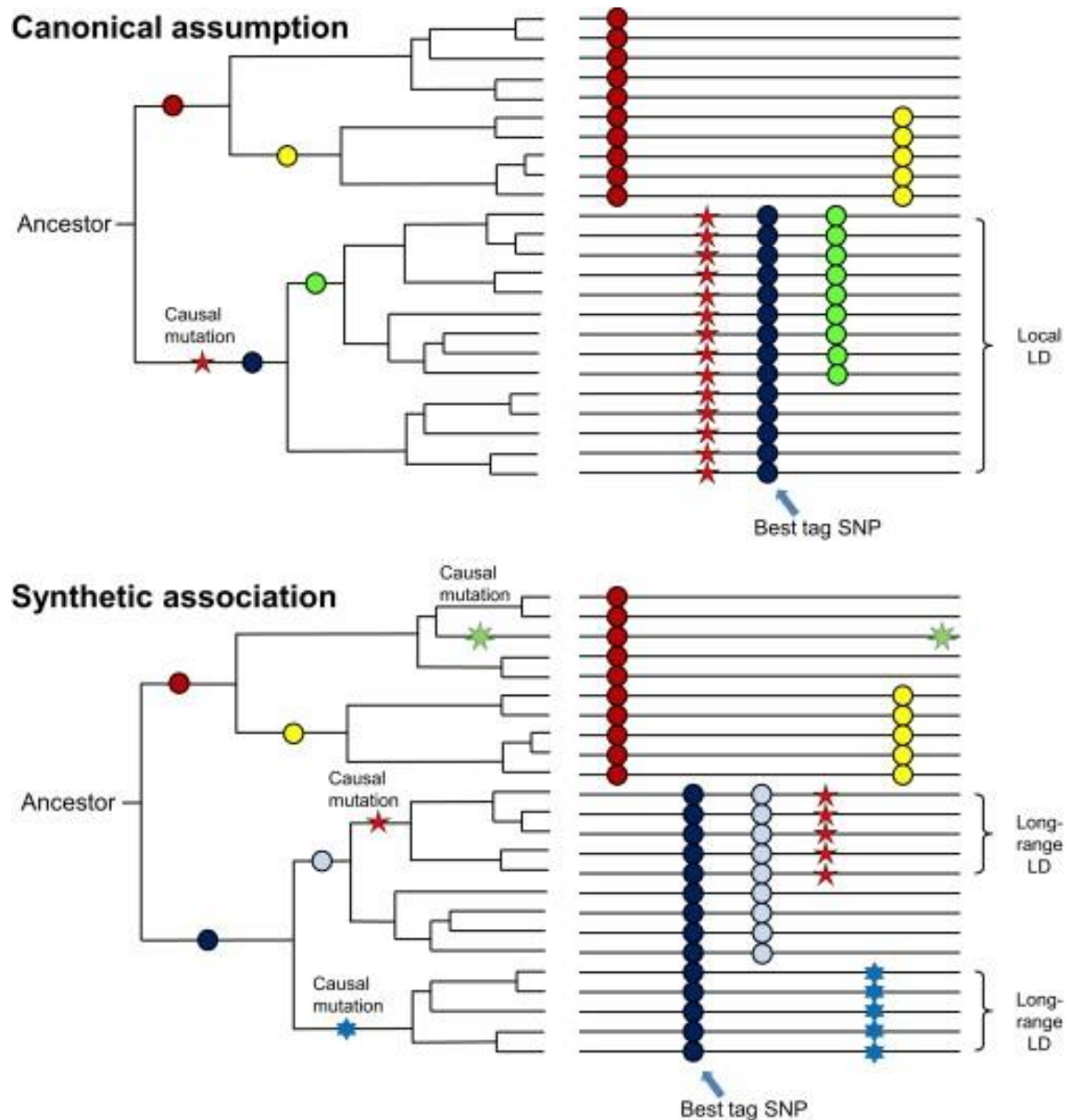


FIGURE 18 | Illustration de l'hypothèse des variants communs (A) et du concept d'association synthétique (B). Les figures de gauche correspondent à des arbres généalogiques représentant l'apparition des mutations dans une population. Les figures de droite représentent la distribution des SNPs et des QTLs identifiés par génétique d'association dans la population. Dans le cas d'une association synthétique (B), le QTL détecté est celui capturant les effets combinés des mutations causales (Wang et al. 2010).

rare. Cela reste toutefois attendu car la majorité des polymorphismes s'observent dans les régions intergéniques (Causse et al. 2013). Il est donc possible que les polymorphismes causaux affectent la régulation de la transcription des gènes candidats sans impacter leurs séquences protéiques. C'est notamment le cas de *SIALMT9* dont la différence de transcription est expliquée par un indel de 3-bp dans sa région promotrice qui empêche sa régulation par un facteur de transcription (Ye et al. 2017).

4.4. Perspectives d'améliorations pour l'analyse de données GWAS

Même si le modèle MLM a été conçu pour réduire le taux de faux positifs et surtout préciser la position des QTL, le facteur d'inflation génomique (λ) de certaines associations est élevé (par exemple pour S10_01688643 - Zn.D, $\lambda = 0,000355181$). De plus, lorsque le nombre de marqueurs devient important (> 500.000 sur données imputées), le temps de calcul nécessaire rend le modèle presque inutilisable. On utilise dans ce cas des modèles *single-marker* (par exemple EMMAX) qui présentent une puissance de détection plus faible. Un autre problème récurrent en génétique d'association est la détection des associations liées à des variants rares. Les méthodes de GWAS classiques sont basées sur le précepte que la variation phénotypique est expliquée par des variants communs. De fait, les marqueurs ayant une MAF (*Minor Allele Frequency*) très faible (par exemple < 0.05) sont éliminés de l'analyse. Pourtant, les allèles rares peuvent être à l'origine de la variation du phénotype étudié (on peut citer un exemple récent chez la tomate pour le taux d'apocaroténoïdes chez la tomate (Gao et al. 2019)). De plus, il est possible que des variants communs pour lesquels une association a été identifiée soient en déséquilibre de liaison avec plusieurs variants rares éloignés et responsables de l'association. La faible variation phénotypique associée au variant commun peut ainsi résulter de quelques variants rares qui expliquent une plus grande variation phénotypique chez un faible nombre de génotypes. Ce phénomène, connu sous le nom d'association synthétique, est illustré en **figure 18**.

Une solution à ce problème est d'étendre le test d'association aux blocs haplotypiques plutôt qu'aux marqueurs individuels. Les analyses basées sur les haplotypes ont l'avantage d'être facilement interprétables, car plus proches de la réalité biologique (au sens de la transmission des parents de segments chromosomiques aux descendants). De plus, les haplotypes permettent de mieux capturer l'information provenant du déséquilibre de liaisons que de simples marqueurs. Cela est imputable à la prise en compte de l'hétérogénéité allélique, c'est-à-dire au fait que plusieurs mutations dans un gène peuvent affecter de

