



**Caractérisation de la variabilité génotypique de la
réponse à la disponibilité en phosphore (P) chez la
laitue : étude des traits de croissance et de
fonctionnement aérien, de l'architecture racinaire et de
l'efficacité d'utilisation du P**

Amira Beroueg

► **To cite this version:**

Amira Beroueg. Caractérisation de la variabilité génotypique de la réponse à la disponibilité en phosphore (P) chez la laitue : étude des traits de croissance et de fonctionnement aérien, de l'architecture racinaire et de l'efficacité d'utilisation du P. Sciences agricoles. Université d'Avignon, 2021. Français. NNT : 2021AVIG0731 . tel-03647934

HAL Id: tel-03647934

<https://theses.hal.science/tel-03647934>

Submitted on 21 Apr 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE DE DOCTORAT D'AVIGNON UNIVERSITÉ

École Doctorale N° 536 : Sciences et agrosociétés

Spécialité : Sciences agronomiques

**Laboratoire d'accueil : UR 1115 PSH (Plantes et Systèmes de culture Horticoles)
INRAE centre PACA**

Présentée par

Amira BEROUEG

**Caractérisation de la variabilité génotypique de la réponse à la
disponibilité en phosphore (P) chez la laitue : étude des traits de
croissance et de fonctionnement aérien, de l'architecture racinaire
et de l'efficacité d'utilisation du P**

Soutenue publiquement le 19/10/2021 devant le jury composé de :

Guillaume LOBET	Professeur, Université catholique de Louvain, Belgique	Rapporteur
Anne LAPERCHE	Maître de Conférence, Agrocampus-ouest	Rapporteur
Claude PLASSARD	Directrice de recherche, Université de Montpellier	Examinatrice
Loïc PAGES	Directeur de recherche, INRAE Avignon	Directeur de thèse
François LECOMPTE	Chargé de recherche, INRAE Avignon	Co-encadrant



Remerciements

En tout premier lieu, j'exprime toute ma reconnaissance et ma gratitude envers mon directeur de thèse et mon Co-encadrant, Loïc Pagès et François Lecompte. Merci à vous deux de m'avoir accueillie et de m'avoir fait confiance. Loïc, merci de m'avoir transmis tant de connaissances à propos l'architecture racinaire et la modélisation, et pour ta contribution à la réalisation de ces travaux. François, merci pour ton encadrement de proximité, de m'avoir appris à mieux organiser les idées pour la rédaction, ainsi que la précision et la rigueur scientifique.

Un grand merci à vous deux pour vos précieux conseils, vos soutiens, vos efforts et vos grandes qualités humaines qui m'ont permis de réaliser cette thèse dans les meilleures conditions.

Je remercie les membres du jury ; Guillaume Lobet et Anne Laperche en tant que rapporteurs et Claude Plassard en tant qu'examinatrice pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens à remercier Alain Mollier, Rebecca Stevens et Frédéric Gérard pour avoir participé à mon comité de suivi de thèse. Vos conseils et vos évaluations ont précieusement aiguillé cette thèse.

Je remercie également Hélène Gautier, directrice de l'unité Plantes et systèmes de culture Horticoles (PSH) de m'avoir accueillie. Je tiens à remercier les personnels de l'unité avec qui j'ai travaillé, particulièrement Valérie Serra, François De-Bruyne, Guillaume Garcia, Laurent Gomez, Doriane Dumont, Patricia Laugier et Sylvie Serino pour toutes les aides et l'assistance technique apportées durant la thèse, ainsi qu'à tous les personnels de l'unité PSH.

Un immense remerciement est exprimé à Nathalie Lacrampe, ma collègue doctorante, pour les moments partagés ensemble au bureau et ailleurs, pour ton encouragement, ta présence, tes conseils personnels et professionnels.

J'adresse également mes remerciements à ma meilleure amie Amel Hedhili, pour sa présence et son support moral dans mes moments de doute et de découragement.

Et je termine mes remerciements à Christophe Lecarpentier pour les échanges scientifiques fructueux, et à tous les doctorants de l'unité PSH.

Enfin, j'adresse une pensée très particulière à ma famille et mon mari qui m'ont témoigné leur soutien moral et m'ont toujours encouragé malgré la distance géographique qui nous sépare. Je leur dédie ce travail.

Résumé

La faible biodisponibilité du phosphore (P) dans les sols, son impact négatif sur l'environnement et les incertitudes concernant la durabilité des approvisionnements en engrais phosphatés ont mis en évidence la nécessité de cultiver des plantes efficaces en utilisation du P.

Ce travail vise à caractériser la variabilité génotypique des traits de fonctionnement et de croissance aérien et racinaire en réponse à la disponibilité en P chez la laitue, à étudier la variabilité génotypique de l'efficacité vis à vis du P (PUE) et d'identifier les traits associés à cette efficacité, ainsi qu'à évaluer la capacité d'un modèle d'architecture racinaire à rendre compte de la variabilité génotypique et de la disponibilité en P.

Une première expérimentation en tunnel portant sur 14 géotypes sauvages et cultivés du genre *Lactuca* a été destinée à l'étude du système racinaire et de la croissance aérienne de jeunes plantes dans des conditions limitantes et non limitantes en P. Une deuxième expérimentation s'est consacrée à l'analyse dynamique de la croissance aérienne sur un panel de 50 géotypes cultivés avec trois niveaux de P.

En conséquence des dispositifs expérimentaux mis en place, l'intensité du stress en P a été plus importante en tunnel qu'en serre, avec une diminution forte de la masse des feuilles, et une diminution variable selon les géotypes de la masse des racines. L'essai en serre a permis de confirmer la variabilité génotypique, de caractériser des différences de dynamique de croissance entre espèces sauvages et cultivées, et d'illustrer les mécanismes de dilution du P au cours de la croissance. Les traits de l'architecture racinaire ont été mesurés dans la première expérimentation, et ont montré des effets du géotype et de traitement P, en général sans interaction. La limitation en P a provoqué une réduction du diamètre maximal du pivot, une augmentation de la dominance du pivot vis-à-vis de ses racines latérales et une augmentation de la distance inter-ramification, traduisant globalement davantage une pénalisation des racines latérales au bénéfice du maintien du pivot. Cependant les racines latérales, pour un diamètre donné, se sont davantage allongées à faible P. Ces résultats illustrent une certaine spécificité de la réponse à une limitation en P chez *Lactuca*, par rapport à d'autres genres botaniques où l'on constate davantage une prolifération des racines latérales. Les traits racinaires mesurés ont également servi à paramétrer le modèle d'architecture racinaire « ArchiSimple ». Sur la base de comparaisons entre les masses simulées et prédites, le modèle a pu rendre compte d'une partie de la variabilité génotypique existante et de la disponibilité en P pour prédire la masse racinaire, cependant l'erreur de prédiction est apparue assez importante chez certains géotypes.

La PUE, définie comme la quantité de biomasse produite par unité de P appliqué, a été décomposée par le produit d'une efficacité d'acquisition (PU_PE) par une efficacité d'utilisation (PU_UE). La PU_PE est apparue comme le déterminant principal de la PUE. Le classement par ordre d'efficacité des 14 géotypes communs aux deux essais est apparu cohérent en serre et en tunnel. La PUE a été fortement déterminée par la masse du système racinaire, elle-même associée au diamètre du pivot et à sa profondeur. C'est en conséquence sur les géotypes sauvages ayant une masse de racines importantes que les efficacités les plus élevées ont été observées. Lors d'une limitation en P, l'augmentation de l'efficacité a été maximisée chez les géotypes ayant les plus augmenté la fraction racinaire dans la masse totale, et ceux qui ont maintenu un diamètre du pivot élevé, ce qui confirme l'importance de ce dernier dans l'acquisition des ressources minérales. Les différences significatives d'efficacité entre les géotypes permettent de conclure sur l'intérêt de l'utilisation de géotypes efficaces pour limiter l'usage de la ressource non renouvelable qu'est le P.

Mots clés : *Lactuca*, phosphore, efficacité d'utilisation, efficacité d'acquisition, architecture racinaire, modélisation de l'architecture racinaire.

Abstract

The low phosphorus (P) bioavailability in soils, its negative impact on the environment and concerns regarding the sustainability of phosphate fertilizer supplies have emphasized the need to cultivate plants that use P efficiently. This work aims to characterize the genotypic variability of functional, aerial and root growth traits in response to P availability in lettuce, to study the genotypic variability of P efficiency (PUE) and to identify the associated traits, as well as to evaluate the ability of a root architecture model based on a low number of parameters to consider the genotypic variability and the P availability. A first experiment conducted under plastic tunnel on 14 wild and cultivated genotypes of the *Lactuca* genus was designed to study the root system and aerial growth of young plants under P-limiting and non-limiting conditions. A second experiment under greenhouse was devoted to analyze the dynamic of aerial growth on a larger panel of 50 genotypes cultivated with three different P levels.

As a consequence of the experimental set-up, the intensity of P stress was higher in the tunnel than in the greenhouse, with a sharp reduction in leaf mass and a variable decrease in root mass depending on the genotype. The greenhouse trial confirmed the genotypic variability, characterized differences in growth dynamics between wild and cultivated species, and illustrated the mechanisms of P dilution during growth. The main traits allowing a synthetic description of root architecture were measured in the first experiment, and varied significantly depending on genotype and P treatment, generally without interaction. P deficiency reduced the maximum diameter of the pivot, increased the dominance of the pivot over its lateral roots and increased the inter-branch distance, reflecting overall a penalization of the lateral roots in favor of the maintenance of the pivot. However, the lateral roots, for a given diameter, were more elongated at low P availability. These results illustrate a certain specificity of the response to P limitation in *Lactuca*, compared to other botanical genera where a proliferation of lateral roots is observed. The root traits measured in this study were used to parameterize the root architecture model « ArchiSimple ». Based on comparisons between simulated and predicted masses, the model was able to take into account some of the existing genotypic variability and P availability in predicting root mass, however the prediction error appeared quite important in some genotypes. PUE, defined as the amount of biomass produced per unit of P applied, was decomposed by the product of an acquisition efficiency (PU_pE) by a utilization efficiency (PU_tE). PU_pE was the primary determinant of PUE, particularly when P was non-limiting. The order of efficiency of the 14 genotypes common to both trials appeared consistent in the greenhouse and in the tunnel. PUE was strongly determined by the mass of the root system, which was associated with the diameter of the pivot and its depth. As a result, the highest efficiencies were observed on wild genotypes with large root mass. Under P limitation, the increase in efficiency was maximized in genotypes that were able to increase the root fraction in the total mass (allowing an increase in PU_tE), and those that maintained a large maximum pivot diameter, which confirms its important role in the acquisition of mineral resources. The significant differences in efficiency between genotypes, consistent under the different conditions studied, allow us to conclude that it is important to use efficient genotypes to limit the use of the phosphorus as a non-renewable resource.

Keywords: *Lactuca*, phosphorus, utilization efficiency, acquisition efficiency, root architecture, root architecture modelling.

Table des matières

Introduction générale et problématique	1
I. Introduction générale	2
I.1. Rôle du phosphore chez les végétaux	2
I.2. Transfert sol-plante de P	2
I.3. Evolution des bases du raisonnement de la fertilisation phosphatée.....	4
I.4. Problématique agronomique et environnementale	6
II. Problématique et démarche	7
II.1. Généralités sur la culture de laitue.....	7
II.2. Problématique scientifique	8
II.3. Objectifs du travail.....	9
II.4. Démarche générale	9
Chapitre I : Mise au point méthodologique	12
I.1 Introduction	13
I.2. Choix des doses de P	13
I.3. Choix du substrat	16
Chapitre II: Phosphorus-utilization efficiency in <i>Lactuca</i> is associated with the genotypic ability to maximize the increase in root dry mass fraction at low P availability	18
Chapitre III: Genetic variation in root architectural traits in <i>Lactuca</i> and their roles in increasing phosphorus-use-efficiency in response to low phosphorus availability	48
Chapitre IV : Prise en compte de la variabilité génotypique et de la disponibilité en P dans la paramétrisation du modèle d'architecture racinaire « ArchiSimple »	79
IV.1 Introduction	80
IV.2. Matériel et méthodes	82
IV.2.1. Description du modèle	82
IV.2.2. Paramètres du modèle	82
IV.2.2.1. Emission des racines séminales et adventives.....	82
IV.2.2.2. Elongation	82
IV.2.2.3. Ramification.....	83
IV.2.2.4. Croissance radiale	83
IV.2.2.5. Mortalité.....	83
IV.2.3. Paramétrisation du modèle et simulations.....	84
IV.2.4. Les sorties du modèle.....	87
IV.3. Résultats :	88
IV.3.1. Evaluation de la simulation pour chaque stratégie	88
IV.3.2. Simulation des traits intégrés	93
IV.3.3. Efficience de colonisation	94
IV.4. Discussion	96

IV.4.1. Évaluation de la simulation du modèle	96
IV.4.2. Simulation des traits intégrés	97
IV.5. Conclusion	99
Chapitre V : Caractérisation de la variabilité génotypique de la croissance aérienne et de l'efficacité d'utilisation du P chez 50 géotypes du genre <i>Lactuca</i>.....	100
V.1. Introduction	101
V.2. Matériel et méthodes	102
V.2.1. Matériel végétal et semis	102
V.2.2. Semis et mise en culture des plantes	104
V.2.3. Mesures non destructives sur les plantes avant la récolte.....	106
V.2.4. Récolte des plantes et analyses minérales	106
V.2.5. Analyses statistiques.....	107
V.3. Résultats	107
V.3.1. Croissance des géotypes	107
V.3.1.1. Biomasse sèche des feuilles.....	107
V.3.1.2. Surface foliaire projetée.....	109
V.3.1.3. Masse surfacique	112
V.3.2. Effet de P sur la croissance, la teneur en P et les efficacités	113
V.3.2.1. Effet de P sur la Biomasse	113
V.3.2.2. Effet du P sur les teneurs en P dans les feuilles.....	115
V.3.2.3. Effet du P sur le contenu en P.....	116
V.3.2.4. Effet du P sur l'efficacité d'utilisation.....	120
V.4. Discussion	124
V.4.1. Caractérisation de la variabilité génétique chez les 50 géotypes.....	124
V.4.2. Effet du traitement P sur la croissance	125
V.4.3. Effet de P sur la teneur en P et sur l'efficacité d'utilisation	126
V.5. Conclusion	128
Discussion générale et perspectives.....	129
I. Discussion générale	130
II. Perspectives.....	137
II.1. Perspectives scientifiques	137
II.2. Perspectives agronomiques.....	139
Références bibliographiques.....	141
Annexes	159

Liste des figures

Introduction générale et problématique

Figure 1 : Représentation schématique des processus de contrôle de la disponibilité en P dans la rhizosphère. 3

Figure 2 : Répartition de la production européenne de laitue en 2019/2020. 7

Chapitre I

Figure 1 : Effet de P sur la masse sèche des feuilles en cours du temps. 14

Figure 2 : Effet de P sur la surface foliaire projetée au sol. 15

Figure 3 : Effet de P sur la photosynthèse mesurée à la récolte. 16

Figure 4 : Effet du substrat sur la masse sèche des feuilles et des racines. 17

Chapitre IV

Figure 1 : Relation entre le diamètre et la longueur des racines fines. 87

Figure 2 : Relation entre masse racinaire simulée et observée à chaque stratégie de simulation. 89

Figure 3 : Résidu du modèle à chaque stratégie de simulation. 91

Figure 4 : Valeurs moyennes des traits simulés chez 14 génotypes de laitue cultivés dans des conditions limitantes et non limitantes en P. 94

Figure 5 : Relation entre volume colonisé et biomasse racinaire simulée. 95

Figure 6 : Efficacité de colonisation dans des voxels de 6 mm (A) et de 24 mm (B). 95

Chapitre V

Figure 1 : Masse sèche moyenne produite par génotype. 108

Figure 2 : Comparaison des indices de récolte chez les 14 génotypes sous serre et sous tunnel. 109

Figure 3 : Evolution de la surface projetée en dynamique chez les 50 génotypes. 110

Figure 4 : Surface foliaire projetée au début de croissance et à la récolte chez les 50 génotypes. 111

Figure 5 : Evolution du taux d'accroissement de la surface foliaire projetée chez les 50 génotypes (a) et en moyenne par type variétal (b). 112

Figure 6 : Rapport masse / surface projetée (masse surfacique) chez les 50 génotypes. 113

Figure 7 : Effet de P sur la masse sèche des feuilles produite chez les 50 génotypes. 114

Figure 8 : Relation entre teneur en P et biomasse des feuilles en serre et en tunnel. 116

Figure 9 : Relation entre contenu en P et biomasse des feuilles en serre et en tunnel. 117

Figure 10 : Effet du traitement P sur la biomasse des feuilles. 118

Figure 11 : Rapport de masse sèche des feuilles en P3/P1 en fonction du potentiel de masse en P3. 119

Figure 12 : Relation entre le rapport de biomasse en P3/P1 et la biomasse en P3. 120

Figure 13 : Efficacité d'utilisation de P (PUtE) chez les 50 génotypes. 121

Figure 14 : Relation entre PUtE en P1 et P3. 122

Figure 15 : Comparaison de PUtE en tunnel et en serre chez les 14 génotypes communs en faible P (a) et en P disponible (b). 123

Liste des tableaux

Chapitre IV

Tableau 1 : Les paramètres d'entrée du modèle ArchiSimple 85

Tableau 2 : Coefficient de corrélation entre la biomasse simulée et celle observée et les RMSE pour chaque situation de simulation. 88

Tableau 3 : Variation relative de la masse racinaire simulée en S4 en variant +/-20% la valeur de trait. 92

Chapitre V

Tableau 1 : Liste des géotypes utilisés..... 103

Discussion générale et perspectives

Tableau 1 : Classement des 14 géotypes communs dans chaque essai et à chaque niveau de P 134

Introduction générale et problématique

I. Introduction générale

I.1. Rôle du phosphore chez les végétaux

Le phosphore (P) est l'un des éléments nutritifs essentiels à la croissance et au développement des plantes. Les teneurs en P mesurées dans les tissus varient usuellement selon Gallet *et al.* (2003) entre 2 g.kg⁻¹ de matière sèche et 7 g.kg⁻¹ de matière sèche (MS) en fonction des espèces et des organes, et elles peuvent atteindre 15 g.kg⁻¹ MS dans les tissus végétaux très fertilisés (Broadley *et al.*, 2004). Le P entre dans la composition structurale des acides nucléiques ARN et ADN. Le P est utilisé dans de très nombreuses réactions métaboliques, il est mobilisé dans les nucléotides (ATP en particulier) qui fournissent l'énergie aux réactions chimiques et est intégré aux molécules pour servir d'intermédiaire phosphorylés. Il est également l'un des composés de phospholipides qui contribuent à la stabilité des membranes cellulaires, et joue un rôle dans les cascades signalétiques ainsi que la modification des protéines (Hammond and White, 2007; Yang *et al.*, 2017). Chez les végétaux supérieurs, et afin d'assurer l'homéostasie cellulaire en cas de variations de disponibilité, le P est stocké sous forme inorganique dans les vacuoles (Yang *et al.*, 2017), à des concentrations de quelques millimolaires.

I.2. Transfert sol-plante de P

Dans le sol, la teneur totale en P varie entre 100 et 3000 mg P kg⁻¹ en fonction des types de sol (Mollier *et al.*, 2019). Il se trouve à 99% sous forme de phosphate, soit sous forme de phosphates inorganiques (Pi), soit sous forme organique. Le P minéral du sol est la forme assimilable par les plantes. Les plantes ne peuvent en effet prélever leur P que dans la solution du sol sous la forme d'anions orthophosphates monovalents (H₂PO₄⁻) et divalents (HPO₄²⁻), soit directement par voie racinaire, soit par l'intermédiaire des champignons mycorhiziens (Rausch and Bucher, 2002; Akhtar *et al.*, 2008).

La biodisponibilité du P, définie comme la quantité de P susceptible d'être prélevée par la plante, est gouvernée par plusieurs processus physico-chimique et biochimiques dans la rhizosphère. Ces processus sont représentés dans la figure 1. Les ions orthophosphates ont une forte densité de charges négatives et peuvent être adsorbés à la surface des argiles et de la matière organique (Hinsinger *et al.*, 2007). Les phosphates précipitent également facilement sous forme de phosphates de fer, d'aluminium ou de calcium. La précipitation de Pi est observée lorsque la concentration en Pi et en cations est élevée, ce qui conduit à une diminution de la concentration en Pi et la formation de composés complexes non assimilables par la plante.

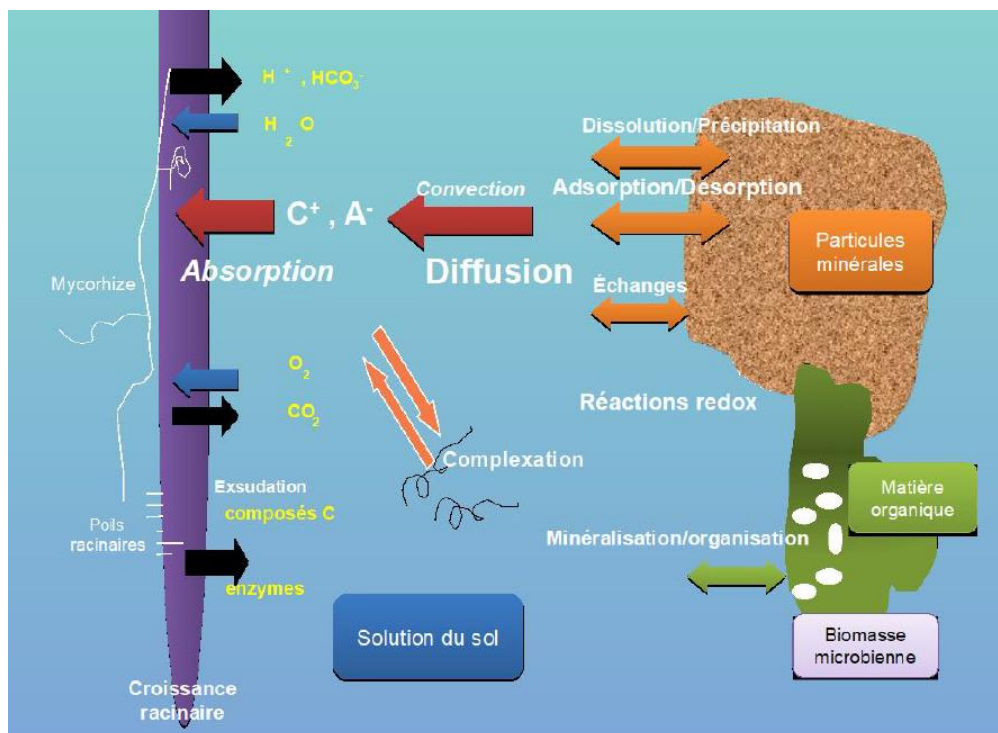


Figure 1 : Représentation schématique des processus de contrôle de la disponibilité en P dans la rhizosphère. (Reproduit avec l'aimable autorisation de Alain Mollier (Mollier *et al.*, 2019)).

À l'inverse, la dissolution de ces composés entraîne une libération de Pi en solution qui est observée quand la concentration de l'agent chimique responsable de la solubilisation augmente (Frossard *et al.*, 2004). D'autres processus, tels que l'immobilisation (prélèvement par les plantes et les microorganismes) et la minéralisation (dégradation des résidus), peuvent contribuer à la modification et la distribution des ions phosphate entre la phase liquide et solide (Morel *et al.*, 2011).