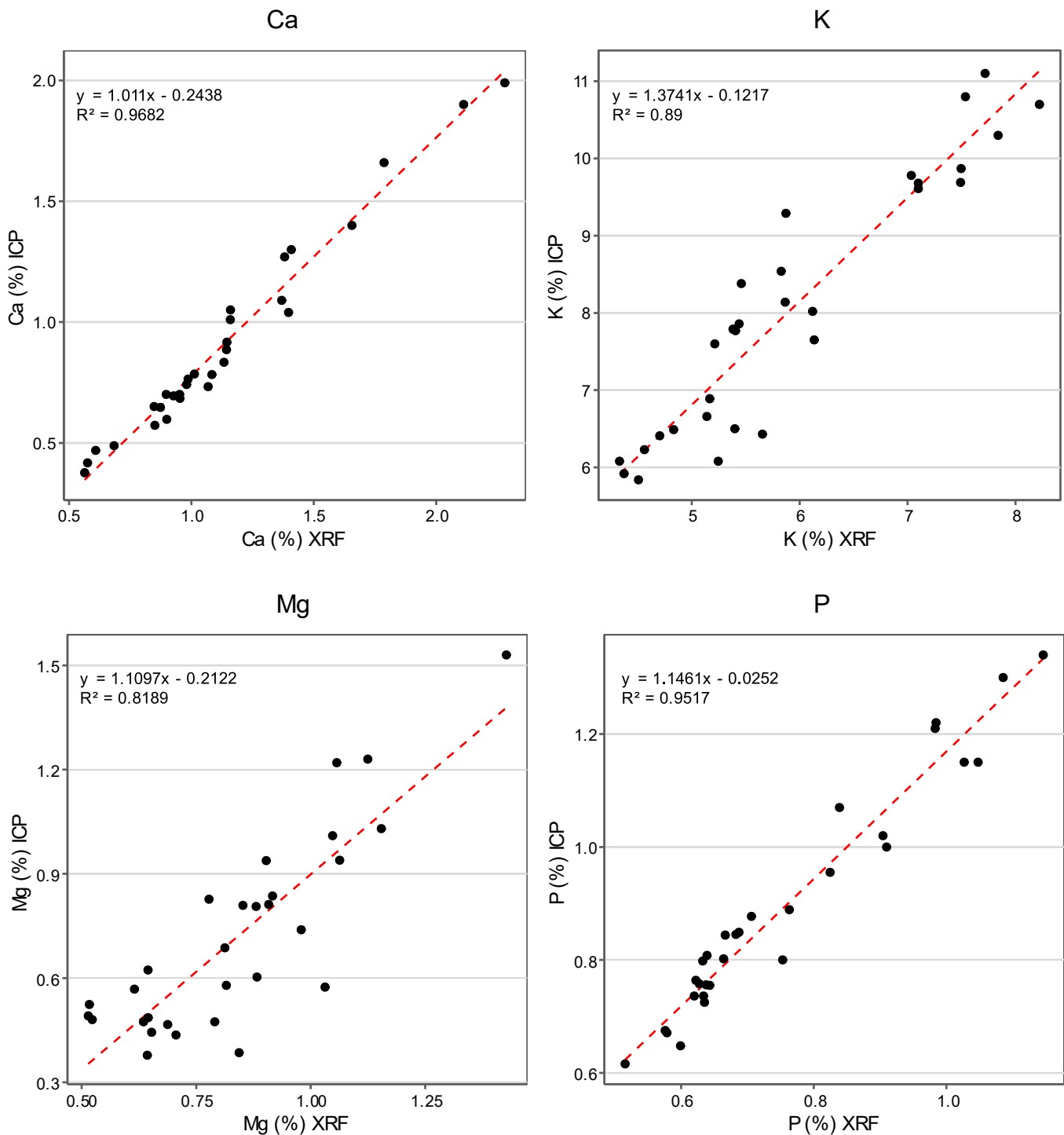


FIGURE 19 | Courbes de calibrations (mesures de teneurs par XRF et ICP-MS) pour les teneurs en Ca, K, Mg et P. Les teneurs sont données en pourcentage de matière sèche.

manière similaire le phénotype étudié, ainsi que des potentiels effets épistatiques entre SNPs proches, mais sur des locus différents. Ce type d'approche est particulièrement adapté aux tomates à petits fruits, car leurs déséquilibres de liaison s'étendent sur de grandes régions. Enfin, les travaux de JianTao Zhao, doctorant au GAFL, suggèrent que le modèle hapQTL (Guan 2014) apporte un net gain de puissance dans la détection de nouveaux QTLs par rapport aux modèles EMMAX et MLMM (communication personnelle).

4.5. Perspectives d'améliorations pour le phénotypage de la core-collection

Certains génotypes sont peu adaptés au système de culture sol (notamment CR181 qui n'a pas survécu). D'autres sont phénotypiquement trop différents du reste de la population, ce qui entraîne des biais statistiques pour certains traits. Citons notamment les accessions déterminées (allèle *sp* - CR064 et CR077) dont la mise à fruits a moins été impactée par le stress du fait de sa précocité. Au contraire, les accessions de type 'multiflora' (inflorescences indéterminées portant des centaines de fruits - CR275 et CR124) étaient trop tardives, par conséquent les bouquets 6 et 7 n'ont pas été conservés. Il serait donc plus intéressant de remplacer ces génotypes par d'autres accessions. La taille de la population est également limitée, mais contrainte par la place en serre.

Les analyses de minéraux au XRF pourraient être également améliorées en augmentant le nombre de mesures. Cela n'a pas cependant pas été possible pour cette expérimentation, car le nombre de fruits disponibles fut insuffisant pour faire une seconde série d'analyses (trois récoltes étant déjà consacrées à l'analyse des traits de qualité). Les répétitions techniques (sur mêmes échantillons) n'ont pas été jugées utiles du fait de la stabilité des mesures du XRF. Par contre, nous aurions pu analyser des répétitions sur quelques accessions pour estimer l'héritabilité du trait et la part d'interaction $G \times E$. Il pourrait être également intéressant d'analyser la composition minérale des feuilles. Ces données permettraient d'une part de confirmer certains QTLs également détectés sur fruits, et permettraient d'autre part de mettre en évidence des QTLs spécifiques à cet organe. L'analyse XRF sur feuilles de quelques génotypes réalisés durant ce stage montre d'ailleurs que les teneurs foliaires en certains minéraux présentent une variabilité plus importante que sur fruits. Par exemple, la teneur foliaire en calcium varie de 0.55% à 2.40% de matière sèche contre 0.12 à 0.36% pour les fruits (**figure 19**). De même, la teneur en potassium sur feuille varie de 4.0 à 9.0 % pour les feuilles, contre 2.5 à 5.5% pour les fruits). L'arrêt subit de disponibilité de l'instrument XRF ne nous a pas permis de finaliser ces analyses sur toute la population.

Dans le cas d'expérimentation sur jeunes plantes (expérimentation en cours à l'unité PSH (Production Horticole Intégrée) de l'INRA), il est possible de mesurer directement la teneur en minéraux sur plante entière. Ces données permettent notamment de calculer le coefficient d'efficacité d'absorption du potassium (quantité de K^+ absorbé par la plante par rapport à la quantité de K^+ apportée) ainsi que l'efficacité d'utilisation du K^+ , qui correspond au rendement (quantité de matière sèche) par rapport à la quantité totale de K^+ absorbée. Réaliser ce type de mesure sur 800 plantes nous a semblé inconcevable.

5. Conclusion générale et perspectives

L'orientation vers des cultures efficaces pour l'utilisation des éléments minéraux est cruciale pour une agriculture durable. Elles permettent d'améliorer la productivité dans les systèmes à faibles intrants et de réduire la pollution causée par une fertilisation excessive dans les systèmes intensifs. Dans le cas de la tomate, l'amélioration de l'adaptation au déficit en potassium nécessite d'introduire de la diversité génétique (génotypes sauvages et landraces) du fait de la faible diversité génétique de la tomate cultivée. Pour répondre à cette problématique, un panel de 140 génotypes de tomate génétiquement très diversifiés a été phénotypé en condition contrôle et de déficit en potassium. Vingt-deux QTLs de plasticité, c'est-à-dire reliés à la stabilité des traits phénotypiques entre les deux conditions, ont été détectés. 3 QTL pour la teneur en potassium des fruits ont été détectés (S12_47510753, S11_55958042, S05_64816591), ainsi qu'une région comportant la colocalisation de 6 QTL sur le chromosome 4 (66.16 – 66.39 Mb).

Nous avons également pu constater qu'une diminution drastique de l'apport en potassium (2 mmol.L^{-1}) avec apport de sodium (9.3 mmol.L^{-1}) n'avait pas d'impact sur la morphologie et la phénologie de la plante. Ces résultats ouvrent la perspective d'études plus poussées pour étudier l'impact d'une réduction de l'apport en potassium sur la qualité des tomates cultivées hors sol. Ce résultat doit néanmoins être étudié sur des accessions de plus gros calibre avant d'être extrapolé.