La concentration en Pi dans la solution des sols agricoles se situe entre 0.01 et 0.1mM (Frossard *et al.*, 2004). Le flux d'absorption racinaire de Pi entraîne une diminution de la concentration en Pi au voisinage des racines et la concentration devient plus faible que celle de la solution du sol. Cela conduit à l'établissement d'un gradient de concentration induisant un flux de diffusion et une désorption depuis la phase solide du sol (Hinsinger, 2001). Le Pi migre très lentement, de 10^{-12} à $10^{-15} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Schachtman *et al.*, 1998) en raison de son faible coefficient de diffusion dans l'eau et de son adsorption par les constituants du sol. L'apport de Pi lié au flux de masse d'eau (convection) est faible, environ 2,5% des besoins de la plante. Ainsi, c'est le flux diffusif de Pi qui assure l'essentiel des besoins de la plante.

Du fait d'une concentration en Pi dans la rhizosphère très inférieure à la concentration dans les plantes, l'acquisition de P est un processus actif, qui demande de l'énergie. Les plantes prélèvent le Pi par l'intermédiaire de protéines de type H⁺-ATPase qui permettent le cotransport

de H^+ et de Pi du milieu extracellulaire vers l'intérieur de la cellule. Il existe quatre types de transporteurs de Pi : Pht1, Pht2, Pht3 et pht4 (Guo *et al.*, 2013). Les transporteurs Pht1 et Pht2 jouent probablement un rôle dans le passage de Pi dans le xylème au niveau racinaire, puis son transfert du xylème vers les cellules de la partie aérienne (Frossard *et al.*, 2004). La famille des transporteurs Pht3 assure le transfert du Pi entre le cytoplasme et la mitochondrie. La famille des transporteurs Pht4 sont plutôt localisés dans l'appareil de Golgi et contrôlent la disponibilité en P cytosolique (Rausch and Bucher, 2002).

Dans des conditions limitantes en P, les plantes sont capables de développer une gamme variée de stratégies pour améliorer l'acquisition et l'utilisation du P. Les processus qui préservent l'utilisation du P impliquent la remobilisation du Pi interne et la modification du métabolisme du carbone. Les processus qui conduisent à une meilleure absorption du P sont principalement, une sécrétion accrue de phosphatases et d'acides organiques pour solubiliser le P dans la rhizosphère, une modification de l'architecture racinaire et une expression accrue des transporteurs de Pi (Schachtman *et al.*, 1998; Vance *et al.*, 2003; Heuer *et al.*, 2017).

I.3. Evolution des bases du raisonnement de la fertilisation phosphatée

À l'échelle globale, 30-40% des terres arables sont considérées limitées par la disponibilité en P (Kvakić *et al.*, 2018). Les exportations de P par les cultures à la récolte contribuent à une diminution des réserves du sol. Des apports de fertilisants phosphatés sont souvent réalisés pour subvenir aux besoins des plantes. Ces engrais sont fabriqués à partir de dépôts sédimentaires phosphatés dans des minerais, représentant à peu près 80 à 90 % de la production totale. Les réserves minières mondiales de P se trouvent majoritairement au Maroc (85%), suivi par la Chine (6%) et l'Amérique du nord (3%) (MacDonald *et al.*, 2011).

La production agricole est actuellement confrontée à des problèmes de productivité, de rentabilité et de protection de l'environnement. En effet, face à une augmentation de la population mondiale, des préoccupations liées aux aléas climatiques et la raréfaction de certaines ressources, l'agriculture relève le défi de maintenir voire d'augmenter la production mondiale pour satisfaire les besoins et assurer la sécurité alimentaire (Cordell *et al.*, 2009).

D'un point de vue environnemental, l'augmentation du transfert de P vers les écosystèmes non cultivés augmente le risque d'eutrophisation et impacte la biodiversité dans les écosystèmes terrestres et aquatiques (Sattari *et al.*, 2016). D'un point de vue socio-économique, il existe une incertitude sur les ressources en P exploitables, avec un risque d'épuisement de ces ressources. Face à la croissance de la population mondiale, cette tendance devrait se poursuivre voire s'accroître et les prix des engrais devraient augmenter (MacDonald *et al.*, 2011).

La prise de conscience de ces problèmes est à l'origine de plusieurs recherches scientifiques menées afin de mieux gérer la fertilisation phosphatée et de limiter des conséquences graves sur l'environnement (Vance *et al.*, 2003; Cordell *et al.*, 2009). Depuis plusieurs années, la gestion de la fertilisation en P s'est basée sur des indicateurs de biodisponibilité en P dans le sol. Des courbes de réponses mettant en relation l'indice de rendement et l'indicateur de biodisponibilité ont été établies pour définir des seuils (Smethurst, 2000). En France, jusqu'à 1990, le raisonnement de la fertilisation s'est basé sur la notion de fumure d'entretien et de correction. L'objectif était d'enrichir le sol à des teneurs élevées jugées non limitante pour le rendement de toutes les cultures pratiquées puis le maintenir en compensant les exportations des cultures. À partir de 1990, le raisonnement de la fertilisation a changé pour prendre compte des exigences des espèces en P (COMIFER, 1995). L'adaptation de la quantité de fumure est davantage raisonnée en fonction de la culture immédiatement à venir. En se basant sur les analyses de terre, deux seuils sont utilisés par type de sol et classe d'exigence de la culture : Un seuil d'impasse au-dessous duquel l'absence d'apport en P induit une perte de rendement et un seuil renforcé, au-dessous duquel l'apport d'une dose égale à la quantité exportée par la culture ne suffit pas (COMIFER, 1995; Mollier *et al.*, 2019). D'après Senthilkumar *et al.* (2012), ce raisonnement a réduit l'excédent de bilan de P dans les sols agricoles en France de 14 kg P ha⁻¹ en 1990 à 4 kg P ha⁻¹ en 2006.

Cependant, plusieurs études ont montré que les extractions chimiques de la terre fournissent une indication approximative de la biodisponibilité en P (Wuenschel *et al.*, 2015). Deux méthodes sont souvent utilisées pour évaluer le P disponible : les méthodes d'extractions chimiques (NaHCO₃, CaCl₂, NaOH, HCl, H₂SO₄), qui sont les plus utilisées en analyse de routine et les méthodes isotopiques en utilisant le ³²P. En France, c'est la méthode Olsen (Olsen *et al.*, 1954), utilisant du NaHCO₃ pour l'extraction qui est la plus utilisée. Les limites des extractions chimiques résident dans le fait qu'elles ne rendent pas totalement compte des différentes caractéristiques physico-chimiques (pH, teneur en carbonate et en oxyde de fer) qui influencent les transferts de P entre la phase solide et la phase liquide (Wuenschel *et al.*, 2015).

Dans le contexte de l'agriculture des années passées où le coût des engrais était faible par rapport au prix des produits agricoles, cette difficulté a été contournée en fixant des seuils haut de sécurité par prudence pour éviter les pertes du rendement (Pellerin and Nesme, 2012). Cette stratégie a conduit à la sur-fertilisation des sols agricoles. Selon Rubæk *et al.* (2013), on observe fréquemment des situations de non réponse à la fertilisation en P chez plusieurs cultures. Mais l'accumulation de P dans les sols agricoles est de moins en moins acceptable pour des raisons économiques mais surtout environnementales.

I.4. Problématique agronomique et environnementale

En France, la limite de ces approches reste le faible nombre des références expérimentales pour valider les seuils et la classification des cultures selon leur exigence. Ainsi le paramétrage des outils d'aide à la décision disponibles reste beaucoup lié à la partie Nord du pays et pour la culture du blé et du maïs (Pellerin and Nesme, 2012). Faute d'essais dédiés chez certaines espèces, en particulier en France les espèces légumières, les seuils et les facteurs de calcul de dose sont définis de façon sécuritaire, favorisant ainsi l'accumulation de P dans les sols (Senthilkumar *et al.*, 2012).

D'autres travaux soulignent l'enjeu de l'amélioration végétale afin d'augmenter l'efficacité d'absorption et d'assimilation de P par la plante. Ces caractères sont actuellement peu pris en compte en sélection. Les caractéristiques des plantes augmentant l'exploration du sol et l'acquisition des nutriments ont été identifiés, tels que les traits de l'architecture racinaire, la capacité de mycorhization, la production d'exsudats racinaires (Lynch, 2007; Ramaekers *et al.*, 2010; van de Wiel *et al.*, 2016; Heuer *et al.*, 2017).

Cette thématique fait partie des travaux de recherche menés au sein de l'unité Plantes et Systèmes de culture Horticoles (PSH) à INRAE Avignon. Un des axes de recherche de l'unité consiste à développer des systèmes de culture innovants économes en intrants. Le projet REVEIL, a pour but d'élaborer un outil d'aide à la décision pour piloter la fertilisation en P et en potassium (K) chez la tomate et la laitue, deux cultures stratégiques de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA). Le second objectif du projet est de caractériser la variabilité génétique de l'efficacité d'utilisation du P et du K dans une gamme de variétés de tomate et laitue afin d'identifier des variétés économes en ces deux éléments. C'est dans ce cadre que s'inscrit ma thèse visant à caractériser la variabilité génétique de la réponse au P et à son efficacité chez la laitue.

Ce travail de thèse a bénéficié de l'aide financière du projet REVEIL financé par les Fonds Européen Agricole pour le Développement Rural (FEADER), de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), du Groupement d'Intérêt Scientifique pour la Production Intégrée en Cultures légumières GIS PIClég et du Gouvernement Tunisien (bourse de thèse). Nous avons aussi été aidés par l'unité de recherche en Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (GAFL) de l'INRAE Avignon et des compagnies semencières qui nous ont fourni les graines des génotypes.

II. Problématique et démarche

II.1. Généralités sur la culture de laitue

La laitue (*Lactuca sativa* L.) est une plante dicotylédone annuelle appartenant à la famille des Astéracées. Plusieurs cultigrupes ont été définis selon la forme de la pomme, de la forme et de la texture des feuilles (Batavia, Beurre, Feuille de chêne, Lollo, Romaine, Sucrine).

La culture de laitue est adaptée aux climats méditerranéens, avec des températures optimales de croissance oscillant entre 7 et 24 °C. C'est une plante annuelle de jours longs à cycle court. La croissance végétative est optimale quand les jours sont longs, mais elle s'adapte aussi au faible éclaircissement, selon les variétés. La laitue est donc cultivée sur toute l'année.

La laitue est un légume très populaire dans le monde, avec une production mondiale d'environ 29 MT (FAO, 2019). Les principaux bassins de productions sont : l'Asie (68%), les Etats-Unis, notamment la Californie (18.7%) et l'Europe (11%), principalement l'Espagne, l'Italie, l'Allemagne et la France (Fig.2).

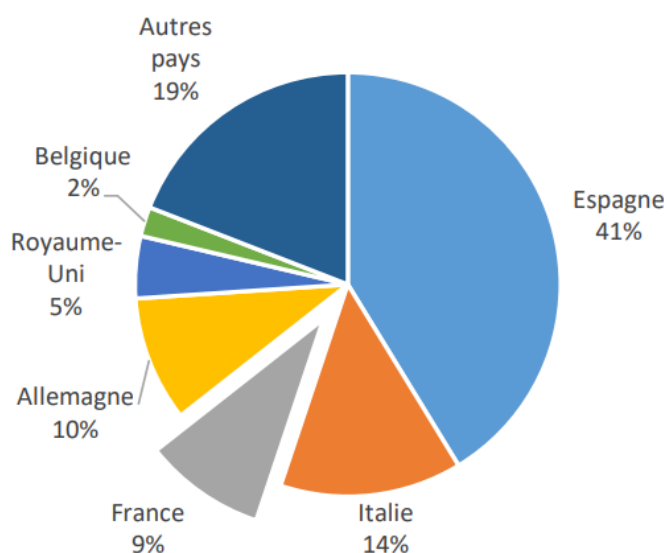


Figure 2 : Répartition de la production européenne de laitue en 2019/2020.

(Source : Agreste, 2020).

La France est un importateur net de laitue (37500 T importées entre Mai et Novembre 2020), et la production de laitue ne cesse de diminuer d'une année à une autre, avec par exemple une augmentation nette de l'importation (+ 6 %) et une baisse de l'exportation (-6%) en 2019 comparé à 2018 (Agreste, 2019).

En France, la laitue est cultivée sous différents modes de production : soit en plein champ de février à octobre, soit en sous abri d'octobre à avril (Lecompte *et al.*, 2019) avec une superficie totale de production de l'ordre de 7850 ha (Agreste, 2021). Pour la campagne

2020/2021, la production atteindrait 505,4 millions de têtes, soit un recul de 3 % par rapport à la production 2019-2020 (Agreste, 2021). Le sud-est de la France est le premier bassin producteur de laitue (51% de la production totale nationale), avec une prédominance nette de type laitue batavia (38% de la surface) (Agreste, 2019).

La laitue est cultivée généralement dans des conditions de monoculture ou dans le cadre de rotations avec des Cucurbitacées et des Solanacées (Barrière *et al.*, 2014). Les apports des fertilisants sont essentiels pour subvenir aux besoins des plantes (Hoque *et al.*, 2010). De point de vue économique, le coût des engrais est considéré faible dans l'ensemble des charges de production, ainsi que par rapport à la valeur de celle-ci (Saleh *et al.*, 2010).

II.2. Problématique scientifique

Chez la laitue, les variétés actuelles à potentiel de rendement élevé sont exigeantes en engrais et sensibles à la variation des conditions de culture. Cette sensibilité suggère que ces variétés sont sélectionnées dans des conditions optimales qui ne favorisent pas l'expression et par conséquent la sélection des traits spécifiques contribuant à l'efficacité des engrais, notamment le P (Kerbiriou, 2014). Chez d'autres espèces, l'impact des traits de l'architecture racinaire sur les performances des plantes ont reçu beaucoup d'attention ces dernières années (Gahoonia and Nielsen, 2004; Mori *et al.*, 2016; Campos *et al.*, 2018). L'intégration de ces traits dans une stratégie de sélection est de plus en plus étudiée pour fournir des variétés capables d'acquiescer plus de P et de produire des rendements stables sous différentes conditions environnementales (Da Silveira *et al.*, 2014; Gemenet *et al.*, 2015; Vejchasarn *et al.*, 2016).

De point de vue agronomique, on définit deux paramètres pour évaluer l'efficacité d'utilisation du P (PUE) qui représente la masse produite par unité de P apporté ($\text{g MS} / \text{g P}$ apporté): l'efficacité d'utilisation (PUtE) qui représente la quantité de matière sèche totale produite par plante par unité de masse de P prélevé (en $\text{g MS} / \text{g P}$ dans la plante), et l'efficacité d'acquisition du P (PUaE) qui exprime l'aptitude d'une plante à prélever son P qui est exprimée en $\text{g P prélevé} / \text{g P apporté}$ (Parentoni and De Souza Júnior, 2008). Il a été suggéré que ces deux composantes de la PUE ont une influence variable en fonction des conditions étudiées (Wang *et al.*, 2010).

Les facteurs influençant l'efficacité d'acquisition, liés à la plante, sont surtout liés au système racinaire tels que la densité et la longueur des racines, la colonisation par des mycorhizes (Jia *et al.*, 2004) et les exsudations racinaires acidifiant le sol (Manske *et al.*, 2001).

Chez la laitue, plusieurs travaux ont été menés pour étudier l'effet de P sur le rendement et la qualité à la récolte (Nagata *et al.*, 1992; Neocleous and Savvas, 2019). D'autres travaux se sont intéressés à étudier la variabilité génétique des efficacités en P, mais moins d'informations

semblent disponibles sur le rôle du système racinaire dans l'acquisition de P comme il a été montré chez beaucoup d'espèces. Mes travaux de recherche s'inscrivent dans cette problématique d'amélioration de la PUE chez la laitue.

II.3. Objectifs du travail

Cette thèse vise à caractériser la variabilité génétique de l'efficacité d'utilisation de P et de ses composantes en réponse à une faible disponibilité en P dans le genre *Lactuca*, en analysant les traits racinaires et des caractères morphologiques et fonctionnels de croissance. Cette recherche a donc plusieurs objectifs :

- Caractériser la réponse aérienne et racinaire à la disponibilité en P, et évaluer la variabilité génétique existante.
- Etudier la variabilité génotypique de l'efficacité vis-à-vis du P, et identifier les traits associés à cette efficacité.
- Évaluer la capacité d'un modèle d'architecture racinaire simple à rendre compte de la variabilité génotypique et de la disponibilité en P.

Les questions scientifiques sous-jacentes à ces objectifs sont les suivantes :

- Quels sont les effets de P sur la croissance aérienne des plantes de laitue, et quelles sont les stratégies adaptées par le système racinaire en réponse à une faible disponibilité en P ? Peut-on observer une diversité génétique des réponses au sein du genre *Lactuca*, et des interactions génotype x environnement ?
- Quelle est l'importance de la variabilité génétique de la PUE chez la laitue ? Quel est l'impact respectif des conditions du milieu et du génotype sur l'efficacité en P ?
- Peut-on identifier les traits racinaires qui favorisent l'efficacité d'acquisition du P ? Peut-on utiliser un modèle pour représenter la diversité génotypique des architectures racinaires et l'effet de la disponibilité en P ?

II.4. Démarche générale

La première étape consiste à disposer d'une méthodologie expérimentale permettant d'observer le développement des systèmes aériens et racinaires à des niveaux en P contrastés. Une première question consiste à déterminer les concentrations en P à utiliser, une seconde question est le choix du substrat à adopter pour faire les expérimentations. Pour cela, des essais préliminaires ont été menés pour identifier des solutions nutritives adéquates et un substrat facilitant l'excavation des plantes sans endommager le système racinaire.

Une fois la méthodologie mise au point, un premier essai a eu pour objectif de caractériser la variabilité génotypique de l'architecture racinaire et de sa plasticité en réponse à une faible disponibilité en P, ainsi que leur rôle dans les efficacités en P. Pour cela, 14 géotypes rassemblant des espèces sauvages de *Lactuca* et des variétés modernes et anciennes de laitue cultivée ont été observés dans un dispositif expérimental spécifique pour pouvoir étudier le système racinaire dans des conditions limitantes et non limitantes en P. Le nombre de variétés choisi est un compromis trouvé entre la volonté d'explorer une large diversité génétique et l'adaptation aux impératifs expérimentaux, en particulier d'accéder dans une période de temps limitée aux descripteurs de l'architecture racinaire.

Les traits racinaires à observer pour décrire de manière synthétique l'architecture et les capacités d'exploitation des ressources du milieu ont fait l'objet de nombreux travaux dans le laboratoire d'accueil (Pagès, 2011, 2014; Pagès and Kervella, 2018).

La modélisation est un outil complémentaire de l'approche expérimentale, permettant d'accéder par le calcul à des estimations de ces capacités d'exploitation, reposant sur l'intégration à la plante entière d'observations recueillies par échantillonnage. Dans le cadre de ce travail, un modèle adapté au type de données expérimentales acquises est mobilisé. Afin de dépasser les limitations expérimentales inhérentes à l'exploration des systèmes racinaires, il est apparu intéressant d'étendre la quantification de l'efficacité vis-à-vis du P à un panel plus large de géotypes et, sur des plantes plus âgées. Un deuxième essai, étendant le nombre de géotypes à 50, mais limité à du phénotypage aérien, a été mis en place. Des mesures de cinétiques de croissance ont permis d'étendre la gamme des variables de structure et de fonctionnement des plantes étudiées dans ce travail. L'utilisation de 14 géotypes communs dans les deux essais de phénotypage permettra de comparer le comportement en termes de croissance et d'efficacité en P dans chaque condition.

La thèse est structurée en cinq chapitres. La mise au point méthodologique est présentée de manière sommaire dans le premier chapitre.

Le chapitre II consiste à étudier la variabilité génotypique des traits morphologiques et fonctionnels et de l'efficacité d'utilisation du P (PUE) et de ses composants chez 14 géotypes du genre *Lactuca* en réponse à une faible disponibilité en P.

Le chapitre III porte sur la variabilité génotypique des traits de l'architecture racinaire et de leur plasticité en réponse à un faible niveau de P chez les 14 géotypes du genre *Lactuca*, ainsi que leur contribution dans la PUE et de ses composants.

Le chapitre IV est consacré à la partie modélisation. Il s'agit de paramétrer le modèle choisi sur laitue en tenant compte de la variabilité génotypique et du traitement P pour simuler des traits intégrés.

Enfin, le chapitre V présente le second essai et la variabilité génotypique des variables de croissance et des efficacités de P chez 50 génotypes. Ce chapitre reprend certains résultats du premier essai afin d'estimer la robustesse des résultats dans les deux essais chez les 14 génotypes communs.

Chapitre I : Mise au point méthodologique

I.1 Introduction

Un premier travail a consisté à réaliser des essais préliminaires pour choisir les niveaux de fertilisation phosphorique et le substrat à utiliser pour mener les expérimentations. 5 niveaux contrastés de P ont été utilisés, afin de voir les conséquences sur la croissance d'une variété de laitue d'été qui s'adapte aux conditions de culture. L'objectif était de retenir 2 (pour le premier essai) ou 3 (pour le second essai) niveaux d'alimentation en P permettant d'obtenir des croissances contrastées.

En se basant sur la littérature et sur les essais déjà effectués par Lecompte (2002) (non publiés), les cinq concentrations de P ont été fixées à 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 et 1 mmol/L⁻¹ de P (sous forme de KH₂PO₄).

Nous avons mis en place cet essai à la fin de mois d'Avril 2018 en tunnel plastique. Les semis ont été faits le 23/04/2018, sur des cubes de laines de roches dans une enceinte climatique à 20°C. Ensuite, les plants ont été transplantés le 04/05/2018, soit dans des pots pour étudier l'effet du P sur la croissance aérienne, soit dans des tubes pour examiner l'effet du substrat sur le développement du système racinaire. L'essai a été mené sur un substrat inerte qui ne contient pas de P. Deux substrats différents ont été testés, un mélange 1 :1 v/v de pouzzolane et vermiculite, et un mélange 1 :1 v/v de sable siliceux et vermiculite. Les plantes après la levée ont été arrosées par une solution à faible concentration en P (0.1 mM) pendant environ une semaine, puis la nutrition différenciée avec les 5 niveaux de concentrations en P a été mise en place le 14/05/2018, pendant 3 semaines supplémentaires. L'excavation des plantes a été réalisée à 3 dates différentes (le 23/05/2018, 29/05/2018 et 06/06/2021) pour déterminer les effets de P sur la photosynthèse, l'évolution de la surface foliaire projetée au sol et la biomasse fraîche et sèche des feuilles.

I.2. Choix des doses de P

Le traitement P a eu un effet significatif sur la masse sèche des feuilles produite à chaque date de prélèvement. Des différences de croissance significatives ont été observées dès la première date de prélèvement et l'intensité de la réduction de croissance à faible P s'est accentuée en cours du temps. À la dernière date de prélèvement, un effet significatif du traitement P a été observé avec une augmentation de masse sèche d'un facteur supérieure à 10 entre 0,05 et 0,3 mM de P apporté. Les masses à 0,3 mM et 1 mM d'apport ne sont pas apparues différentes.

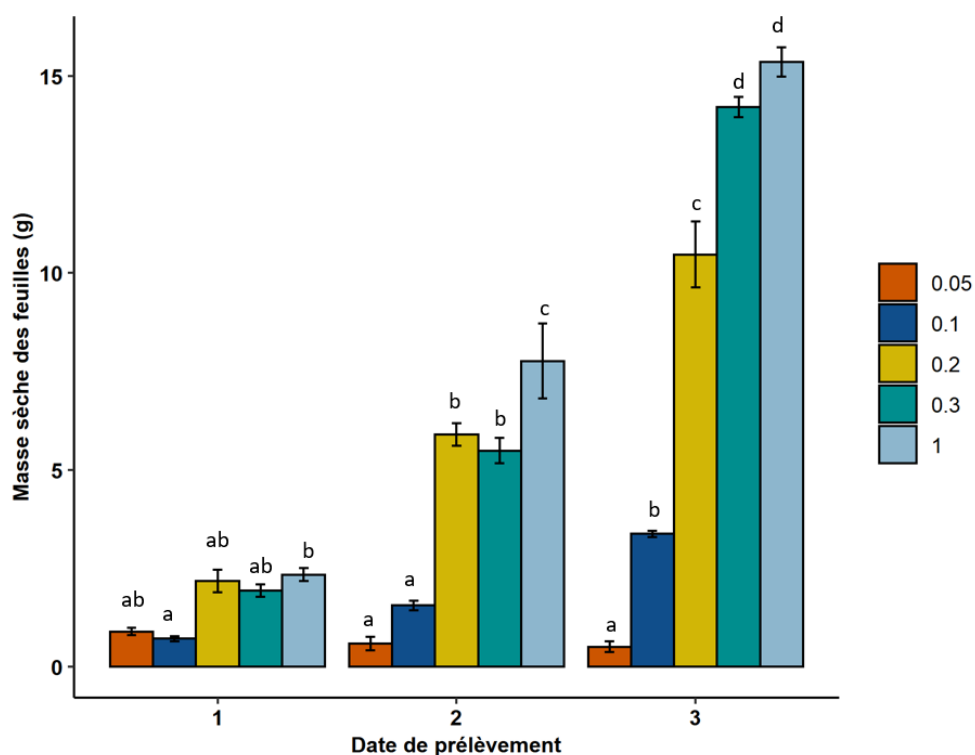


Figure 1 : Effet de P sur la masse sèche des feuilles en cours du temps.

Les barres représentent les moyennes (+/- écart type) calculées à partir de 3 répétitions biologiques à chaque niveau de P. Les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les traitements selon le test de Tukey ($p < 0,05$).

En complément des mesures de masse, des mesures de surface foliaire projetée au sol ont été réalisées (Fig. 2). Les différences de surface projetée des feuilles ont été similaires à celles des masses.

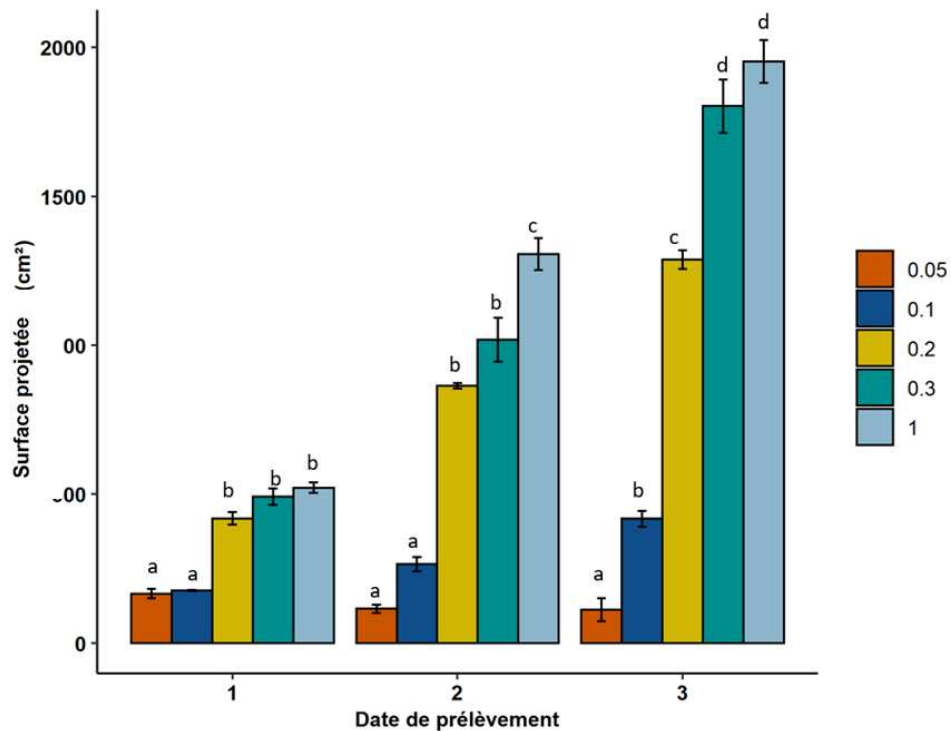


Figure 2 : Effet de P sur la surface foliaire projetée au sol.

Les barres représentent les moyennes (+/- écart type) calculées à partir de 3 répétitions biologiques à chaque niveau de P. Les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les traitements selon le test de Tukey ($p < 0,05$).

L'effet du traitement P sur la photosynthèse n'est apparu significatif qu'à la troisième date de mesure (Fig. 3). Une réduction significative de la photosynthèse n'a été observée qu'entre les niveaux extrêmes de P, P1 (0.05 mM) et P5 (1 mM).

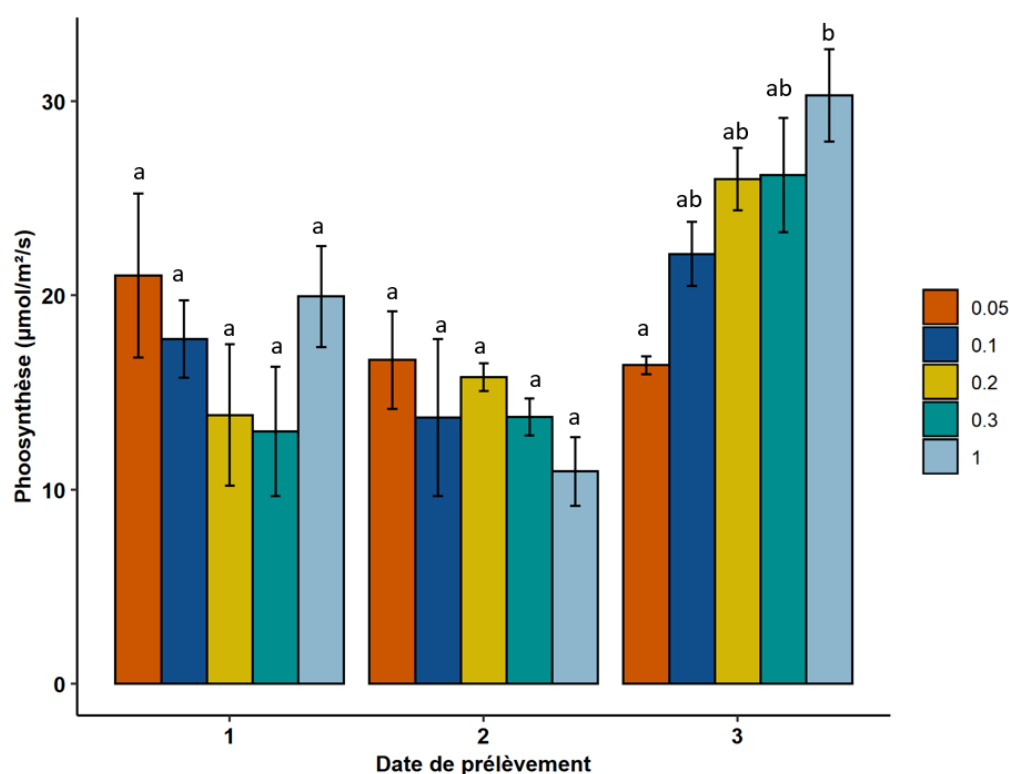


Figure 3 : Effet de P sur la photosynthèse mesurée à la récolte.

Les barres représentent les moyennes (+/- écart type) calculées à partir de 3 répétitions biologiques à chaque niveau de P. Les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les traitements selon le test de Tukey ($p < 0,05$).

Ces résultats préliminaires ont confirmé que les concentrations de P testées ont eu un effet sur la croissance aérienne des plantes. Les trois doses 0.1 mM, 0.2 mM et 1 mM ont été choisies pour mener les expérimentations.

I.3. Choix du substrat

Le choix du substrat est pertinent pour permettre d'étudier le système racinaire et réduire les pertes des racines au moment de l'excavation des plantes. Les observations de la masse sèche des feuilles et des racines des plantes ont montré que le substrat n'avait pas d'impact sur la masse des feuilles, cependant il avait un effet significatif sur la masse racinaire, en particulier le mélange pouzzolane et vermiculite (Fig. 4). En effet, ce mélange a une texture grosse et poreuse qui pourrait avoir un effet mécanique sur la croissance des racines et permettre l'introduction des racines dans les particules, ce qui risque d'abimer le système racinaire au moment de l'excavation des plantes.

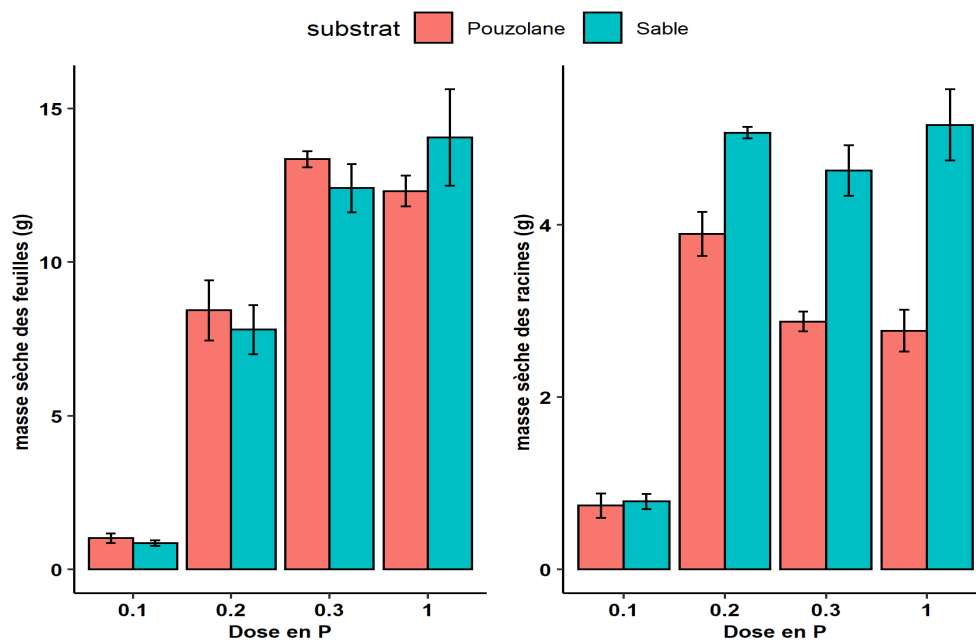


Figure 4 : Effet du substrat sur la masse sèche des feuilles et des racines.

Le mélange sable et vermiculite semble être le milieu idéal pour étudier le système racinaire. Ce milieu fin et drainant permet de faciliter l'excavation des plantes et d'extraire le système racinaire sans l'endommager.

Chapter II: Phosphorus-utilization efficiency in *Lactuca* is associated with the genotypic ability to maximize the increase in root dry mass fraction at low P availability

Article 1: Phosphorus-utilization efficiency in *Lactuca* is associated with the genotypic ability to maximize the increase in root dry mass fraction at low P availability.

[Submitted in Journal of Soil Science and Plant Nutrition]

Amira BEROUEG*, Loïc PAGES, François LECOMPTE

PSH unit, INRAE, F-84914 Avignon, France

amira.beroueg@inrae.fr ; loic.pages@inrae.fr ; francois.lecompte.2@inrae.fr

*Corresponding author :

Amira BEROUEG

E-mail address: amira.beroueg@inrae.fr

Tel: +33 4 32 72 26 74

Abstract

We assessed the genotypic variability of phosphorus (P) use efficiency and its components in *Lactuca* to identify the morphological and functional traits associated with this variability. Fourteen *Lactuca* genotypes including wild species, old and commercial lettuce cultivars were examined at low (LP, 0.1 mmol. L⁻¹) or high (HP, 1 mmol. L⁻¹) P availability. Photosynthesis, leaf surface, root and shoot masses, P contents, as well as uptake, utilization and use efficiencies were recorded.

A significant effect of P, genotype (G) and their interactions was observed on nearly all traits. Leaf area, shoot dry mass, and P concentrations were always reduced at low P availability, while root dry mass fraction (Rdmf), PUpE, PUE and PUE increased. Large genotypic variability of PUpE was observed and mainly associated with root dry mass. Two non-commercial genotypes showed very high root biomasses at both P availabilities. PUE was mostly determined by PUpE but was more dependent on PUE in LP than in HP. We observed that PUE in low P was tightly linked to the ability of genotypes to increase their root dry mass fraction in response to low P. This explanation of the genotypic variability of PUE seems novel and could be explored in other species.

Keywords

Lactuca, phosphorus uptake efficiency, phosphorus-utilization efficiency, root dry mass fraction.

1. Introduction

Lettuce (*Lactuca sativa* L.), is a popular vegetable, grown worldwide with a total production of 27.2 million tons in 2018 (FAO stat, 2018). Lettuce leaves are mainly consumed as a raw fresh product, in salads. Yield and leaf quality play a central role in this commercialization, and large amounts of chemical fertilizers and phytochemicals are applied to maximize farmer incomes and fit with market visual standards (Barrière *et al.*, 2014; Hoque *et al.*, 2010; Kerbiriou *et al.*, 2016). As for other vegetable crops, complying with this maximization of production per surface unit and high aesthetic requirements lead to worrying negative effects on the environment, such as groundwater pollution, eutrophication, acidification, GHG emissions, biodiversity losses, and for some fertilizers such as P, the overmining of finite reserves (Carpenter *et al.*, 1998; Golroudbary *et al.*, 2019; Sattari *et al.*, 2016).

A cautious use of nutrients for lettuce growth will be required in the future. Beyond developing strategies that ensure nutrient supplies match plant requirements, one approach is to increase nutrient-use efficiency (NUE). Phosphorus in particular is a crucial macronutrient required for plant growth and considered to be often applied with low efficiency, typically 10–25 % of the amount supplied (Syers *et al.*, 2008). Phosphorus concentration ranges from 0.05% to 0.5% in plant tissues (Vance *et al.*, 2003). Phosphorus is an important component of nucleic acids, nucleotides, membrane phospholipids and is also present in the cell in the form of free inorganic Pi (Veneklaas *et al.*, 2012). Phosphorus is known to control key enzyme reactions and, as a component of energetic cofactors, to be part of all major metabolic processes in the plant (Schachtman *et al.*, 1998; Yong-fu *et al.*, 2006). Despite its importance for plants, P is scarcely available in the soil solution because it readily forms insoluble compounds with cations, particularly aluminum, iron, and calcium, and can be tightly adsorbed into soil minerals (Vance *et al.*, 2003). Phosphorus is considered one of the most limiting nutrients in many agricultural soils, and depending on fertilization management plans, may severely limit plant growth and productivity (Balemi and Negisho, 2012; Schachtman *et al.*, 1998).

Plants have developed various responses to enhance P acquisition and remobilization under low P availability. These responses are regulated by a complex signalling network (Chiou and Lin, 2011). Changes in P availability in plants alter hormone production, sensitivity, and transport. In *Arabidopsis*, P starvation represses cytokinin signalling by reducing its concentration. The decrease in cytokinin increases intra-cellular P concentration in shoots and roots caused by the release of P from internal resources in *Arabidopsis* (Chiou and Lin, 2011) and rice (Wang *et al.*, 2006). P deficiency also increases the production and tissue sensitivity

of hormones such as ethylene, auxin, and abscisic acid (Niu *et al.*, 2013). This hormonal coordination ultimately leads to the adaptation of root system architecture in order to increase P acquisition (Chiou and Lin, 2011; López-Bucio *et al.*, 2002). P shortage also triggers the production of enzymes such as acid phosphatases and phytases that can hydrolyze a range of organic P forms in plant structures. The intracellular secretion of these enzymes play a significant role in P remobilization (Balemi and Neighs 2012; Vance *et al.*, 2003). Additionally, the release of organic acids into the rhizosphere helps to solubilize previously unavailable sources of P and leads to metal chelation and the desorption of Pi from the soil matrix (Hinsinger 2001).

Low P concentration in the leaf is associated with low photosynthetic rates and severely limits leaf growth (Plénet *et al.*, 2000; Wissuwa *et al.*, 2005). Similarly, P deficiency can significantly reduce the total leaf area and dry weight production in wheat (Rodríguez *et al.*, 1998), potato (Fernandes *et al.*, 2014) and tomato (Fujita *et al.*, 2003). The accumulation of carbohydrate has been considered an early response to P deficiency. Low P availability increases soluble sugars and starch contents in plant tissues in the common bean (Hernández *et al.*, 2007), maize (Ganie *et al.*, 2015) and *Arabidopsis* (Chiou and Lin, 2011). By contrast, P deficiency decreased sugar levels in cucumber leaves (Ciereszko *et al.*, 2002). The timing of the reallocation of sucrose to roots after the perception of P shortage might account for such discrepancies in the literature.

As a consequence of physiological adaptations to P stress, morphological responses have been thoroughly studied. A common feature is the increase in root: shoot ratio under P deficiency, consecutive to an increased allocation of carbohydrates to the root system (Vance *et al.*, 2003; Hammond and White, 2011; Gerke, 2015). The same result was also observed in cabbage, carrot and potato (Dechassa *et al.*, 2003), common bean (Nielsen *et al.*, 2001) and melon (Fita *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2018). These stimulations of the root system are relative, since the increase in root growth cannot prevent the decline in plant biomass under P deficiency (Mollier and Pellerin, 1991).

Phosphorus starvation symptom is visually observed by a purplish colouring of leaves, and in lettuce it also alters head maturation, which hampers the product commercialization (Chagas *et al.*, 2017). Neocleous and Savvas (2019) have recently studied the effect of P availability on photosynthesis, plant growth and leaf quality for two lettuce groups (Romaine and Lollo) grown in a recirculating nutrient solution. A reduction in the P supply about 55%, compared to a high P level of 1.8 mM, led to a decrease in photosynthesis and a higher allocation of dry matter to the root system in Romaine lettuce only, while the PUE increased in

both Romaine and Lollo types. These results are in line with those observed on other crops using different levels of P stress, such as soybean (Chiera *et al.*, 2002), common bean (Lynch *et al.*, 1991) and wheat (McDonald *et al.*, 2015). Several studies on a range of plant species have shown that substantial genotypic variations exist in these adaptive traits. Those works indicate that there is a potential for breeding genotypes which have a greater capacity to maintain growth in P deficient soils (Deng *et al.*, 2018; Gahoonia and Nielsen, 2004). Various definitions of P efficiency have been put forward, and since the P content of organs might be different in roots and shoots, some authors suggested distinguishing the efficiency of each organ (Gourley *et al.*, 1994; Rose and Wissuwa, 2012). This paper considers the overall agronomic P use efficiency (PUE), defined as the quantity of the whole plant biomass obtained per unit of P supplied into the growing media. It can be broken down into the product of an uptake efficiency (PU_{PE}, the ratio of the quantity absorbed by the plant by the amount of P supplied), by a utilization efficiency (PU_{TE}, the quantity of biomass per unit P in the plant) (DoVale and Fritsche-Neto, 2013; Parentoni and De Souza Júnior, 2008). Several reports on the PUE of lettuce have been produced (Buso and Bliss, 1988; Neocleous and Savvas, 2019), but the literature on the genetic variability of this PUE is scarce. In a study on 15 lettuce cultivars, Buso and Bliss (1988) mentioned that PU_{TE} did not contribute to differences in the shoot biomass produced under either low or high P supply. However, PU_{TE} did contribute to PUE in certain species, such as rice (Aziz *et al.*, 2005), chickpea (Pang *et al.*, 2018) or wheat (Hari-Gowtham *et al.*, 2019; Manske *et al.*, 2001). In this study, we examined a large range of *Lactuca* genotypes including wild species to examine the relative contribution of PU_{TE} and PU_{PE} to PUE. We investigated the morphological and functional adaptations linked to the increase in PUE at low P.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material and growth conditions

An experiment was conducted at the INRAE research Center of Avignon, France, from October to November 2018. Fourteen lettuce genotypes including wild germplasm, old and modern cultivars with different morphological types were tested under plastic tunnels, low-tech greenhouses being representative of lettuce production in the Mediterranean area in autumn (Table 1).

Table 1: Lettuce genotypes, type, cultivar name and origin used in this study

No.	species	Type	Name of cultivar	Origin
1	<i>L. serriola</i>	Wild	LS367	Wild Public domain
2	<i>L. saligna</i>	Wild	CR17	Wild Public domain
3	<i>L. sativa</i>	Wild	PI251245	Wild Public domain
4	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Nenufar	Modern cultivar (Vilmorin)
5	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Bourguignonne	Old cultivar Public domain
6	<i>L. sativa</i>	Looseleaf	Kilervi	Modern cultivar (Rijk Zwaan)
7	<i>L. sativa</i>	Looseleaf	Feuille de chêne blonde	Old cultivar Public domain
8	<i>L. sativa</i>	Romaine	Blonde lente à monter	Old cultivar Public domain
9	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Green Mignonette	Old cultivar Public domain
10	<i>L. sativa</i>	Crisphead	De Pierre Bénite	Old cultivar Public domain
11	<i>L. sativa</i>	Crisphead	Ferega	Modern cultivar (Enza Zaden)
12	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Joviale	Modern cultivar (Gautier)
13	<i>L. sativa</i>	Romaine	Socca	Modern cultivar (Gautier)
14	<i>L. sativa</i>	Stem lettuce	Red Orient	Old cultivar Public domain

An adequate quantity of seeds of each genotype were sown in a rock wool cell placed in a growth chamber at 20/17°C day/night with 85 % relative humidity. Ten days after seeding, the most uniform plantlets were transplanted into cylindrical PVC pots (diameter: 10 cm; height: 80 cm) filled with a P-inert substrate consisting in a 1:1(V/V) of vermiculite and river sand. A randomized block design with three plants per genotype and P treatment (see below) was set up, totalling 84 pots in all. P treatments consisted in supplying a complete nutrient solution with either low or high P concentration. Water and fertilizers were provided by a drip system controlled by a programmer. The substrate humidity was monitored continuously using 18 soil moisture sensors (three EC-5 Decagon per block disposed in pots chosen at random), placed at a horizontal distance of 5 cm below the soil surface. The sensor determines the volumetric water content (VWC) by measuring the dielectric constant of the media. All plants, regardless of the treatment and genotype, received the same amount of water. This amount was determined to maintain an average substrate humidity in the pots of around 17% (V/V) $\pm$ 10% which, is approximately 80% of the substrate field capacity.