Pour poursuivre l'étude des mécanismes génétiques de la tolérance au déficit en potassium, la perspective immédiate serait donc de refaire une nouvelle expérimentation en adaptant le protocole pour que les conditions stressée et témoin soient suffisamment contrastées. Les analyses GWAS sont ensuite généralement suivies de travaux visant à confirmer les gènes candidats précédemment identifiés. Une première approche peut être d'analyser finement le polymorphisme des gènes candidats pour mettre en évidence les liens entre certaines

mutations et la variation phénotypique observée. Il peut ensuite être envisagé d'utiliser des techniques d'édition du génome (par exemple Crisper-Cas9, déjà utilisé au GAFL) pour générer des mutations ponctuelles. On peut alors confirmer ou infirmer la relation de causalité entre des variants alléliques et le caractère étudié.

6. Compétences acquises

Ce stage a été l'occasion pour moi de mettre en pratique les connaissances acquises lors de mon cursus universitaire. Mais il m'a également permis d'acquérir de nouvelles compétences dans les domaines ci-dessous :

- Mise en place de protocoles expérimentaux
- Phénotypage (mesures morphologiques, qualité du fruit et teneurs en minéraux par XRF)
- Conduite et entretien d'une culture en serre
- Analyse de données et *scripting* (R, Python, Shell)
- Travail sur machine virtuelle (environnement Linux)
- Recherche de QTLs par génétique d'association (utilisation de modèles statistiques et logiciels spécialisés (Plink, gtool), recherche de gènes candidats, étude de polymorphismes alléliques)

7. Références bibliographiques

- Albert E, Segura V, Gricourt J, Bonnefoi J, Derivot L, Causse M (2016) Association mapping reveals the genetic architecture of tomato response to water deficit: focus on major fruit quality traits. *J Exp Bot* 67:6413–6430.
- Amjad M, Javaid A, Anwar-ul-Haq M, Imran S, Jacobsen S-E (2014) Soil and foliar application of potassium enhances fruit yield and quality of tomato under salinity. *Turk J Biol* 38:208–218.
- Aouini A, Hernould M, Ariizumi T, Matsukura C, Ezura H, Asamizu E (2012) Overexpression of the tomato glutamate receptor-like genes SIGLR1.1 and SIGLR3.5 hinders Ca²⁺ utilization and promotes hypersensitivity to Na and K stresses. *Plant Biotechnol* 29:229–235.
- Aouini A, Matsukura C, Ezura H, Asamizu E (2012) Characterisation of 13 glutamate receptor-like genes encoded in the tomato genome by structure, phylogeny and expression profiles. *Gene* 493:36–43.
- Asins MJ, Villalta I, Aly MM, Olías R, Morales PÁD, Huertas R, Li J, Jaime-Pérez N, Haro R, Raga V, Carbonell EA, Belver A (2013) Two closely linked tomato HKT coding genes are positional candidates for the major tomato QTL involved in Na⁺/K⁺ homeostasis. *Plant Cell Environ* 36:1171–1191.
- Audran-Delalande C, Bassa C, Mila I, Regad F, Zouine M, Bouzayen M (2012) Genome-wide identification, functional analysis and expression profiling of the Aux/IAA gene family in tomato. *Plant Cell Physiol* 53:659–672.
- Baldwin EA, Scott JW, Shewmaker CK, Schuch W (2000) Flavor trivia and tomato aroma: biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components. *HortScience*
- Bassil E, Zhang S, Gong H, Tajima H, Blumwald E (2019) Cation specificity of vacuolar NHX-type cation/H⁺ antiporters. *Plant Physiol*:pp.01103.2018.
- Behera S, Long Y, Schmitz-Thom I, Wang X-P, Zhang C, Li H, Steinhorst L, Manishankar P, Ren X-L, Offenborn JN, Wu W-H, Kudla J, Wang Y (2017) Two spatially and temporally distinct Ca²⁺ signals convey Arabidopsis thaliana responses to K⁺ deficiency. *New Phytol* 213:739–750.
- Blanca J, Montero-Pau J, Sauvage C, Bauchet G, Illa E, Díez MJ, Francis D, Causse M, van der Knaap E, Cañizares J (2015) Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. *BMC Genomics* 16:257.
- Brauer EK, Ahsan N, Dale R, Kato N, Coluccio AE, Piñeros MA, Kochian LV, Thelen JJ, Popescu SC (2016) The Raf-like Kinase ILK1 and the High Affinity K⁺ Transporter HAK5 Are Required for Innate Immunity and Abiotic Stress Response. *Plant Physiol* 171:1470–1484.
- Causse M, Albert E, Sauvage C (2017) Developing tomato varieties with improved flavour. In: *Achieving sustainable cultivation of tomatoes*. Burleigh Dodds Science Publishing, p 564.
- Causse M, Desplat N, Pascual L, Le Paslier M-C, Sauvage C, Bauchet G, Bérard A, Bounon R, Tchoumakov M, Brunel D, Bouchet J-P (2013) Whole genome resequencing in tomato reveals variation associated with introgression and breeding events. *BMC Genomics* 14.
- Chen J, Gabelman WH (1995) Isolation of tomato strains varying in potassium acquisition using a sand-zeolite culture system. *Plant Soil* 176:65–70.
- Coetzee ZA, Walker RR, Liao S, Barril C, Deloire AJ, Clarke SJ, Tyerman SD, Rogiers SY (2019) Expression Patterns of Genes Encoding Sugar and Potassium Transport Proteins are Simultaneously Up- or Downregulated When Carbon and Potassium Availability is Modified in Shiraz (*Vitis vinifera* L.) Berries. *Plant Cell Physiol*