Depending on the time of the experience and the climate, this corresponded to one to three fertigation events per day. During the first week, a nutrient solution with a P concentration of 0.1 mmol. L⁻¹ (P was supplied with KH₂PO₄⁻) was applied to all plants. Thereafter, P treatments started and two different nutrient solutions were applied for three additional weeks: a low P LP, with a concentration of 0.1 mmol. L⁻¹ H₂PO₄⁻ and a high P solution, HP with a non-limiting P concentration of 1 mmol. L⁻¹ H₂PO₄⁻. The concentrations of NO₃⁻ and K⁺ were identical in the two nutrient solutions, both at 11 mmol. L⁻¹. These concentrations are known not to be limiting for lettuce grown in pots (Lecompte *et al.*, 2013). In LP, KNO₃, NH₄NO₃ and KH₂PO₄ were brought at concentrations of 10.9 mmol. L⁻¹, 0.1 mmol. L⁻¹, and 0.1 mmol. L⁻¹ respectively. In HP, KNO₃, NH₄NO₃ and KH₂PO₄ were brought at concentrations of 10 mmol. L⁻¹, 1 mmol. L⁻¹, and 1 mmol. L⁻¹ respectively. Thus, the difference was the addition of 0.9 mmol of NH₄⁺ to HP. It was assumed that this supplemental NH₄⁺, which marginally increased the electro-conductivity of the solution and the availability of a non-limiting quantity of nitrogen, did not influence the analysis of the effect of a P limitation. Other macronutrients were kept constant in the two solutions: Mg²⁺ (3.5 mmol. L⁻¹); Ca²⁺ (3.25 mmol. L⁻¹) and SO₄²⁻ (2.5 mmol. L⁻¹), as well as micronutrients (in µmol. L⁻¹): 0.5 B, 0.02 Cu²⁺, 8.2 Fe²⁺, 0.5 Mn²⁺, 0.01 MoO₄²⁻ and 0.1 Zn²⁺.

The amount of P supplied was calculated by multiplying the amount of nutrient solution brought to the plant and the concentration of P in the nutrient solution. From transplantation to harvest, plants received 1.62 L of nutrient solution, with 43 mg and 4.3 mg of P in the HP and LP treatments, respectively.

2.2. Plant measurements

Measurements consisted in photosynthesis and morphological traits, namely leaf area, specific leaf area, shoot dry mass, root dry mass, root dry mass fraction, P organ contents, and components of P efficiency, with their units and abbreviations listed in table 2. Phosphorus uptake (PUpE, mg P absorbed per mg P applied) and utilization efficiency (PUtE, mg total dry biomass per mg P absorbed) were defined as:

$$\text{PUpE} = \text{P absorbed (mg)} / \text{P applied (mg)}$$

$$\text{PUtE} = \text{total dry mass (mg)} / \text{P absorbed (mg)}$$

PUE was calculated as PUpE x PUtE (mg total dry mass/ mg P applied).

Relative responses (%) were used to compare the effect of P treatments and computed as follows:

$\text{RRi} = 100 * [(\text{trait value in LP}) - (\text{trait value in HP})] / (\text{trait value in HP})$; where RRi is the value of the relative response of each trait (i).

Table 2 List of variables, their abbreviations, units, and abbreviations of relative variables

variable	abbreviation	Unit	Abbreviation of relative variable (%)
Photosynthesis rate	Phmax	$\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$	RPhmax
Leaf area	Area	cm^2	Rarea
Specific leaf area	SLA	g/cm^2	RSLA
Shoot dry mass	Sb	g	Rsb
Root dry mass	Rb	g	Rrb
Total dry mass	Tb	g	Rtb
Root dry mass fraction	Rdmf	%	Rrdmf
P concentration in shoot	PS	%	RP _s
P concentration in root	PR	%	RP _r
P uptake efficiency	PU _p E	mg P in plant/ mg P applied	RPU _p E
P utilization efficiency	PU _t E	mg total dry mass/ mg P in plant	RPU _t E
P use efficiency	PUE	mg total dry mass/ mg P applied	RPUE

2.2.1. Gas exchange measurements

At the end of experiment, just before harvest, photosynthesis rate at saturating irradiance ($1000 \mu\text{moles CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) was measured with a portable photosynthesis and fluorescence system (Li-Cor 6400, Lincoln, NE, USA). The youngest fully developed leaf of each plant was chosen for all measurements. Stomatal conductance and transpiration were also registered but did not provide significant additional information and were not considered in this study.

2.2.2. Leaf area and plant tissue dry mass

Plants were harvested one month after transplanting. They were carefully removed, first by immersing the pot in a water-filled container, then by sliding the whole plants out of their pots. Shoots and roots were separated immediately after discharging the plants from the pots. The substrate used was adapted to recover the roots with minimum damage. Sieves with several mesh sizes were used to recover thick and fine roots. Fresh leaves of each plant were scanned using a scanner (EPSON perfection V700) at a resolution of 600 dpi. The images obtained were treated with a commonly used macro programme of the ImageJ scientific software to measure total leaf area. Fresh masses of shoots and roots were recorded. Shoot and root sub-samples were dried in an oven at 75°C during 72h to calculate their dry masses. Dry plant tissues were ground into fine powder using a mixer mill (MM301, Retsh, Haan, Germany).

2.2.3. Phosphorus content in plant tissue

P concentrations in shoots and roots were measured with a portable X-ray fluorescence spectrometer (XRF). This analyzer determines elemental concentrations by measuring the secondary fluorescent X-ray emitted by the sample upon excitation (Reidinger *et al.*, 2012). The calibration of XRF analyses was performed by comparison, using the inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICLPMS) method as a reference (Jenner *et al.*, 1990). This calibration had been carried out during a preliminary test, and conducted on 25 samples in total, i.e. 15 leaf samples and 10 root samples. Although the correlation between XRF and ICP measurements was satisfying ($p < 0.001$, $R^2 = 0.93$ Fig.1), the slope differed from 1. Therefore, a correction of the XRF dosage was uniformly applied to the whole data set presented here, according to the linear adjustment.

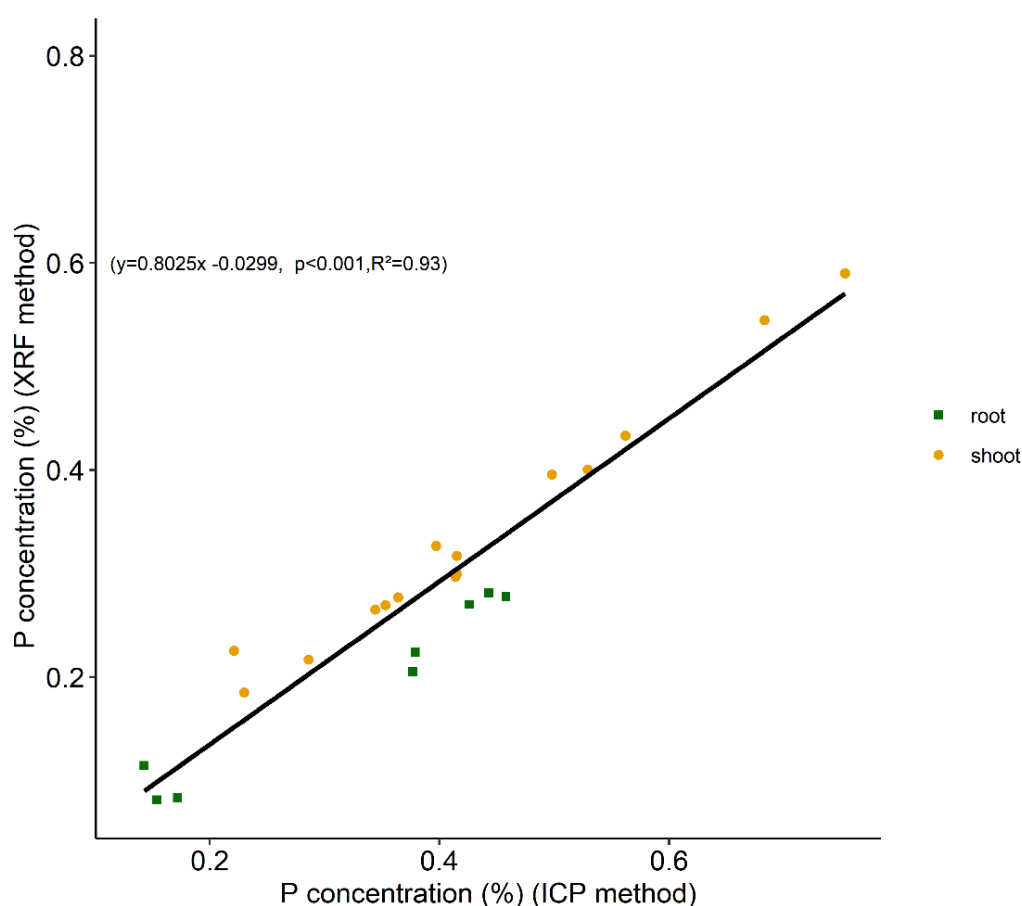


Fig.1: Relationship between P concentration measured by XRF and ICP methods for lettuce shoots (dots) and roots (square).

These data originated from a preliminary experiment, and were used to estimate unbiased P contents in plants based on XRF measurements. The solid line represents the linear regression.

2.3. Statistical analysis

Standard analyses of variance (ANOVA) were performed to analyse the effects of the genotype (G), P level and their interactions on the variables. A Tukey test was calculated to assess the statistical differences between traits in HP and LP. Correlations were computed using Pearson's coefficient. All statistical analyses were performed using R software (<https://www.R-project.org/>).

3. Results

3.1. Effect of P treatments on plant traits

Analyses of variance on the twelve traits measured revealed a significant effect of the genotype (G) and P level (P) on all traits (table 3).

Table 3 Effect of phosphorus level (P), genotype (G) and their interactions on traits measured in 14 lettuce genotypes grown at low P (0.1 mM) and sufficient P (1 mM) availability. Results of two-way ANOVA test. *p*-values of significant effects of genotype (G), phosphorus (P) and their interaction are highlighted in bold. For variables, abbreviations and units see table 2.

Variables	p-value (ANOVA)		
	G	P	G x P
Shoot dry mass	<0.001	<0.001	<0.001
Root dry mass	<0.001	<0.001	0.30
Total dry mass	<0.001	<0.001	0.07
Root dry mass fraction	<0.001	<0.001	<0.01
Leaf area	<0.001	<0.001	<0.001
Specific leaf area	<0.001	<0.001	0.81
Photosynthesis	<0.01	<0.001	0.59
P concentration in root	<0.001	<0.001	<0.01
P concentration in shoot	<0.001	<0.001	<0.001
PU _p E	<0.001	<0.001	<0.001
PU _t E	<0.001	<0.001	<0.001
PUE	<0.001	<0.001	<0.001

*Significant level $p < 0.05$

Significant G x P interactions were also identified for all traits excepted root dry mass, total dry mass, maximum photosynthesis and specific leaf area. These results indicate that plant responses to P availability are associated with a large genotypic variability.

The mean relative responses to P stress (% of variation in LP relative to HP) are given in Fig.2 (and abbreviations presented in Table 2). Rarea and RPs were the most reduced variables, while by contrast Rrdmf, RPUPE, RPUtE and RPUE increased. The RSLA and RPhmax were the least affected traits (Fig.2).

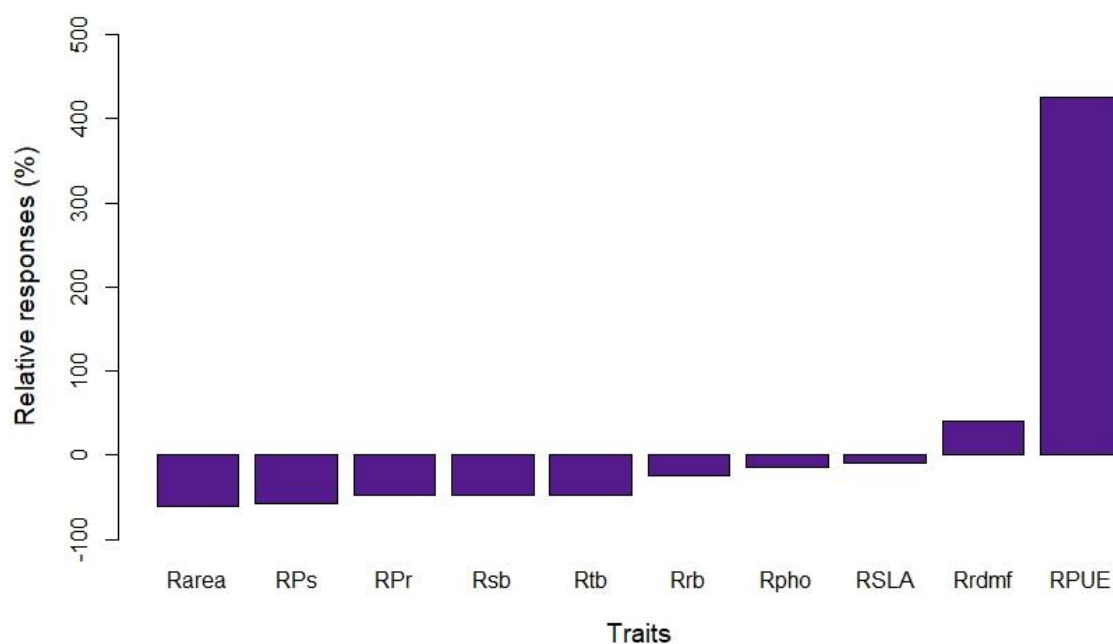


Fig.2 Relative responses of traits to low P availability

Bars represent the mean variation for the 14 genotypes studied. See Table 2 for traits abbreviations and calculation.

3.2. Genetic variations of photosynthesis, plant growth, and biomass allocation in response to P availability

All the genotypes reduced their shoot and root growth (Fig.3). On average, the photosynthetic rate at saturating irradiance was slightly reduced in LP (Fig. 3 a, table 3). However, significant differences between the two treatments were only identified in genotypes G2, G6 and G14.

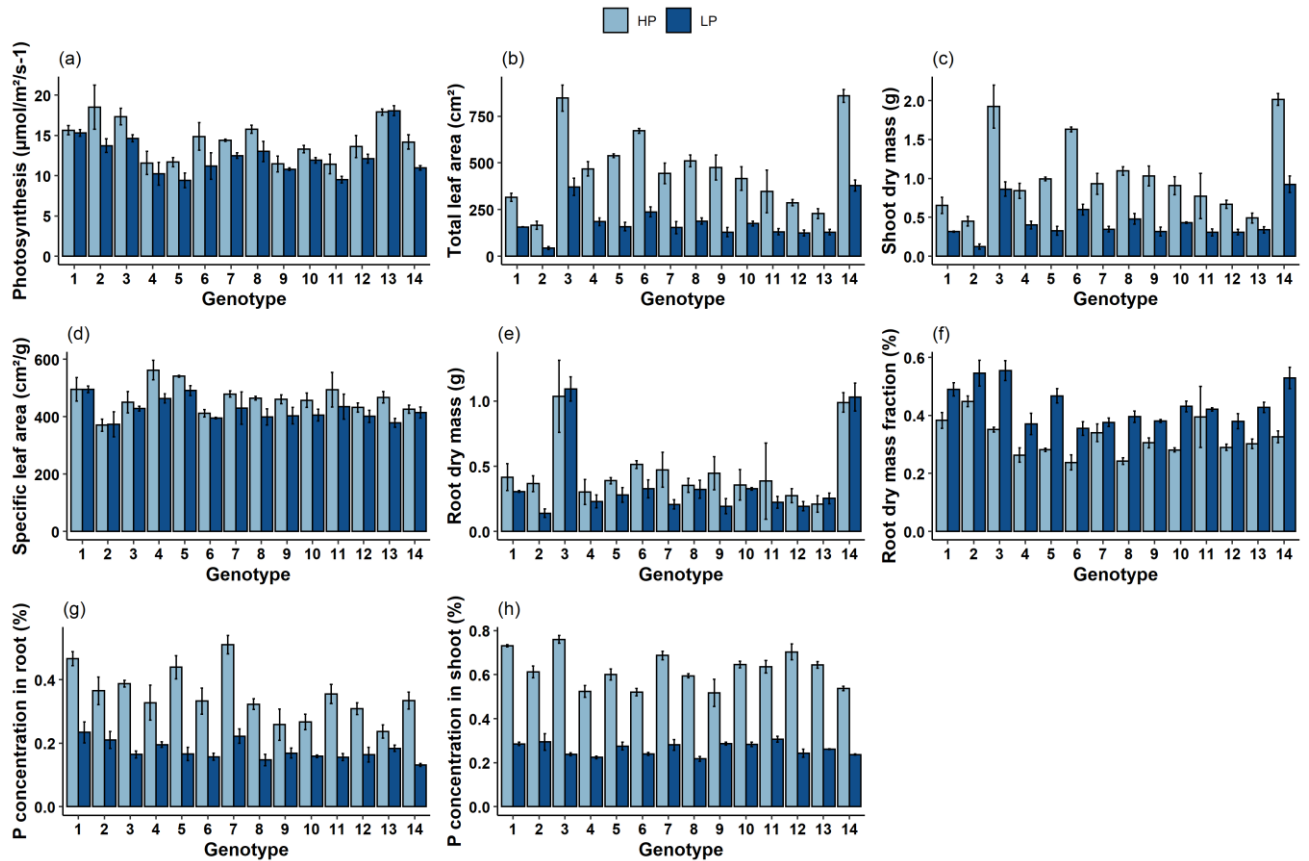


Fig.3 Effect of P levels on variables measured in fourteen genotypes grown at low P (LP, 0.1 mM) and high P (HP, 1 mM) availability (a) Photosynthesis, (b) leaf area, (c) shoot dry mass, (d) specific leaf area, (e) root dry mass, (f) root dry mass fraction, (g) P concentration in root, (h) P concentration in shoot.

Each bar is the mean of three replications (corresponding to three plant per genotype). The error bars indicate the $\pm$ standard error of the mean.

The leaf areas of all genotypes were also significantly affected by P. The leaf area was strongly reduced in all genotypes (from -44% to -73% in LP as compared to HP). Similarly, the shoot dry mass decreased by 57% on average in LP (ranging from 0.12 g to 0.92 g in LP and from 0.45 g to 2.01 g in HP). The two leaf area and shoot dry mass variables were strongly correlated, under both HP ($p < 0.001$, $r = 0.97$, Supplementary Fig. S1) and LP ($p < 0.001$, $r = 0.98$, Supplementary Fig. S2). Three genotypes, G3 (wild *L. sativa*), G6 (a modern loose-leaf cultivar) and G14 (a stem lettuce) had the highest leaf area and shoot biomass both in HP and LP. By contrast, the *L. saligna* germplasm G2 had the lowest leaf area and shoot dry mass under both P conditions (Fig.3 b-c). The specific leaf area was slightly reduced in LP, but the extent of this reduction depended on the genotype: it was not significant in genotypes G1 ($p = 0.99$), G2 ($p = 0.94$) and G14 ($p = 0.76$).

Genotypes 3 and 14 showed a more than two-fold root dry mass in comparison with the other genotypes tested. Root dry mass decreased by 25% on average in LP. It ranged from 0.11 to 1.09 g in LP, and from 0.21 to 1.03 in HP. The extent of this reduction varied among genotypes. The root dry mass of G2, G7 and G9 was strongly reduced in LP, while that of genotypes G1 ($p=0.27$), G3 ($p=0.57$), G4 ($p=0.43$), G5 ($p=0.23$), G8 ($p=0.74$), G10 ($p=0.76$), G12 ($p=0.39$), G13 ($p=0.66$) and G14 ($p=0.68$) did not change significantly (Fig.3e). This stability of root mass in LP was observed on genotypes presenting either small or large root biomass in HP. A strong allometry in biomass allocation was observed, as illustrated by the significant correlation between the dry mass of roots and shoots ($p<0.001$; $r=0.89$ in LP and $p<0.001$; $r=0.88$ in HP) (supplementary Fig. S1-S2). The root dry mass fraction (Rdmf) markedly increased in LP in all genotypes (Fig.3f). Rdmf ranged from 35 to 55 % in LP, and from 24 to 45 % in HP. Wild and old genotypes G1, G2, G3, G5 and G14 showed the highest root dry mass fractions in LP, representing 46% to 55% of the whole plant on average.

3.3. Genetic variations of P contents in response to P availability

In HP, P shoot concentration (ranging from 0.51 to 0.75 %) was higher than P root concentration (ranging from 0.23 to 0.51%) (Fig.3 g-h). The difference was less pronounced in LP (0.21 to 0.30% in shoots and 0.13-0.23 % in roots) because, on average, the reduction in P concentration in roots (-48%) was lower than in shoots (-57 %). Also, the genetic variability of P content was higher in roots (the coefficient of variation among genotypes was 21% in LP and 25% in HP) than in shoots (the coefficient of variation among genotypes was 13% in both P treatments). Only weak correlations were found between P concentrations in roots and shoots, both in LP ($p<0.05$, $r=0.31$, Supplementary Fig. S1) and HP ($p<0.01$, $r=0.44$, Supplementary Fig. S2).

3.4. Genetic variations of PUpE, PUE and PUE in response to P availability

PUE and its components increased markedly at low P availability, and strong genotypic variations were observed. PUpE ranged from 0.16 to 0.89 mg P per mg P applied in LP and from 0.08 to 0.43 mg P per mg P applied in HP (Fig.4a). A very significant correlation was found between PUpE in LP and HP ($p<0.001$, $r=0.94$). This indicates that the genotypes determine PUpE very strongly. Regardless of the P availability, G3 and G14 had a much higher PUpE than the other genotypes examined (0.89 and 0.82 mg P per mg P applied in LP and 0.43 and 0.32 mg P per mg P applied in HP, respectively). Conversely, the *L. Saligna* G2 had a very low PUpE (0.16 mg P in plant/mg P applied in LP and 0.09 mg P in plant/mg P applied in HP) (Fig.4a).