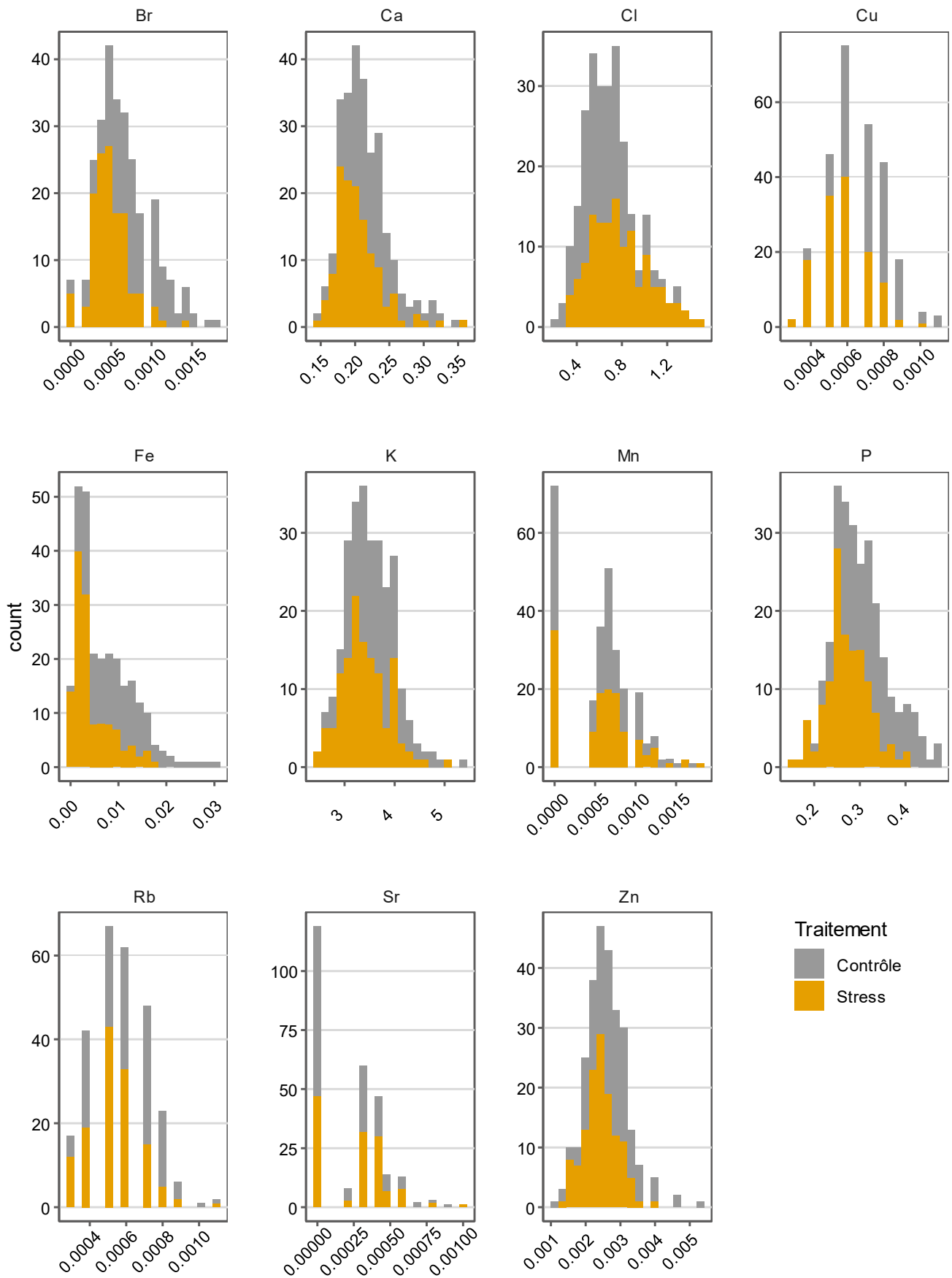
- Coskun D, Britto DT, Kronzucker HJ (2017) The nitrogen-potassium intersection: membranes, metabolism, and mechanism. *Plant Cell Environ* 40:2029–2041.
- Couée I, Sulmon C, Gouesbet G, El Amrani A (2006) Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *J Exp Bot* 57:449–459.
- Deng W, Yang Y, Ren Z, Audran-Delalande C, Mila I, Wang X, Song H, Hu Y, Bouzayen M, Li Z (2012) The tomato SHAA15 is involved in trichome formation and axillary shoot development. *New Phytol* 194:379–390.
- Dijkshoorn W, Lathwell DJ, Wit CT de (1968) Temporal changes in carboxylate content of ryegrass with stepwise change in nutrition. *Plant Soil* 29:369–390.
- Dolan L (2013) Pointing PINs in the right directions: a potassium transporter is required for the polar localization of auxin efflux carriers. *New Phytol* 197:1027–1028.
- El-Nemr MA, Abd El-Baky MMH, Salman SR, El-Tohamy W (2012) Effect of different potassium levels on the growth, yield and quality of tomato grown in sand-ponic culture. *Aust J Basic Appl Sci* 6:779–784.
- Foolad MR, Chen FQ, Lin GY (1998) RFLP mapping of QTLs conferring cold tolerance during seed germination in an interspecific cross of tomato. *Mol Breed* 4:519–529.
- Gálvez FJ, Baghour M, Hao G, Cagnac O, Rodríguez-Rosales MP, Venema K (2012) Expression of LeNHX isoforms in response to salt stress in salt sensitive and salt tolerant tomato species. *Plant Physiol Biochem PPB* 51:109–115.
- Gao L, Gonda I, Sun H, Ma Q, Bao K, Tieman DM, Burzynski-Chang EA, Fish TL, Stromberg KA, Sacks GL, Thannhauser TW, Foolad MR, Diez MJ, Blanca J, Canizares J, Xu Y, Knaap E van der, Huang S, Klee HJ, Giovannoni JJ, Fei Z (2019) The tomato pan-genome uncovers new genes and a rare allele regulating fruit flavor.
- Gaymard F, Pilot G, Lacombe B, Bouchez D, Bruneau D, Boucherez J, Michaux-Ferrière N, Thibaud JB, Sentenac H (1998) Identification and disruption of a plant shaker-like outward channel involved in K⁺ release into the xylem sap. *Cell* 94:647–655.
- Geiger D, Becker D, Vosloh D, Gambale F, Palme K, Rehers M, Anschuetz U, Dreyer I, Kudla J, Hedrich R (2009) Heteromeric AtKC1·AKT1 Channels in Arabidopsis Roots Facilitate Growth under K⁺-limiting Conditions. *J Biol Chem* 284:21288–21295.
- Genies L (2017) Etude des transporteurs impliqués dans l'absorption racinaire et la translocation aux parties aériennes du césium chez *Arabidopsis thaliana*. thesis, Aix-Marseille.
- Gierth M, Mäser P (2007) Potassium transporters in plants – Involvement in K⁺ acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS Lett* 581:2348–2356.
- Giovannoni JJ (2004) Genetic Regulation of Fruit Development and Ripening. *Plant Cell* 16:S170–S180.
- Guan Y (2014) Detecting Structure of Haplotypes and Local Ancestry. *Genetics* 196:625–642.
- Han M, Wu W, Wu W-H, Wang Y (2016) Potassium Transporter KUP7 Is Involved in K⁽⁺⁾ Acquisition and Translocation in Arabidopsis Root under K⁽⁺⁾-Limited Conditions. *Mol Plant* 9:437–446.
- Hanana M, Cagnac O, Zarrouk M, Blumwald E (2009) Rôles biologiques des antiports vacuolaires NHX : acquis et perspectives d'amélioration génétique des plantes. *Botany* 87:1023–1035.
- Hartley TN, Thomas AS, Maathuis FJM A role for the OsHKT 2;1 sodium transporter in potassium use efficiency in rice. *J Exp Bot*.
- He FJ, MacGregor GA (2008) Beneficial effects of potassium on human health. *Physiol Plant* 133:725–735.

- Hell R, Mendel R-R (eds) (2010) *Cell Biology of Metals and Nutrients*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Hermans C, Hammond JP, White PJ, Verbruggen N (2006) How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends Plant Sci* 11:610–617.
- Hernandez M, Fernandez-Garcia N, Garcia-Garma J, Rubio-Asensio JS, Rubio F, Olmos E (2012) Potassium starvation induces oxidative stress in *Solanum lycopersicum* L. roots. *J Plant Physiol* 169:1366–1374.
- Ho C-H, Lin S-H, Hu H-C, Tsay Y-F (2009) CHL1 Functions as a Nitrate Sensor in Plants. *Cell* 138:1184–1194.
- Hong J-P, Takeshi Y, Kondou Y, Schachtman DP, Matsui M, Shin R (2013) Identification and Characterization of Transcription Factors Regulating Arabidopsis HAK5. *Plant Cell Physiol* 54:1478–1490.
- Honsbein A, Sokolovski S, Grefen C, Campanoni P, Pratelli R, Paneque M, Chen Z, Johansson I, Blatt MR (2009) A tripartite SNARE-K⁺ channel complex mediates in channel-dependent K⁺ nutrition in Arabidopsis. *Plant Cell* 21:2859–2877.
- Hosy E, Vavasseur A, Mouline K, Dreyer I, Gaymard F, Porée F, Boucherez J, Lebaudy A, Bouchez D, Very A-A, Simonneau T, Thibaud J-B, Sentenac H (2003) The Arabidopsis outward K⁺ channel GORK is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration.
- Kang HM, Sul JH, Service SK, Zaitlen NA, Kong S-Y, Freimer NB, Sabatti C, Eskin E (2010) Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies.
- Kaplan B, Sherman T, Fromm H (2007) Cyclic nucleotide-gated channels in plants. *FEBS Lett* 581:2237–2246.
- Kim MJ, Ciani S, Schachtman DP (2010) A Peroxidase Contributes to ROS Production during Arabidopsis Root Response to Potassium Deficiency. *Mol Plant* 3:420–427.
- Kim MJ, Ruzicka D, Shin R, Schachtman DP (2012) The Arabidopsis AP2/ERF transcription factor RAP2.11 modulates plant response to low-potassium conditions. *Mol Plant* 5:1042–1057.
- Lacombe B, Pilot G, Michard E, Gaymard F, Sentenac H, Thibaud JB (2000) A shaker-like K(+) channel with weak rectification is expressed in both source and sink phloem tissues of Arabidopsis. *Plant Cell* 12:837–851.
- Lagarde D, Basset M, Lepetit M, Conejero G, Gaymard F, Astruc S, Grignon C (1996) Tissue-specific expression of Arabidopsis AKT1 gene is consistent with a role in K⁺ nutrition. *Plant J Cell Mol Biol* 9:195–203.
- Lan W-Z, Lee S-C, Che Y-F, Jiang Y-Q, Luan S (2011) Mechanistic analysis of AKT1 regulation by the CBL-CIPK-PP2CA interactions. *Mol Plant* 4:527–536.
- Lebaudy A, Pascaud F, Véry A-A, Alcon C, Dreyer I, Thibaud J-B, Lacombe B (2010) Preferential KAT1-KAT2 heteromerization determines inward K⁺ current properties in Arabidopsis guard cells. *J Biol Chem* 285:6265–6274.
- Lecomte L, Duffé P, Buret M, Servin B, Hospital F, Causse M (2004) Marker-assisted introgression of five QTLs controlling fruit quality traits into three tomato lines revealed interactions between QTLs and genetic backgrounds. *TAG Theor Appl Genet Theor Angew Genet* 109:658–668.
- Lin S-H, Kuo H-F, Canivenc G, Lin C-S, Lepetit M, Hsu P-K, Tillard P, Lin H-L, Wang Y-Y, Tsai C-B, Gojon A, Tsay Y-F (2008) Mutation of the Arabidopsis NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport. *Plant Cell* 20:2514–2528.
- Liu J, Liu J, Liu J, Cui M, Huang Y, Tian Y, Chen A, Xu G (2019) The potassium transporter SIHAK10 is involved in mycorrhizal potassium uptake. *Plant Physiol*:pp.01533.2018.
- Maathuis FJM (2009) Physiological functions of mineral macronutrients. *Curr Opin Plant Biol* 12:250–258.