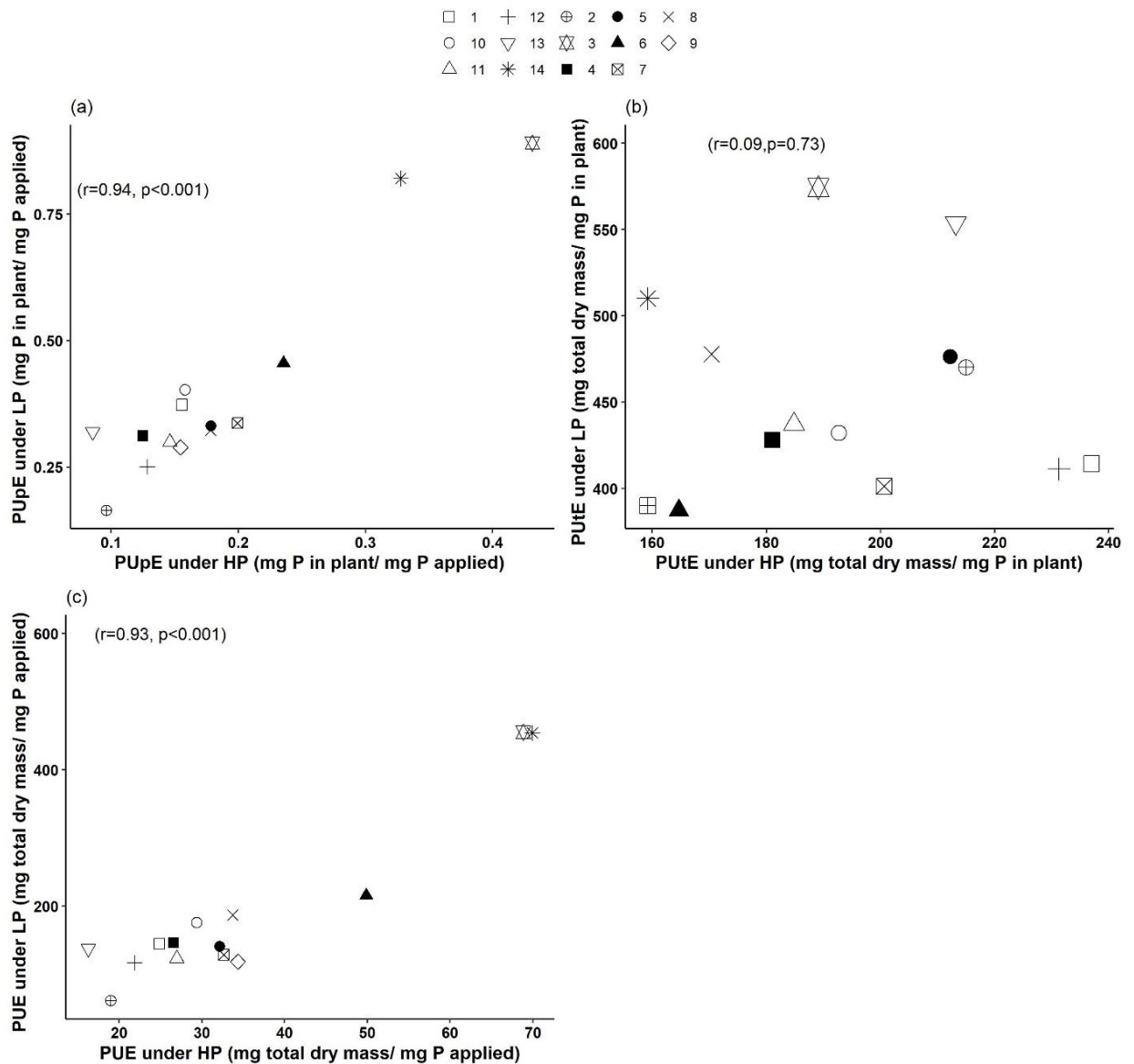


Fig.4: Effect of P levels on (a) phosphorus uptake efficiency (PUPE), (b) phosphorus utilization efficiency (PUtE), (c) phosphorus use efficiency (PUE) of fourteen lettuce genotypes cultivated in LP (0.1 mM) and HP (1 mM)

Values shown are means of three replications. Numbers correspond to the genotypes used, which were presented in table 1 in Material and Methods.

PUtE varied between 333-574 mg of total dry mass per mg of P in LP, and between 159-236 mg of total dry mass per mg of P in HP. Unlike what was observed for PUPE, there was no significant correlation between PUtE in LP and HP ($r=0.09, p=0.73$) (Fig.4 b). Some genotypes showed a high PUtE in HP but not in LP, e.g. G9, while other genotypes, e.g. G3, had a low utilization efficiency in HP and a high utilization efficiency in LP; two genotypes G3 and G8 more than doubled their PUtE in LP (Fig.4 b). PUPE and PUtE were not significantly correlated

in HP ($r=-0.24$, $p=0.12$, Supplementary Fig. S1), but a weak positive correlation was found in LP ($p<0.01$; $r=0.48$, Supplementary Fig. S2).

PUE (defined as $PUpE \times PUE$) varied among genotypes by almost a factor of 10 in LP (55 to 455 mg total dry mass per mg P applied), and much less in HP (16 to 69 mg total dry mass per mg P applied). On average, PUE was reduced by 80 % in HP. A very significant correlation was found between PUE in LP and HP ($p<0.001$, $r=0.93$) (Fig.4c). The ranking of genotypes for the overall efficiency was very similar to the ranking of genotypes for $PUpE$.

3.5 Traits related to $PUpE$, PUE and PUE

P uptake in plants was calculated by multiplying P concentrations in plant tissues by their biomasses. As shown above (Fig. 3), the genetic variability of plant dry mass was higher than the variability of P concentration. As a consequence, $PUpE$, which corresponds to the quantity of P in plants per unit of P applied, was very highly correlated with any trait describing plant biomass (either root dry mass and shoot dry mass), both in LP and HP (Supplementary Fig. S1-S2).

In HP, plant dry masses and P concentrations in plant tissues were not limited by P availability. Therefore, there was no significant relationship between PUE and total dry mass ($r=0.01$, $p=0.90$). However, when P was limited, a positive correlation was found between PUE and total dry mass ($p<0.001$, $r=0.62$) (Supplementary Fig. S2). Interestingly, a very significant correlation was found between PUE and the relative root dry mass fraction in LP ($p<0.001$, $r=0.77$) (Fig.5). Among the genotypes observed in this work, those that have a greater capacity to increase their root system under P stress are the most efficient in terms of P utilization.

As the variability of $PUpE$ among lettuce genotypes was greater than the variability of PUE , both under LP and HP, PUE was mostly determined and showed a very tight correlation with $PUpE$ ($p<0.001$, $r=0.98$ in LP and $p<0.001$, $r=0.95$ in HP). However, PUE was more variable in LP, and contributed to the variation of PUE at low P availability ($p<0.001$, $r=0.62$, Supplementary Fig. S2).

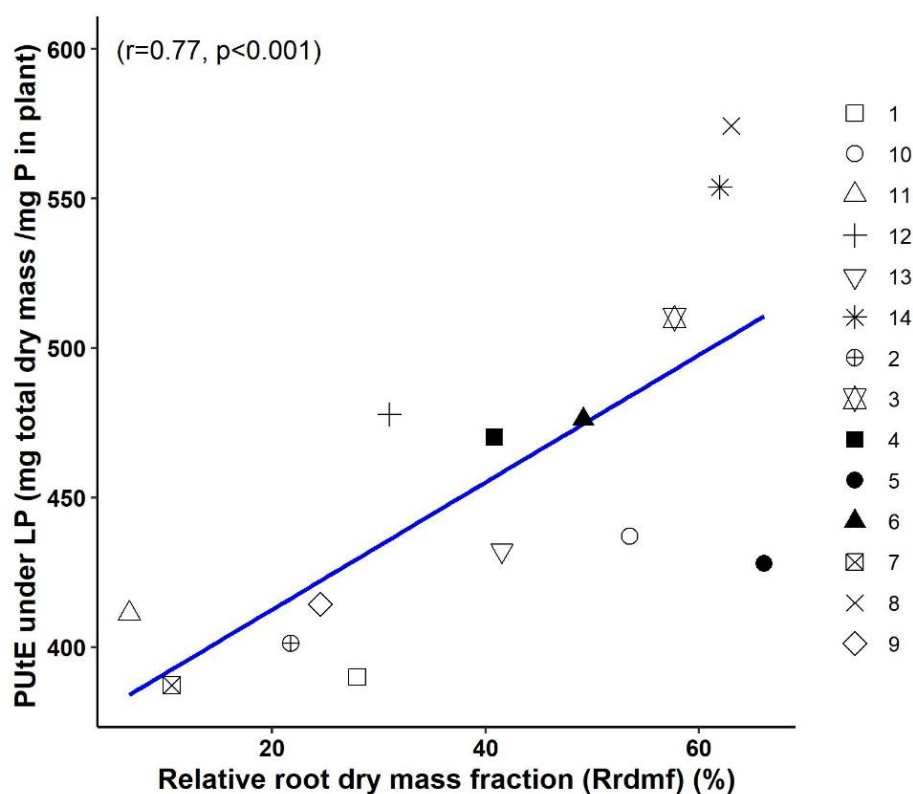


Fig.5 Relationship between the relative root dry mass fraction (Rrdmf) and the phosphorus utilization efficiency (PUtE) at low P availability (LP, 0.1 mM)

Values are the means of three replications for each genotype, identified by their numbers, as given in Table 1

4. Discussion

4.1 Genetic variations of the response to low P availability in *Lactuca*

In the present work, we used two contrasted P levels to characterize the effect of P, genotype (G) and their interaction on a range of genotypes of the genus *Lactuca*. We analysed the photosynthesis, growth, P uptake and P efficiency of 14 lettuce genotypes including wild germplasm, old and commercial cultivars.

Phosphorus plays a key role in photosynthesis, but the impact of P deficiency on photosynthesis appears to be largely species-specific (Thuynsma *et al.*, 2016). Chaudhary *et al.* (2008) showed that photosynthesis dropped by 94%, 65% and 18% in the mungbean, mash bean and soybean respectively when P availability decreased. By contrast, the photosynthetic rate per leaf area unit was not affected by the P regime (10, 45 and 90 μM P) in various potato genotypes (Balemi, 2010). In the present investigation on *Lactuca*, the strongly limiting P treatment applied only induced a slight reduction in the photosynthesis measured at saturating irradiance (-15 % on average) (Fig.2). A significant genetic variability of photosynthetic

activity was observed, with no GxP interaction. Neocleous and Savvas (2019) showed that a range of Lollo-type lettuces maintained their photosynthetic rate at three different P levels (0.8, 1.3, 1.8 mM) and proved less sensitive to low P when compared to Romaine-type lettuces, which decreased their photosynthesis. These discrepancies between this work and ours, regarding the effect of P on photosynthesis might be due to the difference in P levels, and method of application used in each study.

Leaf area was the most severely reduced trait when P availability decreased. The range of reduction in leaf area (-44% to -73%) under our severe P stress falls within those reported on other crops (Potato (Balemi, 2010), tomato (Martins *et al.*, 2017), cabbage (Cecílio Filho *et al.*, 2013), melon (Li *et al.*, 2018). In sunflowers, the decrease in total leaf area under P stress was ascribed to reductions in leaf appearance rate, leaf elongation rate as well as final leaf size (Rodríguez *et al.*, 1998). In this work we also reported a genotype x P interaction, which was observed on potato too, as well as a reduction in leaf area by 20 to 80% attributed to P-efficient and P-inefficient genotypes (Balemi, 2010). Similar results were obtained on maize (Plénet *et al.*, 2000).

In this study, we observed a sharp reduction in shoot dry mass in LP. Apparently, this decrease in shoot dry mass at low P availability could be attributed to the reduction in leaf growth more than to the decrease in photosynthetic rate. Although we only studied photosynthesis at saturating light at one time point (and not the actual photosynthesis throughout the experiment), we observed that genotypes that did not or only marginally reduced their photosynthetic activity in LP, such as G1 *L. serriola* and an old cultivar G9 cv. Green Mignonette, showed severe reductions in their leaf areas and shoot dry masses.

Regardless of the P availability, the greatest shoot dry masses were found in a wild *L. sativa* genotype (G3 cv. PI251245), a special lettuce type (stem lettuce G14 cv. red orient), and a modern commercial genotype (G6 cv. Kilervi), indicating that these genotypes have a high growth potential in a large range of P environments. However, the identification of genotypes with high growth potential was not the objective of this study, conducted on a limited number of genotypes of different morphological types. Moreover, modern cultivars are bred for very specific seasons nowadays, and some genotypes chosen for this early autumn experiment may not have expressed their growth potential in the conditions of the experiment. Interestingly however, the non-commercial genotypes G3 and G14 also showed very high root masses, which was not the case for the G6 cv. Kilervi modern cultivar. Moreover, at high P availability, the root dry mass fraction tended to be higher in wild and old genotypes, in comparison with modern ones. This might show that modern commercial cultivars, which are usually grown at

high nutrient availabilities, are not selected for the size of their root systems. The comparison of responses of genotypes to low P availability were better suited to our experimental design. A P shortage could have expectedly affected other genotypes with a high growth potential, because despite adaptations of organ P concentration at low P, large biomasses require more P. However, this was not the case: the biomass reduced by around 50% in LP on average, and the more severe biomass reductions were observed for genotypes with either low or high biomasses in HP.

In response to low P, plants exhibit various strategies to enhance the P acquisition from the soil, one of which being to increase their root system size relative to the shoot system. In this study, lettuce genotypes increased their root dry mass fraction by about 40% in LP on average. Noticeably, there was a large genotypic variation regarding the ability to increase the Rdmf at low P (Fig. 5). The wild *L. sativa* G3 (cv. PI251245) and the lettuce stem G14 (cv. red orient) did not decrease their root dry mass in LP and kept the highest root dry mass fraction under P stress. Some old cultivars like G5 (cv. Bourguignonne) and G8 (cv. Blonde lente à monter) also showed a high capacity to increase their root system sizes at low P availability. But this does not appear to be the case for all old genotypes, since G7 (cv. Feuille de chêne blonde) and G9 (cv. Green Mignonette) showed poor adaptive abilities. Modern cultivars all showed moderate adaptation, an average 40% increase in root dry mass fraction under P stress. In the only other study related to this topic in lettuce, Buso and Bliss (1988) highlighted significant differences between root: shoot ratios among butterhead cultivars in response to low P, but no differences for crisphead and loose-leaf lettuce groups. In wheat as well, root: shoot ratios varied significantly depending on genotypes, in response to low P availability (Bilal *et al.*, 2018; Yaseen and Malhi, 2009). All these results confirm the high genotypic variations of this trait.

In terms of P concentration in plant tissue, our results showed that P stress reduced the P concentration in shoots more than in roots. Similar observations were made on rice (Irfan *et al.*, 2020) and wheat (Shabnam *et al.*, 2018), however this was not the case in potato (Cogliatti and Clarkson, 1983).

In our work, we were not able to identify any effect of lettuce morphological type or date of breeding on either leaf or root P content.

4.2 PUpE, PUE and PUE in *Lactuca*

Developing cultivars with improved PUE is considered important for the sustainability of agriculture (Wu *et al.*, 2013). Research on wheat (Manske *et al.*, 2001), cotton (Iqbal *et al.*, 2019) and maize (Parentoni and De Souza Júnior, 2008) indicated an important genotypic variability of PUpE, PUE and related traits under contrasting constraints for P availabilities. This study provides an attempt to examine the origin of the variability of P use efficiency in a wide range of *Lactuca* germplasms, including wild species and old cultivars. Previous works have already reported PUE for commercial cultivars of different lettuce types (Busso and Bliss, 1988; Neocleous and Savvas, 2019). The values obtained are in line with those reported in the commercial cultivars used in this study. We stress here that wild and non-cultivated *Lactuca* genotypes can show much higher P efficiencies than commercial cultivars under low P.

The ranking of genotypes in the evaluation of efficiency in phenotyping experiments depends on the definition chosen for efficiency (Gourley *et al.*, 1994); still, the description of genetic variability is of importance to characterize genotypes of interest. In our investigation, PUpE represents the ability of a crop to retrieve P from the soil. Here we showed a strong positive correlation between PUpE in LP and HP demonstrating large genetic variability and more limited phenotypic plasticity for this trait. We observed that PUpE at a given P availability was almost entirely determined by the mass of the organs, while PUpE was only marginally dependent on the P concentration of these organs. Genotypes showing high root system masses such as G3 (cv. PI251245) and G14 (cv. Red orient) were in consequence much more efficient than the other genotypes examined. Accordingly, when P was lacking, a positive correlation was found between PUpE and the root dry mass fraction, which was not noticeable at high P. In agreement with our findings, a significant positive correlation was observed between P uptake and root: shoot ratio in *Coffea* at low P supply, suggesting that root traits are valuable targets for improving the P acquisition in P limited soils (Neto *et al.*, 2016). In *Brassica oleracea* also, the improved ability of a crop to capture more P was related to root system traits, and some root system plasticity was observed in response to low P availability (Hammond *et al.*, 2009). It has been shown that the allocation of additional carbohydrates to the root system at low P availability promotes root elongation, branching and root hair proliferation, contributing to enhanced P uptake capacities (Lynch, 2007, 2011; Niu *et al.*, 2013; Pan *et al.*, 2008).

PUtE also varied significantly among lettuce genotypes and depended on P availability, but in contrast with PUpE, showed much more phenotypic plasticity. Since PUtE represents the dry mass produced per P unit content in plants, negative correlations between PUtE and P concentrations in shoots and roots can be found. This result has been reported in other crops as well (Manske *et al.*, 2001; Parentoni and De Souza Júnior, 2008; McDonald *et al.*, 2015; Sandaña, 2016). In this work, we observed a positive correlation between PUpE and PUtE at low P availability, but not under sufficient P supply. Contrastingly, in maize PUpE was negatively correlated to PUtE regardless of the P availability (DoVale and Fritsche-Neto, 2013). But Parentoni and De Souza Júnior (2008) stated that PUpE was not correlated to PUtE at low or high P availability. Again, this could stress the importance of plant age and experimental conditions in the evaluation of efficiency criteria.

Interestingly, we also showed that PUtE was positively correlated with the relative root dry mass fraction in *Lactuca*. This means that genotypes that have the greatest capacity to increase their root dry mass fraction under P stress, regardless of the size of their root system at high P availability, can increase their P utilization. Although the increase in the relative root dry mass under P stress is an unequivocal response, genotypes with a more limited plasticity for this adaptation limit their capacity to increase their PUtE, their PUE, and ultimately their growth more than others, under such stress. To our knowledge, this consideration has not been reported for any other plant species.

However, in the results presented here on *Lactuca*, the genotypic variability of PUpE was much more important than that of PUtE, especially under P stress: PUpE varied by 600% between genotypes, when PUtE varied only by around 50%. Therefore, the overall genetic variability of PUE was mostly determined by PUpE both in LP ($p < 0.001$, $r = 0.98$) and in HP ($p < 0.001$, $r = 0.95$). Though very significant, small variations of PUtE under P stress only marginally affected PUE, and the ranking of genotypes for their efficiencies. According to Rose *et al.* (2011), when P is limited, PUpE is more important than PUtE, while in sufficient P conditions PUtE is more important. Similarly, PUpE was more important than PUtE under low P in wheat (Manske *et al.*, 2001), rice (Wissuwa and Ae, 2001), pearl millet (Gemenet *et al.*, 2015) and *Brassica napus* (Zhang *et al.*, 2009). However, an increase in PUE has been associated with an increase in PUtE in wheat genotypes grown at two P levels (0 and 30 Kg P/ha) (McDonald *et al.*, 2015). Therefore, it would be interesting to explore the link between the adaptation of root system size at low P availability and PUtE in other species, where PUtE accounts for a large part of PUE.

5. Conclusions

The present study provides information about genotypic adaptation to low P availability in the *Lactuca* genus. As in other species, shoot growth is more affected than root growth. Some particular genotypes with a high root system mass are particularly adapted to P stress. PUE appears to be mainly determined by the root system biomass and PUpE, which relates to root and shoot sizes, is largely dependent on genotypic characteristics. However, in this study we showed that phenotypic plasticity exists in the capacity to invest relatively more dry mass to the root system when P is strongly limiting, which can increase PUE, the amount of biomass produced per unit of P taken up by the plant. We are proposing to explore this plasticity in other plant genera, since PUE might be an important component of PUE, depending on the species.

6. Acknowledgements

This work received financial support from the “European Agricultural Fund for Rural Development” (FEADER). A. Beroueg was supported by a grant of the Tunisian Higher Education Programme. The authors are grateful to Dr. B. Maisonneuve and other partners of the project for providing lettuce seeds. The authors wish to thank F. De Bruyne and V. Serra for their expert technical assistance, and A. Mollier for his reading and his precious comments on the manuscript.

References

- Aziz, P. T., Maqsood, M., and Mansoor, T. (2005). Differences in phosphorus absorption, transport and utilization by twenty rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Pak. J. Agri. Sci* 42, 8–15.
- Balemi, T. (2010). Effect of phosphorus nutrition on growth of potato genotypes with contrasting phosphorus efficiency. *African Crop Sci. J.* 17, 199–212. doi:10.4314/acsj.v17i4.54304.
- Balemi, T., and Negisho, K. (2012). Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: A review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 547–561. doi:10.4067/s0718-95162012005000015.
- Bilal, H. M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Farooq, M., and Yan, G. (2018). Categorization of wheat genotypes for phosphorus efficiency. *PLoS One* 13, e0205471. doi:10.1371/journal.pone.0205471.
- Buso, G. S. C., and Bliss, F. A. (1988). Variability among lettuce cultivars grown at two levels of available phosphorus. *Plant Soil* 111, 67–73. doi:10.1007/BF02182038.
- Carpenter, S. R., Caraco, N. F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A. N., and Smith, V. H. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol. Appl.* 8, 559–568.
- Cecílio Filho, A. B., Silverio da Silva, G., and Mendoza Cortez, J. W. (2013). Phosphorus fertilization of “Fuyutoyo” cabbages in phosphorus-rich eutrustox soil. *Chil. J. Agric. Res.* 73, 288–292. doi:10.4067/S0718-58392013000300012.
- Chagas, W. F. T., Guelfi, D. R., Emrich, E. B., Silveira, M. T. de P., Caputo, A. L. C., Andrade, A. B., *et al.*, (2017). Agronomic characteristics of lettuce grown with monoammonium phosphate in sandy soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 48, 1520–1527. doi:10.1080/00103624.2017.1373793.
- Chaudhary, M. I., Adu-Gyamfi, J. J., Saneoka, H., Nguyen, N. T., Suwa, R., Kanai, S., *et al.*, (2008). The effect of phosphorus deficiency on nutrient uptake, nitrogen fixation and photosynthetic rate in mashbean, mungbean and soybean. *Acta Physiol. Plant.* 30, 537–544. doi:10.1007/s11738-008-0152-8.
- Chiera, J., Thomas, J., and Rufty, T. (2002). Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. *J. Exp. Bot.* 53, 473–481. doi:10.1093/jexbot/53.368.473.
- Chiou, T.-J., and Lin, S.-I. (2011). Signaling network in sensing phosphate availability in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 185–206. doi:10.1146/annurev-arplant-042110-103849.

- Ciereszko, I., Janonis, A., and Kociakowska, M. (2002). Growth and metabolism of cucumber in phosphate-deficient conditions. *J. Plant Nutr.* 25, 1. doi:10.1081/pln-120003943.
- Cogliatti, D. H., and Clarkson, D. T. (1983). Physiological changes in, and phosphate uptake by potato plants during development of, and recovery from phosphate deficiency. *Physiol. Plant.* 58, 287–294. doi:10.1111/j.1399-3054.1983.tb04183.x.
- Dechassa, N., Schenk, M. K., Claassen, N., and Steingrobe, B. (2003). Phosphorus efficiency of cabbage (*Brassica oleraceae* L. vat. capitata), carrot (*Daucus carota* L.), and potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Soil* 250, 215–224. doi:10.1023/A:1022804112388.
- Deng, Y., Teng, W., Tong, Y. P., Chen, X. P., and Zou, C. Q. (2018). Phosphorus efficiency mechanisms of two wheat cultivars as affected by a range of phosphorus levels in the field. *Front. Plant Sci.* 871, 1–12. doi:10.3389/fpls.2018.01614.
- DoVale, J. C., and Fritsche-Neto, R. (2013). Genetic control of traits associated with phosphorus use efficiency in maize by REML/BLUP. *Rev. Cienc. Agron.* 44, 554–563. doi:10.1590/S1806-66902013000300018.
- FAOSTAT (Statistical of Food and Agriculture Organization), 2018: Data from the FAOSTAT Statistical data base. Available from www.fao.org. Accessed 20 April 2020.
- Fernandes, A. M., Soratto, R. P., and Gonsales, J. R. (2014). Root morphology and phosphorus uptake by potato cultivars grown under deficient and sufficient phosphorus supply. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 180, 190–198. doi:10.1016/j.scienta.2014.10.035.
- Fita, A., Nuez, F., and Picó, B. (2011). Diversity in root architecture and response to P deficiency in seedlings of *Cucumis melo* L. *Euphytica* 181, 323–339. doi:10.1007/s10681-011-0432-z.
- Fujita, K., Okada, M., Lei, K., Ito, J., Ohkura, K., Adu-Gyamfi, J. J., *et al.*, (2003). Effect of P-deficiency on photoassimilate partitioning and rhythmic changes in fruit and stem diameter of tomato (*Lycopersicon esculentum*) during fruit growth. *J. Exp. Bot.* 54, 2519–2528. doi:10.1093/jxb/erg273.
- Ganie, A. H., Ahmad, A., Pandey, R., Aref, I. M., Yousuf, P. Y., Ahmad, S., *et al.*, (2015). Metabolite profiling of low-P tolerant and low-P sensitive maize genotypes under phosphorus starvation and restoration conditions. *PLoS One* 10, 1–25. doi:10.1371/journal.pone.0129520.
- Gemenet, D. C., Hash, C. T., Sanogo, M. D., Sy, O., Zangre, R. G., Leiser, W. L., *et al.*, (2015). Phosphorus uptake and utilization efficiency in West African pearl millet inbred lines. *F. Crop. Res.* 171, 54–66. doi:10.1016/j.fcr.2014.11.001.