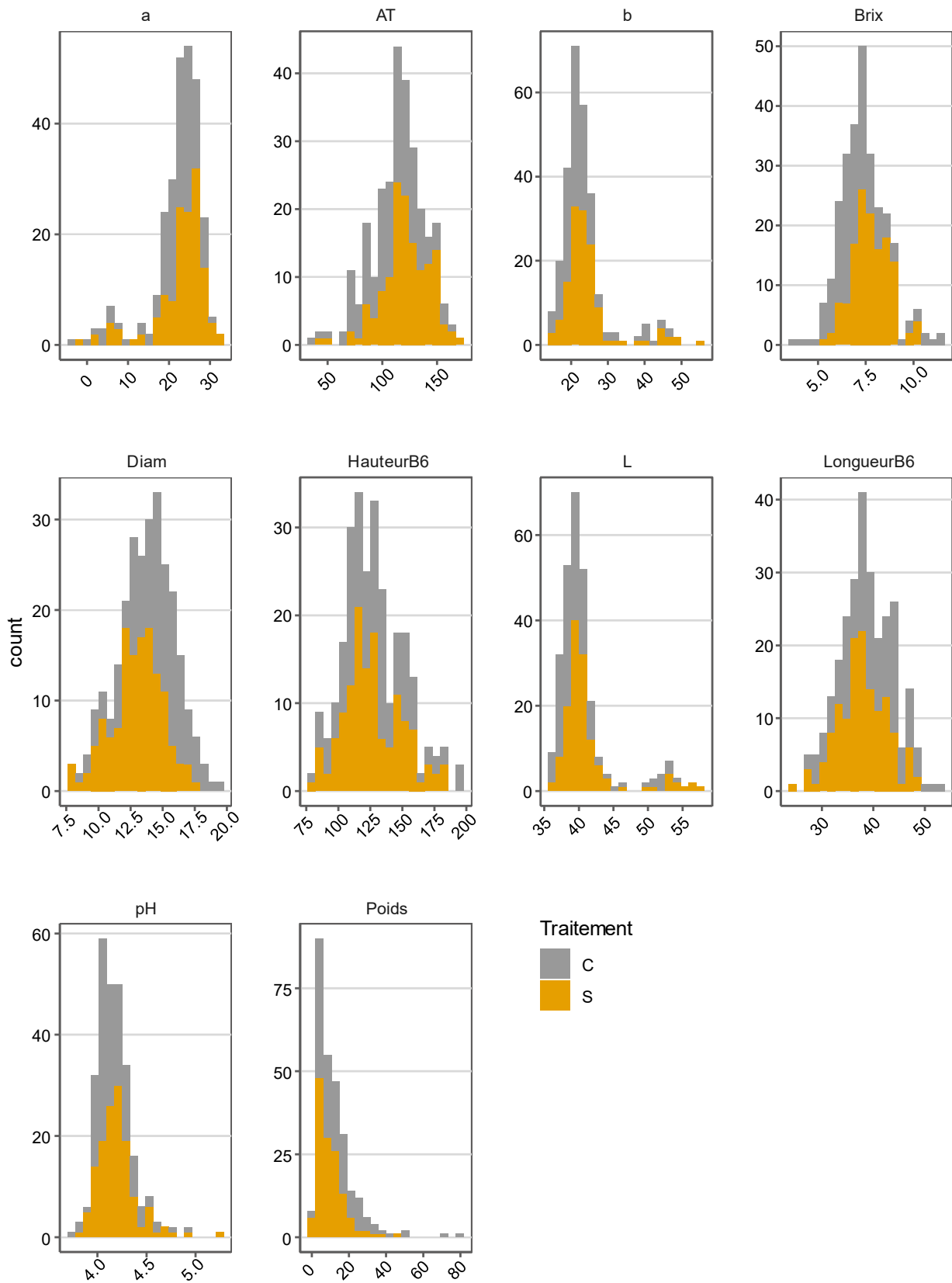
- Maathuis FJM, Sanders D (1993) Energization of potassium uptake in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 191:302–307.
- Matros A, Peshev D, Peukert M, Mock H-P, Van den Ende W (2015) Sugars as hydroxyl radical scavengers: proof-of-concept by studying the fate of sucralose in *Arabidopsis*. *Plant J Cell Mol Biol* 82:822–839.
- Nam Y-J, Tran L-SP, Kojima M, Sakakibara H, Nishiyama R, Shin R (2012) Regulatory Roles of Cytokinins and Cytokinin Signaling in Response to Potassium Deficiency in *Arabidopsis*. *PLOS ONE* 7:e47797.
- Nieves-Cordones M, Martínez V, Benito B, Rubio F (2016) Comparison between *Arabidopsis* and Rice for Main Pathways of K⁺ and Na⁺ Uptake by Roots. *Front Plant Sci* 7.
- Nieves-Cordones M, Miller AJ, Alemán F, Martínez V, Rubio F (2008) A putative role for the plasma membrane potential in the control of the expression of the gene encoding the tomato high-affinity potassium transporter HAK5. *Plant Mol Biol* 68:521–532.
- Orabi A, Ismail A, Mashadi H, Mashadi A (1982) Zinc-phosphorus relationship in the nutrition of tomato plants as affected both by the soil and by the rate of applied zinc. *Plant Soil* 69:67–72.
- Padmanaban S, Chanroj S, Kwak JM, Li X, Ward JM, Sze H (2007) Participation of endomembrane cation/H⁺ exchanger AtCHX20 in osmoregulation of guard cells. *Plant Physiol* 144:82–93.
- Pascual L, Desplat N, Huang BE, Desgroux A, Bruguiere L, Bouchet J-P, Le QH, Chauchard B, Verschave P, Causse M (2015) Potential of a tomato MAGIC population to decipher the genetic control of quantitative traits and detect causal variants in the resequencing era. *Plant Biotechnol J* 13:565–577.
- Pellerin S, Augusto L, Bakker M, Denoroy P, Hinsinger P, Jaillard B, Jordan-Meille L, Le Cadre E, Linères M, Morel C, Saur E, Schneider A. (2009). Sols et nutrition des plantes : nouvelles recherches sur la biodisponibilité des éléments minéraux.
- Peralta I, Spooner D, Knapp S (2008) Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae).
- Aduayi E (2007) Sodium-potassium interaction on growth, yield and quality of tomato in ultisol. *J Plant Interact* 2:263–271.
- Philippart K, Ivashikina N, Ache P, Christian M, Lüthen H, Palme K, Hedrich R (2004) Auxin activates KAT1 and KAT2, two K⁺-channel genes expressed in seedlings of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J Cell Mol Biol* 37:815–827.
- Ranc N, Muñoz S, Santoni S, Causse M (2008) A clarified position for *solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* in the evolutionary history of tomatoes (solanaceae). *BMC Plant Biol* 8:130.
- Rodríguez GR, Muñoz S, Anderson C, Sim S-C, Michel A, Causse M, Gardener BBM, Francis D, van der Knaap E (2011) Distribution of SUN, OVATE, LC, and FAS in the tomato germplasm and the relationship to fruit shape diversity. *Plant Physiol* 156:275–285.
- Rubio F, Alemán F, Nieves-Cordones M, Martínez V (2010) Studies on *Arabidopsis* *athak5*, *atakt1* double mutants disclose the range of concentrations at which AtHAK5, AtAKT1 and unknown systems mediate K uptake. *Physiol Plant* 139:220–228.
- Rubio F, Fon M, Ródenas R, Nieves-Cordones M, Alemán F, Rivero RM, Martínez V (2014) A low K⁺ signal is required for functional high-affinity K⁺ uptake through HAK5 transporters. *Physiol Plant* 152:558–570.
- Sánchez-Rodríguez E, del Mar Rubio-Wilhelmi M, Cervilla LM, Blasco B, Rios JJ, Leyva R, Romero L, Ruiz JM (2010) Study of the ionome and uptake fluxes in cherry tomato plants under moderate water stress conditions. *Plant Soil* 335:339–347.
- Sasaki T, Tsuchiya Y, Ariyoshi M, Nakano R, Ushijima K, Kubo Y, Mori IC, Higashiizumi E, Galis I, Yamamoto Y (2016) Two Members of the Aluminum-Activated Malate Transporter Family, SIALMT4