- Gerke, J. (2015). The acquisition of phosphate by higher plants: Effect of carboxylate release by the roots. A critical review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 178, 351–364. doi:10.1002/jpln.201400590.
- Golroudbary, S. R., El Wali, M., and Kraslawski, A. (2019). Environmental sustainability of phosphorus recycling from wastewater, manure and solid wastes. *Sci. Total Environ.* 672, 515–524. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.03.439.
- Gourley, C. J. P., Allan, D. L., and Russelle, M. P. (1994). Plant nutrient efficiency: A comparison of definitions and suggested improvement. *Plant Soil* 158, 29–37. doi:10.1007/BF00007914.
- Hammond, J. P., Broadley, M. R., White, P. J., King, G. J., Bowen, H. C., Hayden, R., *et al.*, (2009). Shoot yield drives phosphorus use efficiency in *Brassica oleracea* and correlates with root architecture traits. *J. Exp. Bot.* 60, 1953–1968. doi:10.1093/jxb/erp083.
- Hammond, J. P., and White, P. J. (2011). Sugar signaling in root responses to low phosphorus availability. *Plant Physiol.* 156, 1033–1040. doi:10.1104/pp.111.175380.
- Hari-Gowthem, G., Kaur, S., Sekhon, B. S., Sharma, P., and Chhuneja, P. (2019). Genetic variation for phosphorus-use efficiency in diverse wheat germplasm. *J. Crop Improv.* 33, 536–550. doi:10.1080/15427528.2019.1627633.
- Hernández, G., Ramírez, M., Valdés-López, O., Tesfaye, M., Graham, M. A., Czechowski, T., *et al.*, (2007). Phosphorus stress in common bean: Root transcript and metabolic responses. *Plant Physiol.* 144, 752–767. doi:10.1104/pp.107.096958.
- Hoque, M. M., Ajwa, H., Othman, M., Smith, R., and Cahn, M. (2010). Yield and postharvest quality of lettuce in response to nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers. *HortScience* 45, 1539–1544. doi:10.21273/HORTSCI.45.10.1539.
- Iqbal, A., Gui, H., Zhang, H., Wang, X., Pang, N., Dong, Q., *et al.*, (2019). Genotypic variation in cotton genotypes for phosphorus-use efficiency. *Agronomy* 9, 9, 689. doi:10.3390/agronomy9110689.
- Irfan, M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Bilal, H. M., Siddique, K. H. M., and Xu, M. (2020). Phosphorus (P) use efficiency in rice is linked to tissue-specific biomass and P allocation patterns. *Sci. Rep.* 10, 1–14. doi:10.1038/s41598-020-61147-3.
- Jenner, G. A., Longerich, H. P., Jackson, S. E., and Fryer, B. J. (1990). ICP-MS - A powerful tool for high-precision trace-element analysis in Earth sciences: Evidence from analysis of selected U.S.G.S. reference samples. *Chem. Geol.* 83, 133–148.

- Li, P., Weng, J., Zhang, Q., Yu, L., Yao, Q., Chang, L., *et al.*, (2018). Physiological and biochemical responses of *cucumis melo* L. Chloroplasts to low-phosphate stress. *Front. Plant Sci.* 871, 1–13. doi:10.3389/fpls.2018.01525.
- Li, Y., Luo, an-cheng, Muhammad Jaffar, H., and Wei Xing-hua (2006). Effect of phosphorus deficiency on leaf photosynthesis and carbohydrates partitioning in two rice genotypes with contrasting low phosphorus susceptibility. *Front. Plant Sci.* 871, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01525>.
- Lynch, J., Läuchli, A., and Epstein, E. (1991). Vegetative growth of the common bean in response to phosphorus nutrition. *Crop Sci.* 31, 380.
- Lynch, J. P. (2007). Turner review no. 14. Roots of the second green revolution. *Aust. J. Bot.* 55, 493–512. doi:10.1071/BT06118.
- Lynch, J. P. (2011). Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: Tools for future crops. *Plant Physiol.* 156, 1041–1049. doi:10.1104/pp.111.175414.
- Manske, G. G. B., Ortiz-Monasterio, J. I., van Ginkel, M., González, R. M., Fischer, R. A., Rajaram, S., *et al.*, (2001). Importance of P uptake efficiency versus P utilization for wheat yield in acid and calcareous soils in Mexico. *Eur. J. Agron.* 14, 261–274.
- Martins, B. N. M., Candian, J. S., de Lima, P. N., Corrêa, C. V., Gouveia, A. M. de S., da Silva, J. O., *et al.*, (2017). Effect of phosphorus (P) doses on tomato seedlings production in poor nutrients substrates and its importance on fruit yield. *Aust. J. Crop Sci.* 11, 567–572. doi:10.21475/ajcs.17.11.05.p379.
- McDonald, G., Bovill, W., Taylor, J., and Wheeler, R. (2015). Responses to phosphorus among wheat genotypes. *Crop Pasture Sci.* 66, 430–444. doi:10.1071/CP14191.
- Mollier, A., and Pellerin, S. (1999). Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. *J. Exp. Bot.* 50, 487–497. doi:10.1093/jxb/50.333.487.
- Neocleous, D., and Savvas, D. (2019). The effects of phosphorus supply limitation on photosynthesis, biomass production, nutritional quality, and mineral nutrition in lettuce grown in a recirculating nutrient solution. *Sci. Hortic.* 252, 379–387.
- Neto, A. P., Favarin, J. L., Hammond, J. P., Tezotto, T., and Couto, H. T. Z. (2016). Analysis of phosphorus use efficiency traits in coffeea genotypes reveals *Coffea arabica* and *Coffea canephora* have contrasting phosphorus uptake and utilization efficiencies. *Front. Plant Sci.* 7, 1–10. doi:10.3389/fpls.2016.00408.
- Nielsen, K. L., Eshel, A., and Lynch, J. P. (2001). The effect of phosphorus availability on the carbon economy of contrasting common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *J. Exp. Bot.* 52, 329–339. doi:10.1093/jexbot/52.355.329.

- Niu, Y. F., Chai, R. S., Jin, G. L., Wang, H., Tang, C. X., and Zhang, Y. S. (2013). Responses of root architecture development to low phosphorus availability: A review. *Ann. Bot.* 112, 391–408. doi:10.1093/aob/mcs285.
- Pan, X. wen, LI, W. bin, Zhang, Q. ying, Li, Y. hua, and Liu, M. shan (2008). Assessment on phosphorus efficiency characteristics of soybean genotypes in phosphorus-deficient soils. *Agric. Sci. China* 7, 958–969. doi:10.1016/S1671-2927(08)60135-2.
- Pang, J., Zhao, H., Bansal, R., Bohuon, E., Lambers, H., Ryan, M. H., *et al.*, (2018). Leaf transpiration plays a role in phosphorus acquisition among a large set of chickpea genotypes. *Plant Cell Environ.* 41, 2069–2079. doi:10.1111/pce.13139.
- Parentoni, S. N., and De Souza Júnior, C. L. (2008). Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 43, 893–901. doi:10.1590/S0100-204X2008000700014.
- Plénet, D., Etchebest, S., Mollier, A., and Pellerin, S. (2000). Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency: I. Leaf growth. *Plant Soil* 223, 117–130. doi:10.1023/A:1004877111238.
- Reidinger, S., Ramsey, M. H., and Hartley, S. E. (2012). Rapid and accurate analyses of silicon and phosphorus in plants using a portable X-ray fluorescence spectrometer. *New Phytol.* 195, 699–706. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04179.x.
- Rodríguez, D., Keltjens, W. G., and Goudriaan, J. (1998). Plant leaf area expansion and assimilate production in wheat (*Triticum aestivum* L.) growing under low phosphorus conditions. *Plant Soil* 200, 227–240. doi:10.1023/A:1004310217694.
- Rose, T. J., Rose, M. T., Pariasca-Tanaka, J., Heuer, S., and Wissuwa, M. (2011). The frustration with utilization: Why have improvements in internal phosphorus utilization efficiency in crops remained so elusive? *Front. Plant Sci.* 2, 1–5. doi:10.3389/fpls.2011.00073.
- Rose, T.J., Wissuwa, M., 2012. Rethinking internal phosphorus utilization efficiency. A new approach is needed to improve PUE in grain crops. In Donald L. Sparks, editor: *Advances in Agronomy*, Vol. 116, Burlington: Academic Press, pp. 185-217.
- Sandaña, P. (2016). Phosphorus uptake and utilization efficiency in response to potato genotype and phosphorus availability. *Eur. J. Agron.* 76, 95–106. doi:10.1016/j.eja.2016.02.003.
- Sattari, S. Z., Bouwman, A. F., Martínez Rodríguez, R., Beusen, A. H. W., and Van Ittersum, M. K. (2016). Negative global phosphorus budgets challenge sustainable intensification of grasslands. *Nat. Commun.* 7. doi:10.1038/ncomms10696.

- Schachtman, D. P., Reid, R. J., and Ayling, S. M. (1998). Phosphorus uptake by plants: From soil to cell. *Plant Physiol.* 116, 447–453. doi:10.1104/pp.116.2.447.
- Shabnam, R., Tarek, M. H., and Iqbal, M. T. (2018). Understanding phosphorus dynamics in wheat plant and growth response in a split-root system in acidic soil. *Agric. Nat. Resour.* 52, 259–265. doi:10.1016/j.anres.2018.09.006.
- Singh Gahoonia, T., and Nielsen, N. E. (2004). Root traits as tools for creating phosphorus efficient crop varieties. *Plant Soil* 260, 47–57.
- Syers, J. K., Johnston, A.E., Curtin, D., 2008. Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use: Reconciling changing concepts of soil phosphorus behaviour with agronomic information. *FAO bulletin* 18.
- Thuynsma, R., Kleinert, A., Kossmann, J., Valentine, A. J., and Hills, P. N. (2016). The effects of limiting phosphate on photosynthesis and growth of *Lotus japonicus*. *South African J. Bot.* 104, 244–248. doi:10.1016/j.sajb.2016.03.001.
- Vance, C. P., Uhde-Stone, C., and Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol.* 157, 423–447. doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x.
- Veneklaas, E. J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P. M., Lovelock, C. E., Plaxton, W. C., *et al.*, (2012). Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New Phytol.* 195, 306–320. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04190.x.
- Wang, X., Yi, K., Tao, Y., Wang, F., Wu, Z., Jiang, D., *et al.*, (2006). Cytokinin represses phosphate-starvation response through increasing of intracellular phosphate level. *Plant, Cell Environ.* 29, 1924–1935. doi:10.1111/j.1365-3040.2006.01568.x.
- Wissuwa, M., and Ae, N. (2001). Genotypic variation for tolerance to phosphorus deficiency in rice and the potential for its exploitation in rice improvement. *Plant Breed.* 120, 43–48. doi:10.1046/j.1439-0523.2001.00561.x.
- Wissuwa, M., Gamat, G., and Ismail, A. M. (2005). Is root growth under phosphorus deficiency affected by source or sink limitations? *J. Exp. Bot.* 56, 1943–1950. doi:10.1093/jxb/eri189.
- Wu, P., Shou, H., Xu, G., and Lian, X. (2013). Improvement of phosphorus efficiency in rice on the basis of understanding phosphate signaling and homeostasis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16, 205–212. doi:10.1016/j.pbi.2013.03.002.
- Yaseen, M., and Malhi, S. S. (2009). Differential growth response of wheat genotypes to ammonium phosphate and rock phosphate phosphorus sources. *J. Plant Nutr.* 32, 410–432. doi:10.1080/01904160802660735.

Zhang, H., Huang, Y., Ye, X., Shi, L., and Xu, F. (2009). Genotypic differences in phosphorus acquisition and the rhizosphere properties of *Brassica napus* in response to low phosphorus stress. *Plant Soil* 320, 91–102. doi:10.1007/s11104-008-9873-0.

Supplementary Material

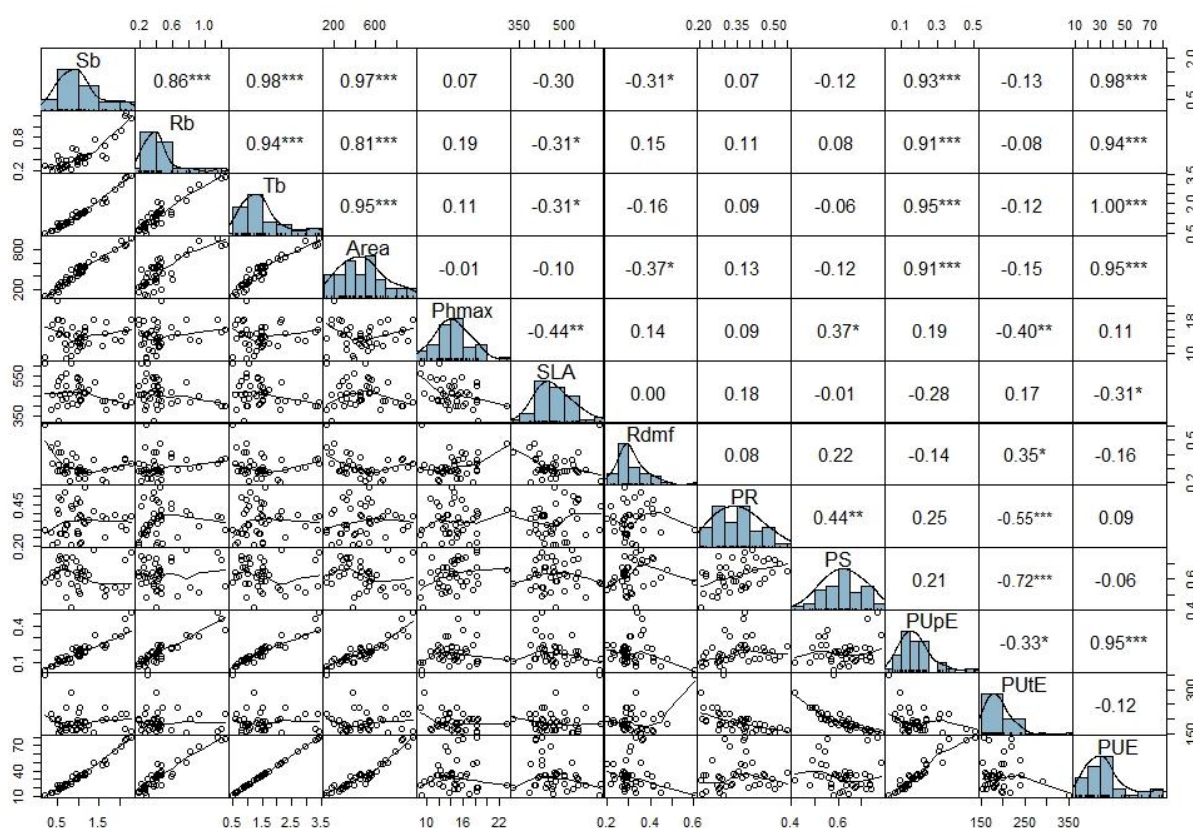


Fig. S1 Correlations among traits measured under high P (1 mM). Values shown present the Pearson correlation coefficient

Asterisks indicate the levels of significance according to the p -value in Pearson correlation test (*, **, *** Significant at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively). Variables abbreviations and units are shown in table 2.

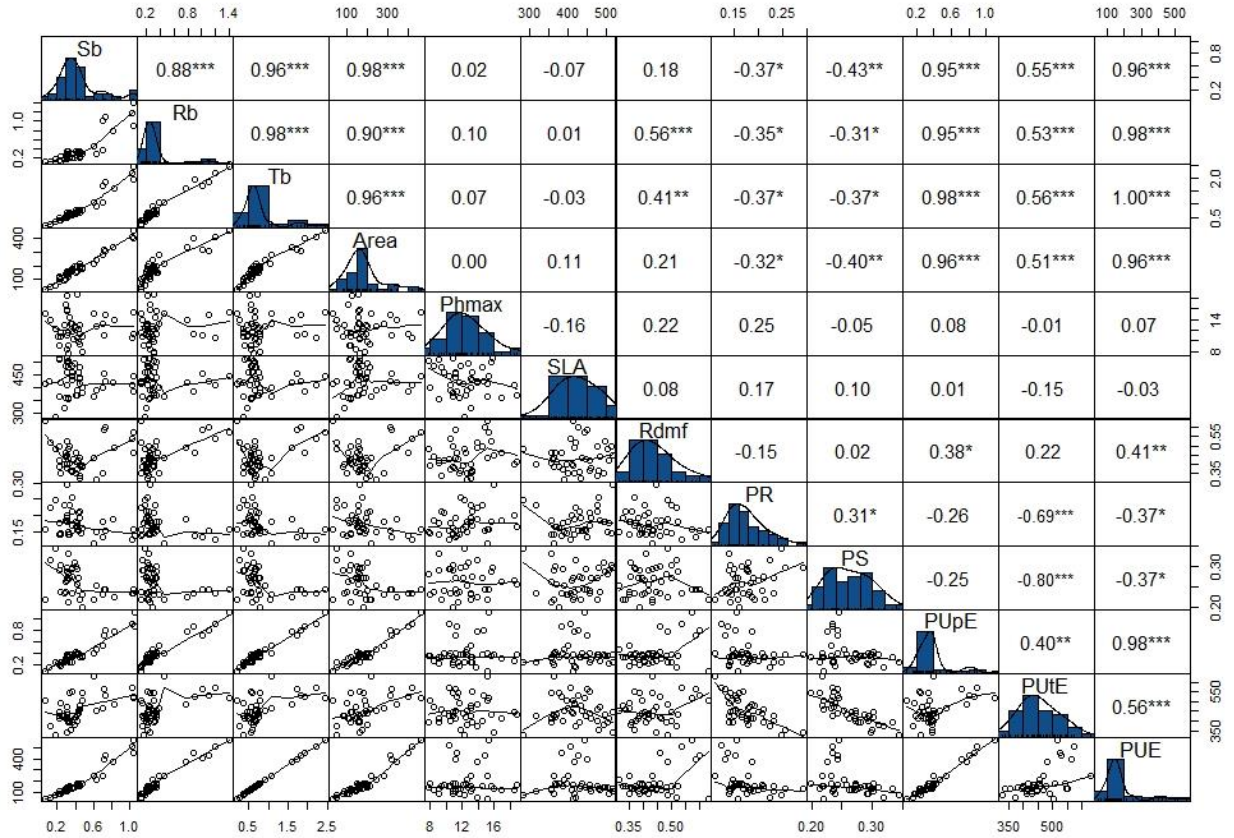


Fig. S2 Correlations among traits measured in low P (0.1 mM). Values shown present the Pearson correlation coefficient

Asterisks indicate the levels of significance according to the p -value in Pearson correlation test (*, **, *** Significant at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively). Variables abbreviations and units are shown in table 2.

**Chapter III: Genetic variation in root architectural traits
in *Lactuca* and their roles in increasing phosphorus-use-
efficiency in response to low phosphorus availability**

Article 2: Genetic variation in root architectural traits in *Lactuca* and their roles in increasing phosphorus-use-efficiency in response to low phosphorus availability
[Published in Frontiers in Plant Science] (Appendix)

Amira Beroueg^{1*}, François Lecompte¹, Alain Mollier², Loïc Pagès¹

1 PSH unit, INRAE, F-84914 Avignon, France

2 ISPA unit, Bordeaux Sciences Agro, INRAE, 33140 Villenave d'Ornon, France

* **Correspondence** : Amira BEROUEG ; amira.beroueg@inrae.fr

Abstract

Low phosphorus (P) bioavailability in the soil and concerns over global P reserves have emphasized the need to cultivate plants that acquire and use P efficiently. Root architecture adaptation to low P can be variable depending on species or even genotypes. To assess the genetic variability of root architectural traits and their responses to low P in the *Lactuca* genus, we examined fourteen genotypes including wild species, ancient and commercial lettuce cultivars at low (LP, 0.1 mmol. L⁻¹) and high P (HP, 1 mmol. L⁻¹). Plants were grown in cylindrical pots adapted for the excavation and observation of root systems, with an inert substrate.

We identified substantial genetic variation in all the investigated root traits, as well as an effect of P availability on these traits, except on the diameter of thinner roots. At low P, the main responses were a decrease in taproot diameter, an increase in taproot dominance over its laterals and an increase in the inter-branch distance. Although the genotype x P treatment effect was limited to root depth, we identified a tradeoff between the capacity to maintain a thick taproot at low P and the dominance of the taproot over its laterals.

Regardless of the P level, the phosphorus-use-efficiency (PUE) varied among lettuce genotypes and was significantly correlated with total root biomass regardless of the P level. As taproot depth and maximum apical diameter were the principal determinants of total root biomass, the relative increase in PUE at low P was observed in genotypes that showed the thickest apical diameters and/or those whose maximal apical diameter was not severely decreased at low P availability. This pre-eminence of the taproot in the adaptation of *Lactuca* genotypes to low P contrasts with other species which rely more on lateral roots to adapt to P stress.

Keywords

Lactuca, phosphorus, root architectural traits, phosphorus-use-efficiency, maximum apical diameter, root biomass, genotypes variations.

Introduction

Phosphorus (P) is an important plant macronutrient and a component in various molecules such as ATP, nucleic acid, phospholipids and phosphoproteins. Phosphorus also plays an important role in an array of processes, including photosynthesis, energy generation, enzyme activation and inactivation (Vance *et al.*, 2003). Plants absorb P through their roots mainly as orthophosphate ions H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} , which can be tightly adsorbed into soil particles, form insoluble complexes with cations, and have poor mobility in the soil solution (Shen *et al.*, 2011). As a consequence, P availability can be limited, which leads to the use of high amounts of mineral P fertilizers by farmers to overcome this limitation and sustain high crop yields. However, P fertilizer recovery is usually low, and an excess of P application following runoff or erosion can foster environmental damage such as water eutrophication (Shen *et al.*, 2011; Sattari *et al.*, 2016). Moreover, P fertilizers mostly derived from phosphate rocks and P is considered a nonrenewable resource whose global reserve may be depleted in the future (Cordell *et al.*, 2009). A more careful exploitation of P is required and one strategy is to increase P efficiency and recovery using plants, including varieties that are able to produce high yields with low P availability (Gahoonia and Nielsen, 2004; Hammond *et al.*, 2009; Van de Wiel *et al.*, 2016). Lettuce, *Lactuca sativa* L., is an important leafy vegetable, that is primarily consumed fresh in salads. As a cash crop that requires intensive labor at planting and harvest, lettuce is mostly cultivated in conventional systems that maximize yield and quality by supplying abundant water and nutrients, including P (Gallardo *et al.*, 1996; Hoque *et al.*, 2010; Kerbirou *et al.*, 2013). Phosphorus-use-efficiency (PUE) is generally defined as the amount of biomass or yield per unit of applied P (g dry mass/ g applied P). PUE can be separated into the product of uptake efficiency (PU_pE) (g P / g applied P) and utilization efficiency (PU_tE) (g dry mass / g P). PU_pE is based on the ratio of P uptake in plants to the amount of P applied, and PU_tE represents the production of plant biomass per unit P accumulated in the plant (Gourley *et al.*, 1994).