- and SIALMT5, are Expressed during Fruit Development, and the Overexpression of SIALMT5 Alters Organic Acid Contents in Seeds in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Cell Physiol* 57:2367–2379.
- Sauvage C, Segura V, Bauchet G, Stevens R, Do PT, Nikoloski Z, Fernie AR, Causse M (2014) Genome-Wide Association in Tomato Reveals 44 Candidate Loci for Fruit Metabolic Traits1[W]. *Plant Physiol* 165:1120–1132.
- Schulz A, Beyhl D, Marten I, Wormit A, Neuhaus E, Poschet G, Büttner M, Schneider S, Sauer N, Hedrich R (2011) Proton-driven sucrose symport and antiport are provided by the vacuolar transporters SUC4 and TMT1/2. *Plant J* 68:129–136.
- Shin R (2014) Strategies for Improving Potassium Use Efficiency in Plants. *Mol Cells* 37:575–584.
- Shin R, Berg RH, Schachtman DP (2005) Reactive oxygen species and root hairs in Arabidopsis root response to nitrogen, phosphorus and potassium deficiency. *Plant Cell Physiol* 46:1350–1357.
- Shin R, Burch AY, Huppert KA, Tiwari SB, Murphy AS, Guilfoyle TJ, Schachtman DP (2007) The Arabidopsis Transcription Factor MYB77 Modulates Auxin Signal Transduction. *Plant Cell* 19:2440–2453.
- Shin R, Schachtman DP (2004) Hydrogen peroxide mediates plant root cell response to nutrient deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:8827–8832.
- Sim S-C, Durstewitz G, Plieske J, Wieseke R, Ganai MW, Deynze AV, Hamilton JP, Buell CR, Causse M, Wijeratne S, Francis DM (2012) Development of a Large SNP Genotyping Array and Generation of High-Density Genetic Maps in Tomato. *PLOS ONE* 7:e40563.
- Sim S-C, Durstewitz G, Plieske J, Wieseke R, Ganai MW, Van Deynze A, Hamilton JP, Buell CR, Causse M, Wijeratne S, Francis DM (2012) Development of a large SNP genotyping array and generation of high-density genetic maps in tomato. *PloS One* 7:e40563.
- Song Z-Z, Yang S-Y, Zuo J, Su Y-H (2014) Over-expression of ApKUP3 enhances potassium nutrition and drought tolerance in transgenic rice. *Biol Plant* 58:649–658.
- Sunarpinull, Horie T, Motoda J, Kubo M, Yang H, Yoda K, Horie R, Chan W-Y, Leung H-Y, Hattori K, Konomi M, Osumi M, Yamagami M, Schroeder JI, Uozumi N (2005) Enhanced salt tolerance mediated by AtHKT1 transporter-induced Na unloading from xylem vessels to xylem parenchyma cells. *Plant J Cell Mol Biol* 44:928–938.
- Vicente-Agullo F, Rigas S, Desbrosses G, Dolan L, Hatzopoulos P, Grabov A (2004) Potassium carrier TRH1 is required for auxin transport in Arabidopsis roots. *Plant J Cell Mol Biol* 40:523–535.
- Walker DJ, Cerdá A, Martínez V (2000) The effects of sodium chloride on ion transport in potassium-deficient tomato. *J Plant Physiol* 157:195–200.
- Wang F, Chen Z-H, Liu X, Colmer TD, Zhou M, Shabala S (2016) Tissue-specific root ion profiling reveals essential roles of the CAX and ACA calcium transport systems in response to hypoxia in Arabidopsis. *J Exp Bot* 67:3747–3762.
- Wang Y, Wu W-H (2013) Potassium transport and signaling in higher plants. *Annu Rev Plant Biol* 64:451–476.
- Wang M, Zheng Q, Shen Q, Guo S (2013) The critical role of potassium in plant stress response. *Int J Mol Sci* 14:7370–7390.
- Woldemariam SH, Lal S, Zelelew DZ, Solomon MT (2018) Effect of Potassium Levels on Productivity and Fruit Quality of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *J Agric Stud* 6:102–115.
- Xu J, Li H-D, Chen L-Q, Wang Y, Liu L-L, He L, Wu W-H (2006) A Protein Kinase, Interacting with Two Calcineurin B-like Proteins, Regulates K⁺ Transporter AKT1 in Arabidopsis. *Cell* 125:1347–1360.

- Yang L, Huoying C, Yutang W, Tianming Z (2005) Construction of a genetic map and localization of QTLs for yield traits in tomato by SSR markers. *Prog Nat Sci* 15:793–797.
- Yang T, Zhang S, Hu Y, Wu F, Hu Q, Chen G, Cai J, Wu T, Moran N, Yu L, Xu G (2014) The role of a potassium transporter OsHAK5 in potassium acquisition and transport from roots to shoots in rice at low potassium supply levels. *Plant Physiol* 166:945–959.
- Ye J, Wang X, Hu T, Zhang F, Wang B, Li C, Yang T, Li H, Lu Y, Giovannoni JJ, Zhang Y, Ye Z (2017) An InDel in the Promoter of *Al-ACTIVATED MALATE TRANSPORTER9* Selected during Tomato Domestication Determines Fruit Malate Contents and Aluminum Tolerance. *Plant Cell* 29:2249–2268.
- Zanor MI, Osorio S, Nunes-Nesi A, Carrari F, Lohse M, Usadel B, Kühn C, Bleiss W, Giavalisco P, Willmitzer L, Sulpice R, Zhou Y-H, Fernie AR (2009) RNA Interference of *LIN5* in Tomato Confirms Its Role in Controlling Brix Content, Uncovers the Influence of Sugars on the Levels of Fruit Hormones, and Demonstrates the Importance of Sucrose Cleavage for Normal Fruit Development and Fertility. *Plant Physiol* 150:1204–1218.
- Zhang B, Karnik R, Wang Y, Wallmeroth N, Blatt MR, Grefen C (2015) The Arabidopsis R-SNARE *VAMP721* Interacts with *KAT1* and *KC1* K⁺ Channels to Moderate K⁺ Current at the Plasma Membrane. *Plant Cell* 27:1697–1717.
- Zhang H, Yang B, Liu W-Z, Li H, Wang L, Wang B, Deng M, Liang W, Deyholos MK, Jiang Y-Q (2014) Identification and characterization of CBL and CIPK gene families in canola (*Brassica napus* L.). *BMC Plant Biol* 14:8.
- Zhao J, Cheng N-H, Motes CM, Blancaflor EB, Moore M, Gonzales N, Padmanaban S, Sze H, Ward JM, Hirschi KD (2008) *AtCHX13* Is a Plasma Membrane K⁺ Transporter. *Plant Physiol* 148:796–807.
- Zhao J, Li P, Motes CM, Park S, Hirschi KD (2015) *CHX14* is a plasma membrane K⁺-efflux transporter that regulates K⁺ redistribution in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 38:2223–2238.
- Zhao X, Liu Y, Liu X, Jiang J (2018) Comparative Transcriptome Profiling of Two Tomato Genotypes in Response to Potassium-Deficiency Stress. *Int J Mol Sci* 19.
- Zhao S, Zhang M-L, Ma T-L, Wang Y (2016) Phosphorylation of *ARF2* Relieves Its Repression of Transcription of the K⁺ Transporter Gene *HAK5* in Response to Low Potassium Stress. *Plant Cell* 28:3005–3019.