The intensity of plant responses to low P availability varies among and within species (Abdolzadeh *et al.*, 2010; Balemi, 2010; Rose and Wissuwa, 2012). Intraspecific variations of PUE and its components have been observed in many species such as rice (Vejchasarn *et al.*, 2016), wheat (Bilal *et al.*, 2018), barley (Wang *et al.*, 2015), maize (Parentoni and De Souza Júnior, 2008), potato (Wacker-Fester *et al.*, 2019) and the common bean (da Silva *et al.*, 2014). A common pattern is an increase in PUE and its components (PU_pE and PU_tE) under P deficiency, which is made possible by several adaptive mechanisms. Plants can adapt to low P

via several physiological mechanisms and higher exudation of organic acids and enzymes, such as phosphatases and phytases, is commonly observed to facilitate the solubilization of P complexes and organic P in the rhizosphere (Balemi and Negisho, 2012 ; Minemba *et al.*, 2019). Plants can also improve P uptake through symbiotic associations with mycorrhizal fungi, whose hyphae increase the soil volume that can be explored (Campos *et al.*, 2018). Plants may also improve P utilization by recycling internal P, remobilizing P from mature to young developing organs and reprioritizing metabolic P utilization in plants (Veneklaas *et al.*, 2012; Irfan *et al.*, 2020).

In response to low P, plants also adapt their function, such as carbon assimilation and allocation. A common feature is the increase in the root/shoot ratio under P deficiency and then an increased allocation of carbohydrates to the root system (Zhou *et al.*, 2016; De Souza Campos *et al.*, 2019). For example, tomato plants are able to recapture the carbon lost from root exudates, such as citrate and malate, to increase the translocation of carbon to shoots (Tiziani *et al.*, 2020).

Plants with larger root systems have access to a greater soil volume and may recover more P (Lynch and Brown, 2008). Increased P acquisition can also be achieved by altering root morphology and architecture. The root system architecture, as the length, direction and spatial distribution of roots, is highly plastic and varies according to the genotype and environmental conditions (Lynch and Brown, 2008).

In many soils, P tends to be more available in the topsoil; therefore, in cases of P deficiency plants prefer a shallow root system that grows outward rather than downward. This “topsoil foraging” strategy is well observed in common bean (Ramaekers *et al.*, 2010). The architectural traits associated with this topsoil exploration are the growth angle of basal roots, the dispersion of basal root lateral branching and the production of adventitious roots (Bonser *et al.*, 1996; Lynch, 2007; Niu *et al.*, 2013). Another widespread adaptation to low P is the modification of root hair length and density (Gahoonia and Nielsen, 1998; Brown *et al.*, 2012).

In *Arabidopsis*, low P availability induced a highly branched root system with reduced primary root growth (López-Bucio *et al.*, 2003). In lentils, P deficiency caused a significant increase in total root length and lateral root number (Sarker and Karmoker, 2009). However, such responses are not universal and the lateral root density has been shown to decrease under low P availability in several plant species such as rice (Vejchasarn *et al.*, 2016) and the common bean (Borch *et al.*, 1999). Such apparent discrepancies among root trait responses to low P could be explained by the phenotyping method, the intensity of P stress and other environmental conditions and/or the genetic material used.

Global, cumulative, or average root traits, such as total root length, root number, or average diameter, are not well suited to study the developmental path by which a plant adapts to nutrient deficiency. In addition, complex variables, such as specific root length, which aggregates information on the length, diameter, and density of a root, are also parameters not easy to interpret. Traits directly related to developmental processes should preferably be registered. If contrasting root architectural responses can be observed between different genera, less information is available regarding intraspecific or intragenus variability. In lettuce, although data on PUE are available (Buso and Bliss, 1988; Neocleous and Savvas, 2019), information on genetic variability is scarce, and to our knowledge, no information has been published regarding the plasticity of lettuce root system architecture in response to P nutrition and its impact on P acquisition.

This study aimed to characterize the intragenus variability of root system adaptation to variable P availability in *Lactuca*. We examined a panel of 14 *Lactuca* genotypes belonging to old and modern cultivars as well as wild-associated species. Traits reflecting the developmental process of the root system, including root elongation, root diameter and branching density, were observed. Six root traits were considered, and Pagès and Kervella (2018) indicated that they summarize the essential root architecture traits connected to the exploration and exploitation capacities of the root system.

The specific aims of this work were to (1) assess the genetic variability of root trait architecture under low- and high-P conditions, (2) investigate the range of plasticity of each trait and (3) evaluate their contribution to the PUE and its components.

Materials and methods

Plant material

Fourteen *Lactuca* genotypes were selected to represent diverse geographic origins and aerial phenotypes, which will likely present variability in the root system architecture. Wild species and ancient and modern genotypes of different lettuce types were selected (Table 1).

Table 1: Species, type, genotype name and origin of the lettuce used in this study.

No.	species	Type	Name of cultivar	Origin
1	<i>L. serriola</i>	Wild	LS367	Public domain
2	<i>L. saligna</i>	Wild	CR17	Public domain
3	<i>L. sativa</i>	Wild	PI251245	Public domain
4	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Nenufar	Seed company (Vilmorin)
5	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Bourguignonne	Public domain
6	<i>L. sativa</i>	Loose-leaf	Kilervi	Seed company (Rijk Zwaan)
7	<i>L. sativa</i>	Loose-leaf	Feuille de chêne blonde	Public domain
8	<i>L. sativa</i>	Romaine	Blonde lente à monter	Public domain
9	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Green Mignonette	Public domain
10	<i>L. sativa</i>	Crisphead	De Pierre Bénite	Public domain
11	<i>L. sativa</i>	Crisphead	Ferega	Seed company (Enza Zaden)
12	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Joviale	Seed company (Gautier)
13	<i>L. sativa</i>	Romaine	Socca	Seed company (Gautier)
14	<i>L. sativa</i>	Stem lettuce	Red Orient	Public domain

Experimental design

The experiment was carried out under a plastic tunnel at the national research institute for agriculture, food and the environment (INRAE) in Avignon, France, from October to November 2018. Seeds were sown in a rock wool cell placed in a growth chamber at 20/17°C day/night and 85 % relative humidity. Ten days after seeding, uniform plantlets were transplanted in the tunnel into cylindrical PVC tubes (1 m in height and 10 cm diameter) in a grid that allowed drainage at the bottom. The substrate was a P-inert 1:1(V/V) mixture of vermiculite and river sand. A total of 84 tubes, each containing one plant, were set up, thus

corresponding to three biological replications for each variety and two P treatments.

Water and fertilizers were supplied using a drip system controlled by a programmer. The substrate water content was controlled using soil moisture sensors (EC-5 Decagon, three per block placed in randomly selected tubes) and maintained close to field capacity throughout the experiment.

During the first week, all the plants were fertirrigated with a nutrient solution at a low P concentration (0.1 mmol. L^{-1} of P supplied with KH_2PO_4^-). After one week, the P-treatments started with half of the tubes supplied with a low P nutrient solution (LP, 0.1 mmol. L^{-1} of KH_2PO_4^-) and the other half with a high P nutrient solution (HP, 1 mmol. L^{-1} of KH_2PO_4^-). In LP, KNO_3 , NH_4NO_3 and KH_2PO_4 concentrations of $10.9 \text{ mmol. L}^{-1}$, 0.1 mmol. L^{-1} and 0.1 mmol. L^{-1} were applied, respectively, and in the HP treatment, KNO_3 , NH_4NO_3 and KH_2PO_4 concentrations of 10 mmol. L^{-1} , 1 mmol. L^{-1} , and 1 mmol. L^{-1} were applied, respectively. The slight increase in the NH_4^+ concentration under HP should not have affected plant development and only had a marginal impact on solution Ec; NO_3^- -N was not limiting at a concentration of 11 mmol. L^{-1} in both treatments (Lecompte *et al.*, 2013), and the $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio of 110 and 11 in the LP and HP treatments, respectively, was well above the levels at which the plant might show sensitivity to NH_4^+ as a source of N. Other macronutrients were kept constant in the two nutrients solutions, i.e., 3.5 Mg^{2+} ; 3.25 Ca^{2+} and 2.5 SO_4^{2-} (in mmol. L^{-1}), and micronutrients were also kept constant, i.e., 0.5 B , 0.02 Cu^{2+} , 8.2 Fe^{2+} , 0.5 Mn^{2+} , 0.01 MoO_4^{2-} and 0.1 Zn^{2+} (in $\mu\text{mol. L}^{-1}$).

Plants were grown for three weeks with these different nutrient solutions. All the plants, regardless of the genotype and P treatment, received the same amount of water required to maintain substrate water content during growth. Thus, total P supply was the product of P concentration in the nutrient solutions by the amount of irrigation water, and at harvest, the plants had received 43 mg and 4.3 mg of P in the HP and LP treatments, respectively.

Root extraction

At the end of the third week after the onset of P treatments, the taproot had almost reached the bottom of the tube and the plants were harvested. Each plant was carefully removed, first by submerging the tube in water-filled containers and then by gently tapping the tube, which was held at a 45° angle. The roots were separated from the substrate by washing above a sieve to prevent fine root loss. The nature of the substrate made it possible to separate the root system without causing damage. The aerial part of the plants was separated from the root systems and then weighed. Root and shoot sub-samples were dried in an oven at 75°C during

72h to calculate their dry mass.

Root sampling and scanning

Lettuce and wild-associated species have a root system organized around a taproot that grows downward. At harvest, older lateral roots may reach similar diameters and lengths to those of the taproot. Two regions of the root system were sampled to assess the different root traits (Figure 1): the lower part of the taproot in the distal zone and the basal zone, which provides information on fine roots. Fine roots are lateral roots of the highest branching order (usually 4th). Individual root samples of each plant were collected (total: 168 root samples) and scanned at 3200 dpi (EPSON V750) in transparent mode. Scanned images were analyzed later with ImageJ software (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) to measure the root architectural traits.

Root trait measurements

At harvest, taproot depth (depth) was measured directly on the root using a ruler. This trait represents the maximum length reached by the taproot. The other root traits were measured on the images of the scanned samples using the measuring tools provided by the ImageJ software. Interbranch distance (ibd) was calculated as the average of forty-five measurements along the taproot in the distal zone starting from the first distal lateral root (Figure 1).

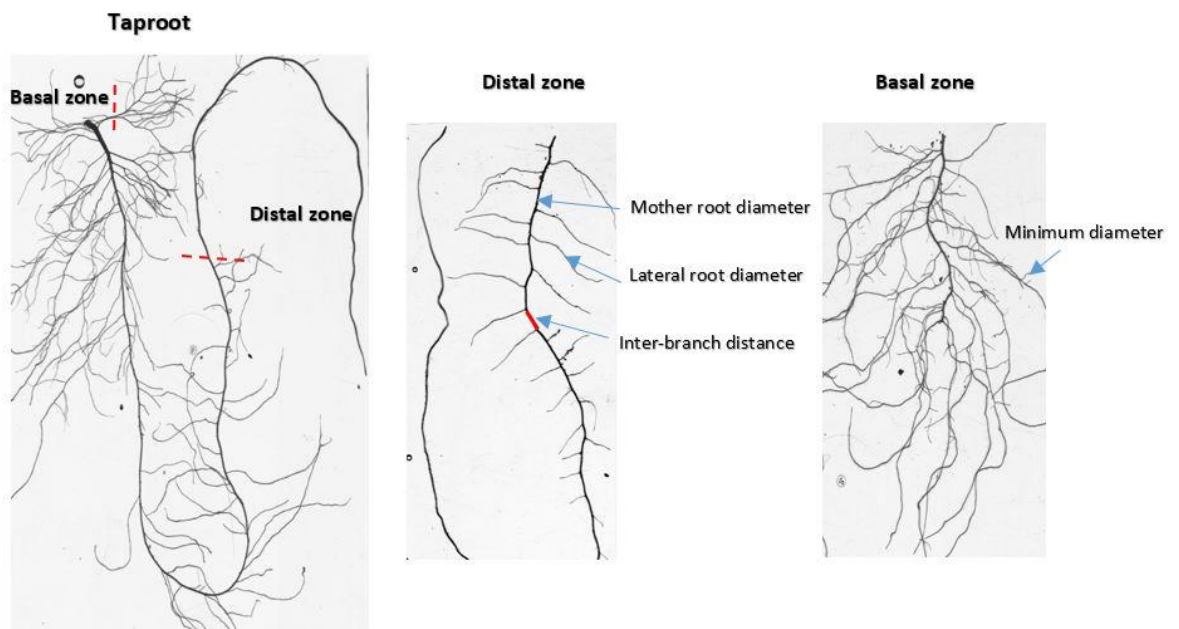


Figure 1. Images of scanned root systems illustrating the sampling zones and the positions of measurements carried out inside the root architecture.

The minimal diameter (d_{min}) was calculated as the average of thirty measurements performed on higher order lateral roots in the basal zone. The diameter is known to vary along the root axis (Wu *et al.*, 2016). The maximal apical diameter (d_{max}) was computed as the 90th quantile in a distribution of diameters along the taproot in the distal zone. One value per plant was calculated.

The slope of the linear regression of lateral root diameters by their mother root (taproot) diameter (DID_m) was calculated for each plant based on forty-five measurements of diameters made of the mother root in the distal zone and its daughter roots, which are the first-order lateral roots. The line was forced to pass through the point of coordinates (d_{min} , d_{min}). A low DID_m reveals a high dominance of the taproot on the first-order laterals. Elongation activity ($elong$) provides information on the actual depth reached by a root of a given diameter during the experiment, and it is calculated for each plant as the ratio of depth by d_{max} and by the number of days since transplantation. Traits were calculated for each plant in the two treatments. Means for each genotype in the two P treatments were used to compute a relative response for assessing the phenotypical plasticity of the different traits:

$$R_{trait} (\%) = 100 * [(trait \text{ value under LP}) - (trait \text{ value under HP})] / (trait \text{ value under HP})$$

P content and efficiency

Dried plant tissues were ground into fine powder to measure the P concentration in the shoots and roots with a portable X-ray fluorescence spectrometer (XRF, S1 TITAN, Bruker Germany). This analyzer determines elemental concentrations by measuring the secondary fluorescent X-ray emitted by the collection upon excitation (Reidinger *et al.*, 2012). XRF analysis calibrations were performed by comparison using the inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICLPMS) method as a reference (Jenner *et al.*, 1990). This calibration was carried out during a preliminary test and conducted on 25 samples in total, i.e., 15 leaf samples and 10 root samples. Although the correlation between the XRF and ICP measurements was satisfactory ($p < 0.001$, $R^2 = 0.93$), the slope differed from 1. Therefore, a correction of the XRF dosage was uniformly applied to the whole data set presented here according to the linear adjustment.

PUE and its components were defined as:

$$PU_pE = P \text{ absorbed (mg)} / P \text{ applied (mg)}.$$

$$PU_tE = \text{total dry mass (mg)} / P \text{ absorbed (mg)}.$$

$$PUE \text{ was calculated as } PU_pE \times PU_tE \text{ (mg total dry mass / mg P applied).}$$

Statistical analysis

All statistical analyses were performed using R software (<https://www.R-project.org/>). Two-way analyses of variance (ANOVA) were performed to analyze the effects of the genotype (G), P level and their interactions (G x P) on the root traits. Means for each genotype were compared with Tukey's test. The coefficient of variation (CV) is provided to describe the genetic variability for each trait in the LP and HP treatments. To provide additional information about the impacts of the treatments for each genotype, values in the HP and LP treatments were compared with a Wilcoxon-Mann-Whitney nonparametric test at a significance threshold of $p=0.01$ because of the limited number of biological replicates.

To summarize the information regarding the response to low P and evaluate the association between traits, a principal component analysis (PCA) was performed, with the relative traits as variables. Correlations among the different variables were obtained by the r Pearson correlation coefficient. A second group of PCAs was performed to link root traits to PUE and its components under HP and LP.

Results

Genetic variation of the response of traits to P availability

Two-way ANOVAs was carried out for each trait, and revealed an effect of genotype and P treatment on all the traits except d_{min} , which was not affected by P stress. Moreover, the genotype x P treatment interaction were not significant except for depth (Figure 2A). The results of Wilcoxon tests for the P effect on each individual genotype are given in Figure 2. Taproot depth at the time of excavation varied between 72 and 98 cm under HP (CV=9.04%) and 58 and 10 cm under LP (CV=16%). Depth was reduced by 8% on average under LP compared to HP; however, a strong genotype x P interaction was observed. Genotypes G9 (old butterhead cultivar), G11 (modern crisphead cultivar) and G12 (old crisphead cultivar) showed the strongest reduction in depth under LP (-28%, -15%, -25% respectively), while for the other genotypes, the root depth was more moderately reduced (G4, G5, G6, G7, G8) or did not change significantly (G1, G2, G3, G10, G13, G14) (Figure 2A).

D_{max} ranged between 0.83 and 1.15 mm under HP (CV 10.77%) and between 0.66 and 1.01 mm under LP (CV 12.28%) (Figure 2B). Stem lettuce (G14) and wild *L. sativa* (G3) produced the thickest taproots, while genotypes G2 (*L. saligna*) and G9 (old butterhead cultivar) had the thinnest taproots. D_{max} was reduced by 13% on average under LP compared to HP, although the Wilcoxon test for P treatment was not significant for the four genotypes.

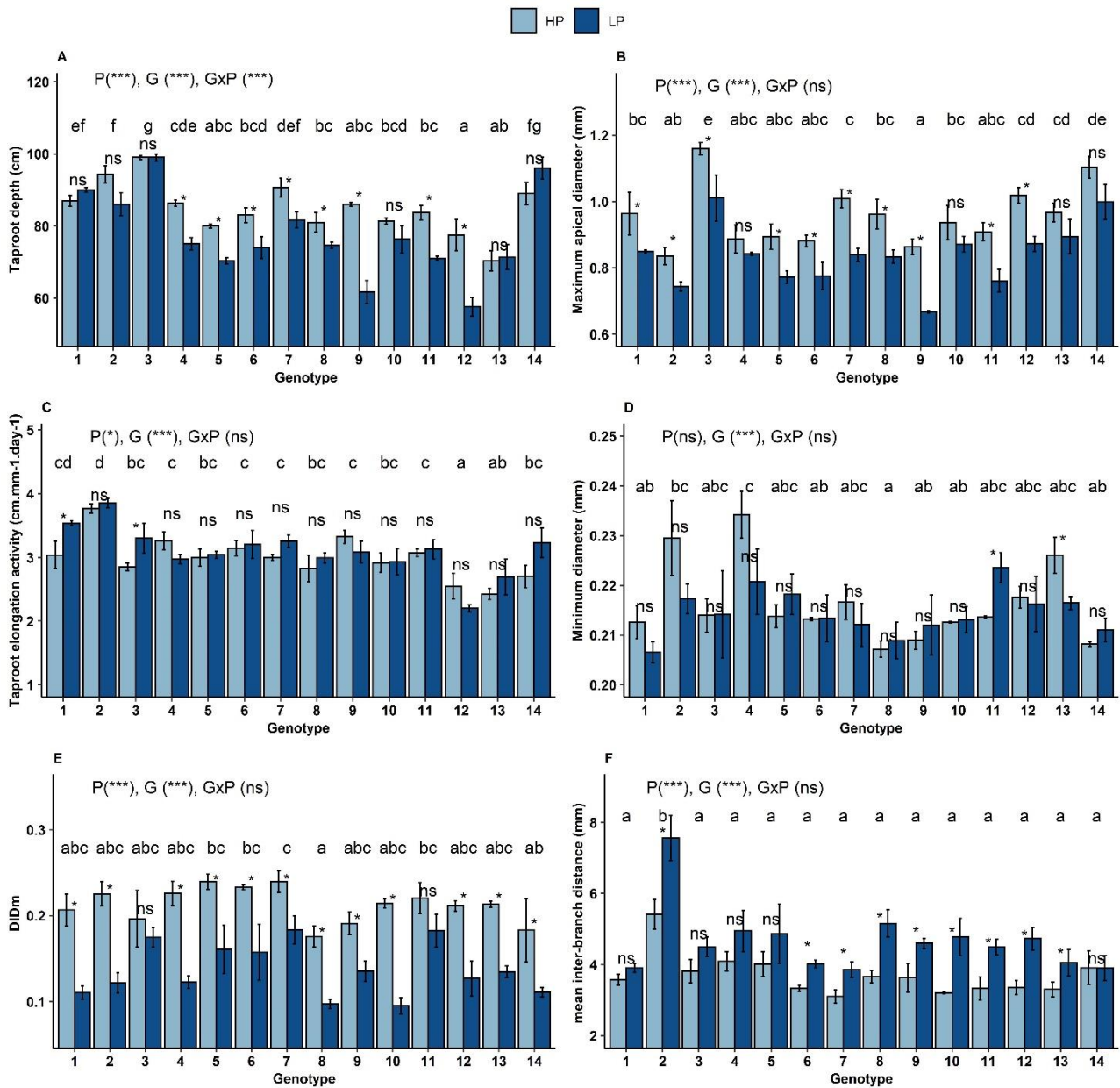


Figure 2. Mean ($\pm$ standard error) value of the root architecture traits for 14 Lactuca genotypes grown at sufficient (HP) and limiting (LP) P availability: taproot depth (A), maximum apical diameter (B), taproot elongation activity (C), minimum diameter (D), linear regression slope of lateral root diameters by mother root diameter (DIDm) (E), and inter-branch distance (F). Each bar is the mean of three replications (corresponding to three plant per genotype).

The significance of the p -value for each factor P , genotype, and genotype $\times$ P interaction is indicated for each trait (*: $p<0.05$; ***: $p<0.001$; ns: not significant). Different letters are used to indicate means that differ significantly (Tukey's HSD, $p=0.05$). Asterisk (*) indicates a significant difference between P conditions in the same cultivar using a Wilcoxon test (*: $p<0.1$; ns: not significant).

For elong, regardless of the P treatment, the wild genotypes G1 and G2 showed the highest elongation potential and genotypes G12 and G13 showed the lowest elongation potential (Figure 2C). Elong increased slightly under LP by 5% compared to HP ($p=0.04$), with the same range of variability among genotypes (CV of 14% under LP and 13% under HP).

Dmin was the trait that showed the least variation between genotypes (CV of 4.21% in HP and 3.69% in LP). Only two genotypes, G11 and G13, showed a significant increase or decrease in dmin under LP, respectively (Figure 2D).

DlDm was reduced under LP by 45% on average, indicating a stronger dominance of the taproot under LP (Figure 2E). The decrease in dmax was lower than that of DlDm, which also indicates that for most of the genotypes, the diameter of first-order lateral roots showed a strong decrease. Genotypic variation in DlDm was approximately twice as high under LP as under HP (27.44% vs 14.90%).