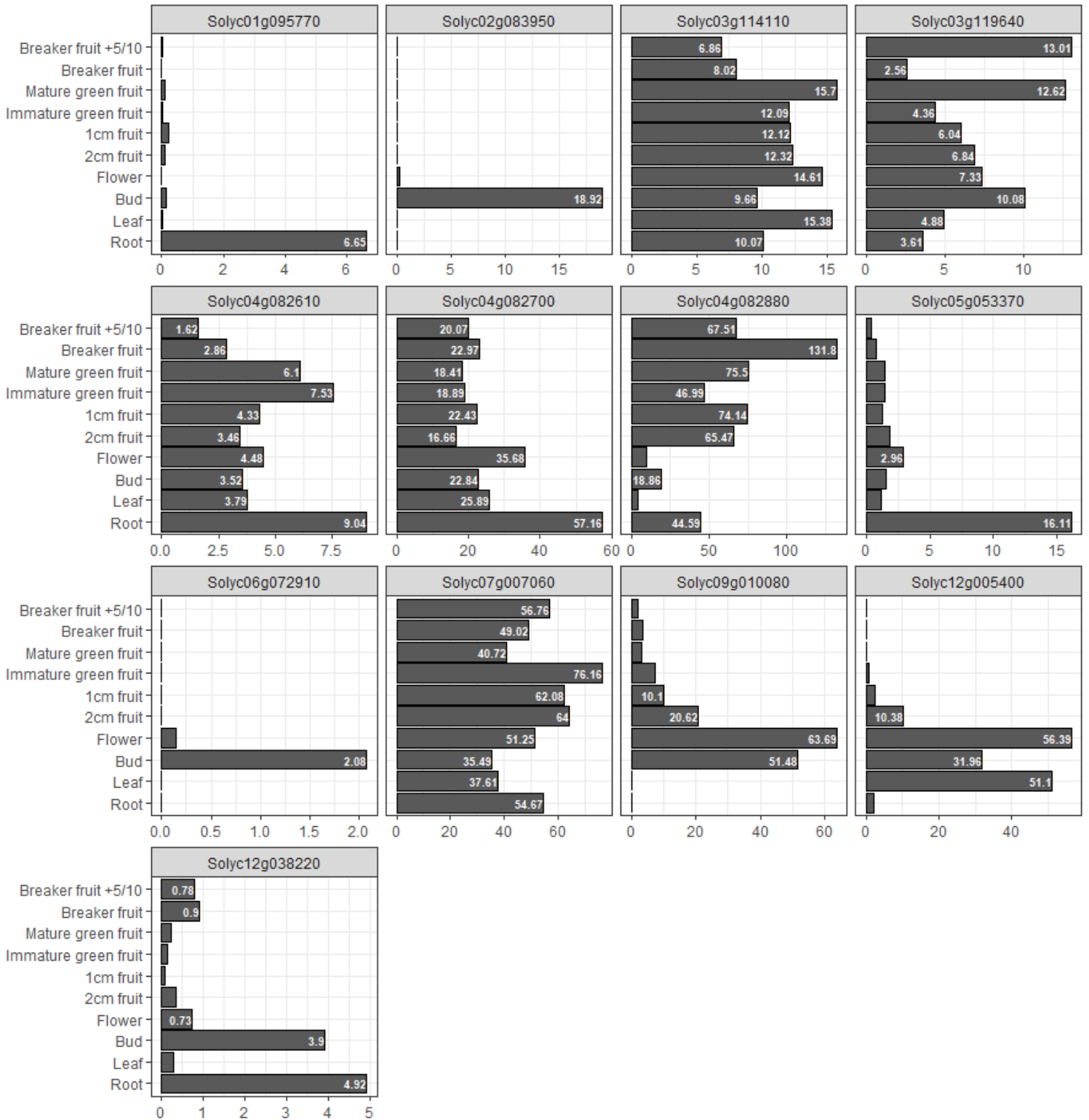
ANNEXE 1 | Distribution des teneurs en minéraux (données non transformées). Les teneurs sont données en pourcentage de matière de matière sèche.



ANNEXE 2 | Distribution des traits morphologiques et qualitatifs (données non transformées).

ANNEXE 3 | Pattern d'expression spatiale des onze gènes candidats pour la variété 'Heinz 1706'.

Les comptages de transcrits sont données en RPKM (



Trait	Marqueur	Pval	Allèles	MAF	FET	Cof	IC (down)	IC (up)	Nb gènes	Nb gènes non annotés	Candidats
AT.C	S12_62236243	3,46E-05	T/C	21,48	2,66E-21	0	62121974	62484851	38	7	
AT.C	S12_39615249	5,13E-05	G/A	25,54	7,19E-29	1	39545799	39616878	5	2	
AT.S	S01_78675745	1,75E-08	G/A	47,43	1,38E-38	0	78579761	78705157	10	0	
AT.S	S04_03821452	2,09E-06	G/A	31,16	3,64E-30	1	3636527	4103239	32	3	
AT.S	S04_00744120	3,25E-06	T/C	32,09	1,6E-32	2	741558	744713	2	0	
Brix.C	S09_03477979	2,67E-07	A/G	48,91	4,71E-34	0	3477432	3484890	2	0	Solyc09g010080 (Lin5)
Brix.C	S04_66307772	3,83E-05	T/C	10,14	1,32E-13	1	66300765	66310248	3	1	Solyc04g082880 (PFP)
Brix.D	S07_65052176	5,29E-05	G/A	5,80	3,92E-10	0	65050895	65062973	4	0	
Brix.S	S09_05837005	2,43E-05	C/A	27,04	4,77E-26	0	5644111	6096766	32	8	Solyc09g010080 (Lin5)
Brix.S	S05_61633395	3,5E-05	A/G	5,80	3,92E-10	1	61608437	61812802	14	1	
Diam.C	S10_63832222	4,19E-06	A/G	16,67	2,89E-23	0	63806712	63832534	3	0	
Diam.C	S03_53105002	7,4E-05	G/A	34,81	3,18E-28	1	53087450	53241642	16	1	
Diam.D	S01_00986514	4,72E-07	T/C	29,26	3,32E-27	0	906718	1086886	17	1	
Diam.D	S04_66164607	3,83E-05	G/A	45,15	1,31E-31	1	66152971	66205831	7	0	
HauteurB6.D	S05_62699296	1,19E-05	A/G	11,76	7,35E-18	0	62636863	62738996	10	0	
HauteurB6.D	S07_61333917	1,78E-05	T/G	26,81	6,31E-28	1	61198931	61442206	28	6	
HauteurB6.D	S07_02555727	8,66E-05	C/A	5,11	5,92E-09	2	2439123	2870461	38	3	
LongueurB6.C	S09_01836575	7,88E-05	A/G	31,02	2,46E-31	0	1751746	1921149	19	0	
LongueurB6.D	S09_01836575	1,56E-06	A/G	31,02	2,46E-31	0	1751746	1921149	19	0	
pH.C	S06_40544466	4,39E-05	G/A	27,21	1,14E-27	0	40448784	40653320	31	5	Solyc06g072910 (ALMT9)
pH.C	S08_00035179	5,58E-05	T/C	36,50	5,87E-32	1	29999	140415	18	3	
pH.C	S04_66310248	9,75E-05	T/C	27,21	8,77E-23	2	66205831	66394819	34	3	
pH.D	S11_05656480	5,39E-06	C/T	50,00	1,39E-35	0	5651800	5659261	2	0	
pH.S	S04_66307772	7,37E-05	T/C	10,14	1,32E-13	0	66300765	66310248	3	1	Solyc04g082700 (SLC)
pH.S	S06_40541271	9,42E-05	C/T	24,81	1,76E-27	1	40538926	40546323	3	0	Solyc06g072910 (ALMT9)
Poids.C	S08_58369123	1,37E-06	C/T	10,87	4,24E-17	0	58127626	58745796	57	9	
Poids.C	S09_02210922	7,01E-06	T/C	36,30	2,31E-34	1	2210502	2258971	7	0	
Poids.C	S02_46763987	6,92E-05	A/G	32,72	8,14E-32	2	46727897	46767771	4	1	Solyc02g083950 (Wushel)
Poids.D	S02_45761358	4,69E-06	T/C	19,57	8,32E-26	0	45754552	45803170	6	1	Solyc02g083950 (Wushel)
Poids.D	S11_01765024	4,52E-05	T/G	4,32	1,11E-10	1	1656689	1924190	42	4	
Poids.D	S01_06229659	9,15E-05	C/T	10,58	3,17E-18	2	5823251	6840632	24	5	
Poids.S	S09_02445969	1,21E-06	A/G	4,32	1,11E-10	0	2411368	2446934	3	0	
Ca.D	S12_63995826	4,78E-07	G/A	14,23	2,53E-19	0	63987283	64057242	12	0	
Ca.D	S09_00293954	7,79E-06	T/C	10,43	2,22E-15	1	239839	411890	30	5	
Ca.D	S10_56032405	3,07E-05	G/A	38,32	2,4E-37	2	55950776	56129131	15	1	
Ca.S	S08_03781365	1,05E-05	T/A	43,43	1,12E-29	0	3732193	4103562	21	5	
Cl.D	S06_01330594	7,14E-05	G/T	33,96	9,03E-32	0	1326475	1339349	3	0	
Cl.D	S01_80185807	7,59E-05	A/G	20,07	1,42E-24	1	80185248	80240816	4	1	
Cl.S	S03_68738859	3,7E-05	A/C	7,61	2,23E-14	0	68628985	69243359	87	14	Solyc03g119640 (ALMT)
Cu.C	S04_55047877	6,8E-05	G/A	13,41	1,18E-21	0	54926481	55127267	19	7	
Cu.D	S03_64348252	3,32E-07	A/G	11,59	5,83E-18	0	64198203	64374386	19	2	Solyc03g114110 (CNGC14)
Cu.D	S04_66273758	3,33E-05	T/C	16,06	2,5E-17	1	66205831	66394819	34	3	Solyc04g082610 (GLR3.3)
Cu.S	S01_64165763	2,83E-05	G/A	20,86	4,66E-27	0	63622104	64322523	16	5	
Cu.S	S11_03204584	4,32E-05	G/A	32,97	1,27E-29	1	3039963	3393788	48	5	

Fe.C	S12_00241878	2,69E-05	T/ <u>G</u>	47,10	5,33E-41	0	236182	241989	1	0	Solyc12g005400 (CNGC18)
Fe.D	S06_42161946	9,64E-05	A/ <u>C</u>	27,94	4,51E-28	0	41994475	42200096	30	4	
Fe.S	S12_65101091	2,75E-07	C/ <u>A</u>	9,35	9,46E-13	0	64988227	65428477	69	6	
Fe.S	S06_42161946	2,54E-06	A/ <u>C</u>	27,94	4,51E-28	1	41994475	42200096	30	4	
Fe.S	S04_06624722	8,51E-06	T/A	25,55	2,23E-24	2	5977050	7134348	64	22	
K.C	S12_47510753	1,04E-06	T/ <u>A</u>	31,25	1,8E-34	0	47326282	49206496	41	14	Solyc12g038220 (MSF)
K.C	S05_64816591	1,54E-06	A/ <u>G</u>	32,97	1,91E-32	1	64789300	65009284	33	5	
K.C	S11_55958042	3,4E-05	G/ <u>A</u>	23,91	3,92E-26	2	55766807	56005145	23	3	
K.S	S05_64816591	8,18E-05	A/ <u>G</u>	32,97	1,91E-32	0	64789300	65009284	33	5	
P.C	S04_66394819	5,28E-07	G/A	6,52	3,03E-11	0	66310248	66412123	19	2	
P.C	S05_04706450	2,86E-05	C/ <u>T</u>	45,59	6,99E-31	1	4522564	4829681	21	10	
P.C	S04_53833493	8,65E-05	G/A	20,59	3,34E-26	2	53669515	54072505	26	6	
P.D	S03_65257952	6,94E-06	G/ <u>A</u>	17,03	2,62E-25	0	65147049	65364991	30	6	
P.S	S01_86564359	9,85E-06	C/ <u>A</u>	22,10	1,57E-29	0	86549187	86764273	33	9	Solyc01g095770 (CNGC1)
Rb.S	S05_63478118	4,73E-05	T/ <u>C</u>	11,96	5,08E-20	0	63449989	63796385	44	4	Solyc05g053370 (ZIP)
Zn.C	S10_01729769	7,36E-06	T/ <u>C</u>	33,46	2,03E-35	0	1692739	1732995	6	2	
Zn.D	S10_63099177	2,39E-06	C/ <u>T</u>	35,51	6,33E-35	0	62995685	63163119	20	1	
Zn.D	S10_01688643	5,68E-06	T/ <u>A</u>	27,86	0,0003552	1	1628139	1729769	15	1	
Zn.S	S03_67028056	3,38E-07	T/C	26,45	3,48E-29	0	66920092	67127672	25	4	
Zn.S	S09_65776406	3,54E-05	C/T	21,32	6,83E-24	1	65758887	66012960	19	3	

ANNEXE 4 | Liste des QTLs identifiés par analyse d'association sur la population GWAS.

C : contrôle ; S : Stress ; D : delta (QTL de plasticité). MAF : *Minor allele frequency*. FET : *Fisher's Exact Test*. IC (down) / (up) : bornes inférieures et supérieures des intervalles de confiance.

Résumé

L'orientation vers des cultures efficaces pour l'utilisation des éléments minéraux est cruciale pour une agriculture durable. Dans le cas de la tomate, l'amélioration de l'adaptation au déficit en potassium nécessite d'introduire de la diversité génétique (génotypes sauvages et landraces) du fait de la faible diversité génétique de la tomate cultivée. Pour répondre à cette problématique, un panel de 140 génotypes de tomate génétiquement très diversifiés a été phénotypé en condition contrôle et de déficit en potassium. Vingt-deux QTLs de plasticité, c'est-à-dire reliés à la stabilité des traits phénotypiques entre les deux conditions, ont été détectés. Parmi eux, deux QTLs présentent des caractéristiques intéressantes pour la sélection assistée par marqueurs. D'autre part, il a pu être observé qu'une diminution drastique de l'apport en potassium (2 mmol.L^{-1}), avec apport de sodium (9.3 mmol.L^{-1}), n'avait pas d'impact sur la morphologie et la phénologie de la plante. Ces résultats ouvrent la perspective d'études plus poussées pour étudier l'impact d'une réduction de l'apport en potassium sur la qualité des tomates cultivées hors sol.

Mots clés : tomate, potassium, sodium, hors-sol, QTLs, génétique d'association, MLM

Abstract

The orientation towards efficient crops for the use of mineral elements is essential for sustainable agriculture. In the case of tomatoes, improving adaptation to potassium deficiency requires the introduction of genetic diversity (wild genotypes and landraces) due to the low genetic diversity of the tomatoes cultivated. To address this issue, a panel of 140 genetically diversified tomato genotypes was phenotyped under control and potassium deficient conditions. Twenty-two QTLs of plasticity, that is to say related to the stability of phenotypic traits between the two conditions, were detected. Among them, two QTLs have interesting characteristics for marker-assisted selection. On the other hand, it was observed that a severe reduction in potassium supply (2 mmol.L^{-1}), with sodium input (9.3 mmol.L^{-1}), did not have an impact on the morphology and phenology of the plant. These results open the prospect of further studies to study the impact of a reduction in potassium supply on the quality of soil-less tomatoes.

Keywords : tomato, potassium, sodium, soil-less culture, QTLs, Genome Wide Association Study, MLM