Ibd ranged from 3.85 to 7.55 mm under LP (CV 35%), and from 3 to 5.41 mm under HP (CV 23.47%) (Figure 2F). Genotype G2 (*L. serriola*) showed a higher ibd than the other genotypes. Ibd increased by 23% on average under LP compared to HP, although this increase was significant in only 9 genotypes out of the 14 studied.

Relationship between root architecture traits in response to low P

The two principal components (PCs) extracted by the PCA accounted for 76.8% of the variance (Figure 3), and the third component accounted for 11% and is not shown. Relative taproot depth (Rdepth) was strongly associated with component 1, while relative taproot dominance (RdlDm) and relative minimum diameter (Rdmin) were associated with component 2. Relative taproot elongation activity (Relong), Relative maximum diameter (Rdmax) and Relative inter-branch distance (Ribd) were associated with both components.

Correlations among relative responses of root traits to low P are given in supplementary Table S1. Relong was positively correlated with Rdepth ($r=0.91$, $p<0.001$) (Supplementary Table S1), which is due to the calculation method of elong as the ratio of depth/ ($d_{\max} \times \text{time}$). A positive correlation was also observed between Rdmax and Rdepth ($r=0.57$, $p<0.01$). Dmax and depth were correlated under LP ($r=0.52$, Supplementary fig S1) but not under HP ($r=0.19$). Genotypes that showed the highest reduction in dmax at low P availability also showed strong reductions on their depth.

Depth and ibd were positively correlated in the HP group ($r=0.35$, $p<0.05$) but not in the LP group ($r=-0.03$). The PCA plot showed that Rdepth and Ribd were opposite in both component 1 and component 2 (Figure 3) and thus were negatively correlated ($r=-0.52$, $p<0.01$,

Supplementary Table S1).

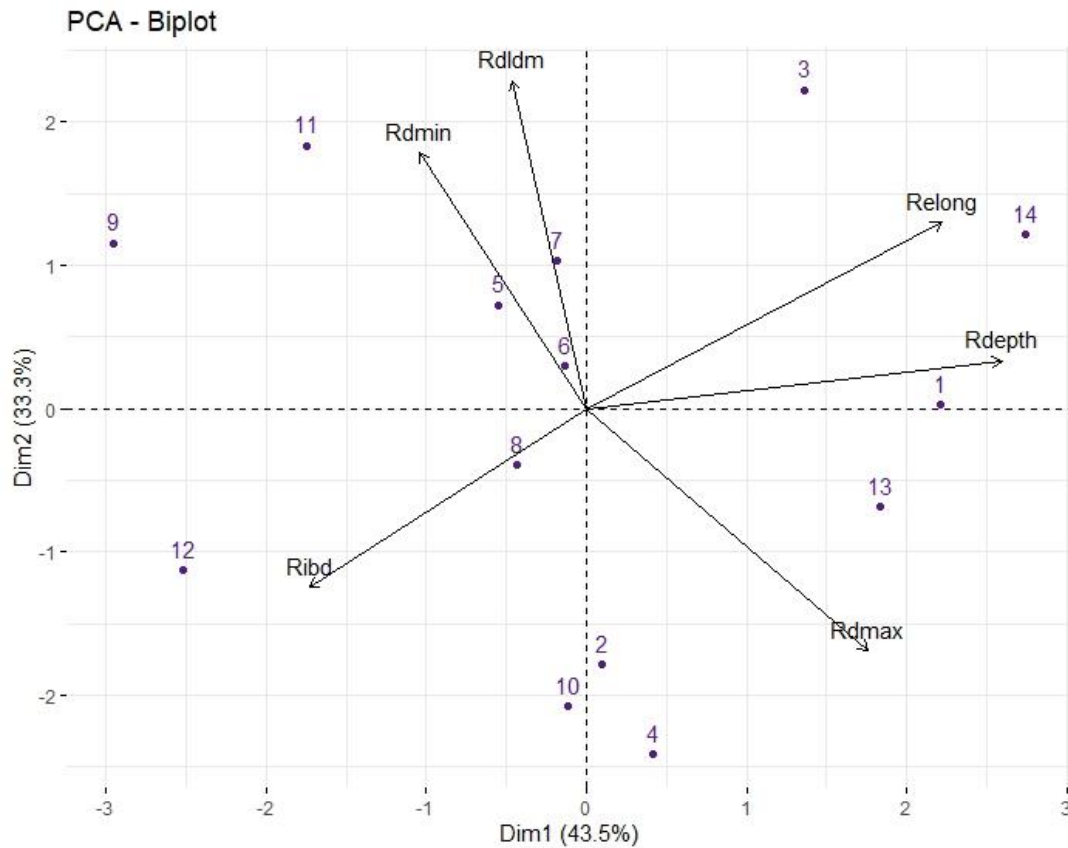


Figure 3. Principal component analysis (PCA) of six root traits for 14 *Lactuca* genotypes in response to low P: Rdepth, relative taproot depth; Rdmax, relative maximum apical diameter; Rdmin, relative minimum diameter; RDldm, relative dominance between the mother and lateral root diameters; Relong, relative taproot elongation activity.

Values are the means of the relative response calculated using the mean for each genotype in the two P treatments. The fourteen genotypes were identified by their numbers, as given in Table 1.

This finding indicates that in response to low P, some genotypes maintained the depth of their main roots and did not greatly increase the distance between their lateral roots (G1, G3, G13, G14) while others (e.g., G10, G12) tended to decrease the elongation of their main roots while at the same time increasing the distance between lateral roots (Supplementary Figure S1A). We also observed a negative correlation between the relative DIDm (RDldm) and Rdmax ($r=-0.56$, $p<0.05$): the genotypes for which dmax responded weakly to low P, such as G4, G10, G13 and G14, showed a strong decrease in DIDm, and vice versa (Supplementary Figure S1B).

Root traits associated with PUE

The PUE value ranged from 16.27 gDM/gP to 69.92 gDM/gP under HP and 61.24 gDM/gP to 455.04 gDM/gP under LP (Supplementary Table S2). In both treatments, genotypes G3 (wild *L. sativa*) (455.03 gDM/gP and 68.83 gDM/gP under LP and HP, respectively) and G14 (stem lettuce) (454.26 gDM/gP and 69.92 gDM/gP under LP and HP, respectively) were the most efficient. To assess which traits were the most important determinants of PUE, a PCA was conducted on both treatments. Three components accounted for 82% of the variability in both cases (Figure 4).

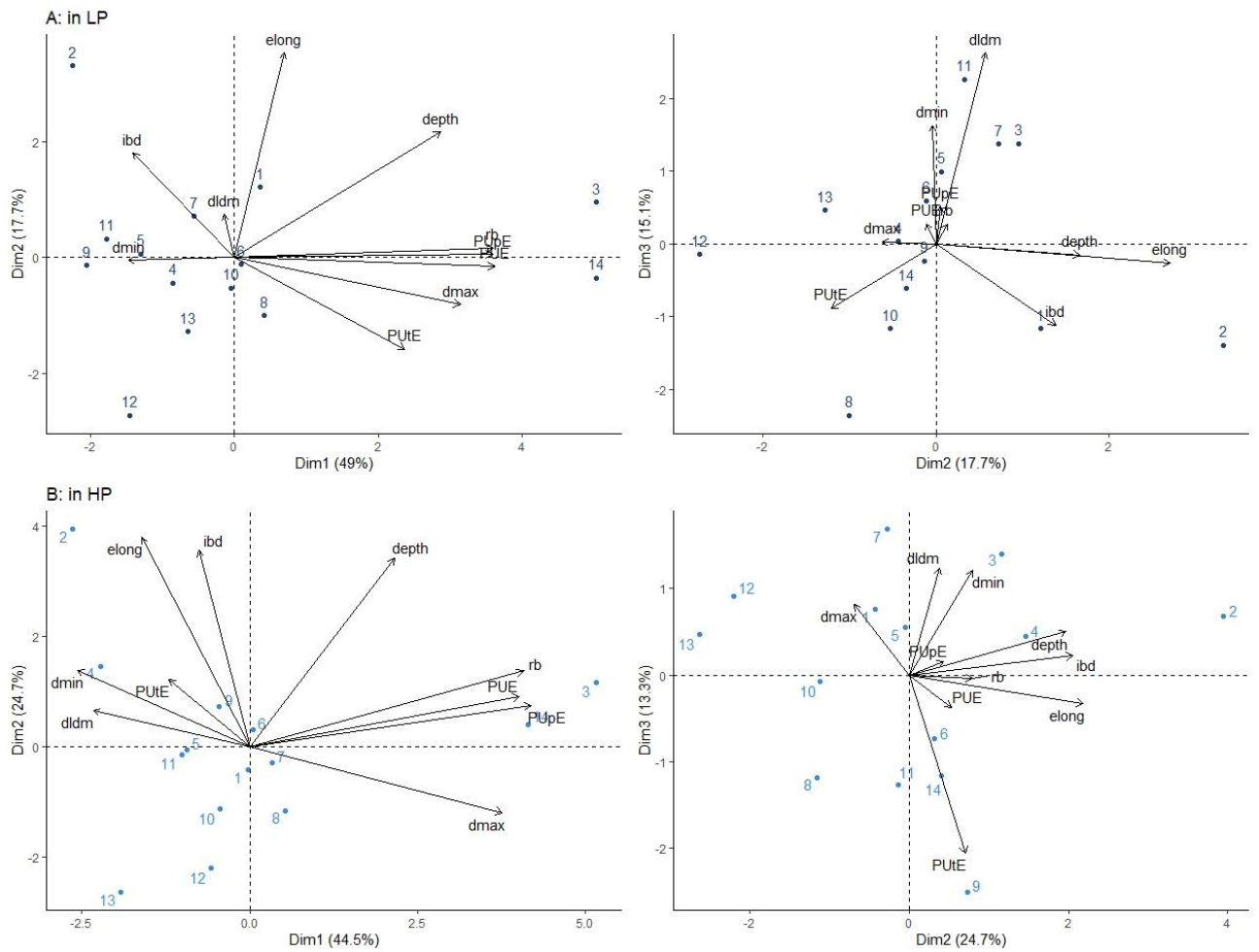


Figure 4. Principal component analysis (PCA) of root traits for 14 *Lactuca* genotypes located on the plane by components 1, 2 and 3 under LP (A) and HP (B): rb: root biomass; depth, taproot depth; dmax, maximum apical diameter; dmin, minimum diameter; Dldm, dominance between the mother and lateral root diameters; elong, taproot elongation activity; and ibd: interbranch distance.

Values shown represent the mean of three replicates in both the LP and HP treatments. See Table 1 for the genotype names.

Similar to the LP treatment, PUE was very strongly associated with root dry mass along the first component in the HP treatment (Figure 4). This finding was confirmed by very high coefficients of correlation between the two variables: $r=0.93$, $p<0.001$ under HP and $r=0.98$, $p<0.001$ under LP. PUpE was also strongly associated with PUE, while PUE was only correlated with PUE under LP. Two root traits, depth and dmax, were also associated with PUE, PUpE and root dry mass along the first component. In contrast, traits describing taproot dominance (DIDm), branching density (ibd) or thin root diameters (dmin) were not associated with PUE in either treatment.

The relative increase in PUE under LP compared to HP (RPUE) showed large variations between genotypes and ranged from 222% (G2, *L. saligna*) to 747% (G13, a modern Romaine lettuce), And RPUE was linearly associated with dmax under LP (Figure 5).

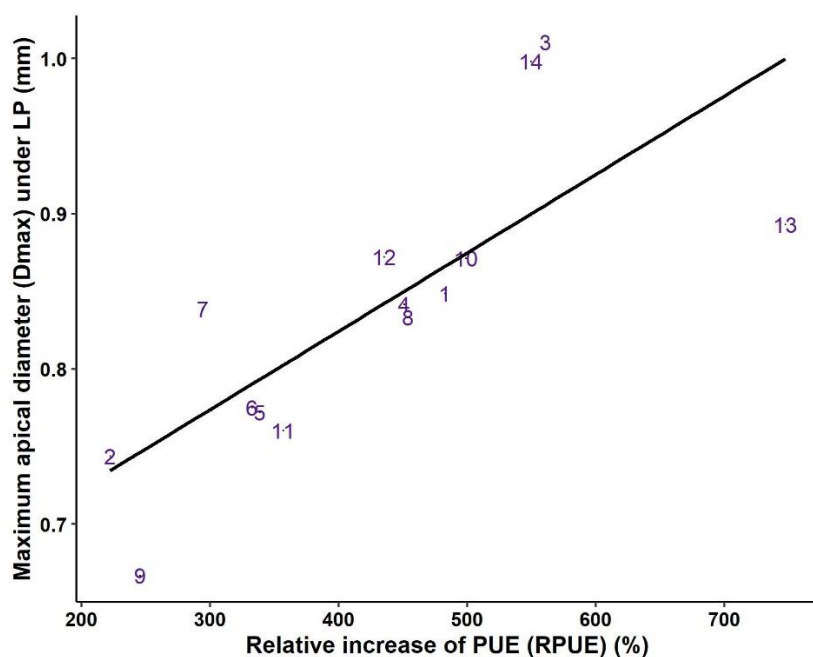


Figure 5. Relationship between the relative increase in P-use efficiency (RPUE) and maximum apical diameter (dmax) under low P availability ($r=0.76$, $p<0.01$).

Values are the means of the relative response calculated using the mean for each genotype in the two P treatments. The fourteen genotypes are identified by their numbers, as given in Table 1.

Indeed, the highest values of RPUE were observed in genotypes with very large taproots (G3, G14), or in genotypes for which the decrease in dmax under LP was limited (G13). Accordingly, the lowest RPUE values were observed in genotypes with thin taproots and/or

genotypes for which dmax was strongly reduced under LP (G2, G7, and G9) (Figure 5).

This result emphasizes the importance of the maintenance of thick roots in *Lactuca* genotypes at low P availability to sustain root biomass and increase PUE.

Discussion

The response of root system architectures to P deficiency may show differences beyond general tendencies and manifest variation between genera and species, or even within species. In this study, we investigated common patterns and specificities among a range of genotypes of *Lactuca* to identify the main architectural traits related to phosphorus-use-efficiency. Although the number of genotypes examined was limited to fourteen, this collection was sufficient to show substantial genetic variability for each trait and made it possible to estimate the range of responses to low P availability for each of these traits. The results emphasize the role of thick roots in the root system in such an adaptation and the increase in PUE at low P.

Genetic variation of the root architecture traits in *Lactuca*

Six root traits were investigated: depth, dmax, elong, dmin, DIDm and ibd. These traits form useful descriptors of the root system architecture and its variability and they can summarize the developmental processes (e.g. elongation and branching) as well as the developmental characteristics (e.g. distribution of the root diameters) of roots, as previously shown in other studies that focus on intra- and interspecific root diversity (Pagès, 2014; Pagès and Picon-Cochard, 2014 ; Bui *et al.*, 2015 ; Moreau *et al.*, 2017; Salinier *et al.*, 2019). These variables can also be used in modeling approaches such as the one proposed in the Archisimple model, which was elaborated by (Pagès *et al.*, 2014).

Significant genetic variations were observed for all the different traits, and the magnitude of variations differed across the root traits. The genetic variability of depth and elong, which are correlated by construction, was not very important, although wild genotypes (G1, G2 and G3) to show a slightly greater depth and taproot elongation activity than the other *L. sativa* genotypes.

In a range of 45 species of dicots, Pagès (2014) observed a 4 to 5-fold variation of dmax ranging between 0.29 and 1.30 mm, and dmin ranging between 0.063 and 0.33 mm, depending on the species. According to Li *et al.* (2018), the average diameter in lettuce was approximately 0.5 mm. In our study, we characterized the variation in diameter by Dmax and Dmin. The values observed at high P availability, which ranged from 0.86 mm to 1.15 mm for dmax and 0.2 mm to 0.24 mm for dmin, fell within these limits. For dmax, the stem lettuce (G14) and the wild *L. sativa* (G3) produced thick taproots. For Dmin, low genetic variability was observed and the

thinnest lateral roots occurred for either the wild, old or modern genotypes.

The values of ibd reported in this work are within the range of values observed for 60 species, including some belonging to the Asteraceae family (Pagès and Kervella, 2018). In another study on lettuce, the interbranch distance varied between 2.5 mm and 4 mm in *L. sativa* and *L. serriola* (Jackson, 1995), which corresponded to the values observed here. There was no significant difference among genotypes for ibd except for *L. saligna* (G2), which showed the highest ibd, i.e., the lowest branching density.

DIDm defines the rate of diameter transition from the mother root to its laterals. A low value of DIDm denotes a high dominance of the taproot on first-order lateral roots. The values reported in this work correspond to those observed in the study of Pagès and Kervella (2018). The ancient romaine cultivar (G8) showed a low value of DIDm, i.e., a high dominance of the taproot.

Overall, a systematic pattern that could hierarchize the genotypes according to their varietal type or origin (ancient or modern) was not observed. However, wild genotypes sometimes showed some particularities, such as in depth, elong, dmax and ibd.

Effect of P treatment on root architectural traits

The analysis of the response of roots revealed a significant effect of P availability on all traits except dmin. General trends in response to P deficiency can be deduced from the absence of significant G x P interaction, except for depth.

P stress reduced the taproot depth, but the extent of reduction varied among genotypes (ranging from -11% to -55%). Butterhead cultivars (G4, G5, 9 and G12) showed the most pronounced reductions. In contrast, the root depths of wild species (G1, G2, and G3) were not significantly affected by low P. Whether or not this reveals a trend for wild species in natural soils to adapt to a large range of P availability requires further investigation. In a large collection of mungbean genotypes (153 genotypes), Reddy *et al.* (2020) showed an increase in primary root length under low P. Sarker and Karmoker (2009) showed the same result in lentils and observed that increased root meristem volume was associated with an increase in root length under P-deficient conditions.

In this study, low P availability resulted in a reduction in dmax but did not affect dmin, indicating a reduction in the diameter range within the root system, and a shift towards lower diameters. Similarly, P deficiency decreased the average root diameter in beans (Beebe *et al.*, 2006) and in oat (Zebrowska *et al.*, 2017). Many papers have shown an increase in specific root length (SRL, the root length per unit mass) under P deficiency (Zhu and Lynch, 2004 ; Lynch

and Brown, 2008), and it was associated with a decrease in root diameter (Lambers *et al.*, 2006). However, contradictory observations were made on *Arabidopsis thaliana* L. (Heynh) where larger root diameters measured in the third apical segment were observed under low P (Ma *et al.*, 2001).

Phenotypic plasticity was more pronounced for the traits relative to that of the branching pattern and dominance of the taproot, and ibd and DIDm were the most affected variables. DIDm was the most sensitive trait in response to P shortage and decreased by 45% in LP as compared to HP. Since dmax was reduced by only 13% on average, the lateral root diameters were more strongly affected than the taproot diameters. Lateral roots play an important role in P acquisition by increasing soil exploration and exploitation. As previously stated, the effects of P on the proliferation and growth of lateral roots seem to depend on the species (Borch *et al.*, 1999; Mollier and Pellerin, 1999 ; Williamson *et al.*, 2001; López-Bucio *et al.*, 2002 ; Reymond *et al.* 2006). To our knowledge, no information has been previously published about the effect of P stress on lateral root density in lettuce. Here we measured an increase in ibd in lettuce under LP, i.e. a decrease in lateral root density. Similar results were observed in rice (Vejchasarn *et al.*, 2016) and common bean (Borch *et al.*, 1999).

In a previous study, we showed that the P deficiency imposed in this experimental set-up limited maximum photosynthesis and leaf area and thus the availability of carbon (C) for growth. Accordingly, the root biomass under LP was reduced in comparison to that under HP. The construction of fewer and thinner lateral roots, as observed in this study in response to low P, requires lower C. Since the growth and diameter of the taproot are less affected, it can be hypothesized that the reduction in C demand of the lateral root system allows the allocation of more of the remaining carbohydrates to the taproot. These results suggest that under P deficiency, lettuce genotypes maintain the extension of the taproot as much as possible to the detriment of the lateral root system. This adaptation was observed in a more or less pronounced way in all the genotypes studied. However, despite the absence of the genotype x P interaction, in the overall analysis of variance, we observed some genetic variability. We observed a correlation between RDIDm and Rdmax (Supplementary Figure S1B), which indicates a trade-off between the maintenance of a thick taproot and taproot dominance in response to low P. Some genotypes maintained a thick taproot associated with increased taproot dominance, while for other genotypes, reductions in diameter were more homogeneous across root orders. Samadder *et al.* (2018) showed in soybean that the increase in the taproot length and taproot diameter leads to an expansion of the root absorptive surface and soil volume explored by the roots in soybean. As a result, plants can uptake more P.

A negative correlation was observed between the relative responses of ibd and depth (Figure 3 and supplementary Table S1). This simultaneous evolution of depth and branching density at low P, which showed strong reductions for some genotypes and limited changes for others, is not a trade-off describing compensatory phenomena because some genotypes had structurally weakened root systems in terms of both elongation and branching. In particular, butterhead cultivars G9 and G12 either showed noticeably reduced root depth or increased ibd. A range of other tradeoffs were observed among root functional traits across species (Ma *et al.*, 2001; Walk *et al.*, 2006 ; Wen *et al.*, 2019 ; Honvault *et al.*, 2020). According to Wen *et al.* (2019), root diameter is a good predictor of the root functional trait variation among species when P is limited. They showed that species with thinner roots relied on more branched lateral roots and higher specific root length to exploit more P in the soil. However, species with thicker roots were dependent on symbiotic mycorrhizal fungi for increasing P acquisition. In our study, the root diameter and lateral root density were investigated in the *Lactuca* genus under LP and HP; however, significant correlation were not observed between DIDm and ibd at either P level. This finding suggests that root system adaptations to low P vary depending on the species or families differences in root strategies are more important when several species are represented.

Root traits contribute to the PUE

We observed that PUE was determined to a greater extent by PUpE than by PUEt, whether under LP or HP. PUE was highly correlated with root biomass under both LP and HP. The wild *L. sativa* genotype (G3 cv. PI251245) and the stem lettuce genotype (G14 cv. red orient) in particular showed a much higher root biomass and PUE compared to other genotypes. We explored the determinants of root biomass and their relationship with PUE at the two P levels. The two depth and dmax traits were most significantly correlated with root biomass and PUE, regardless of the P availability. PUE varied significantly among lettuce genotypes and showed important phenotypic plasticity in response to low P. The intensity of responses varied among genotypes, but we could not observe a pattern according to the origin or the type of the genotypes.

We identified that this relative variation in PUE under LP was primarily associated to dmax. Interestingly, a strong increase in PUE was observable in the genotypes that had the thickest taproots when P was not limiting as well as in the genotypes that showed the smallest decrease in dmax under low P, such as G10 and G13. Since the breeding effort should focus on genotypes that are efficient at low P availability, it might be interesting to study the genetic background that allows the maintenance of dmax under P stress.

These results are coherent with other works in which P-efficient genotypes exhibited large root systems in terms of root weight and length, which allowing these plants to explore a larger soil volume to acquire more P (Liu *et al.*, 2004; Samadder *et al.*, 2018). Additionally, Reddy *et al.* (2020) showed that the root dry weight explained most of the variation of the PUE in mungbean and could be used as a pertinent indicator to breed P-efficient genotype. However, PUE has been also related to other root architectural traits, such as lateral root density and lateral hair length and density. Since, the topsoil is often rich in P, the increase in root density in the upper part is an advantage for PUE (Zhu and Lynch, 2004; Hammond *et al.*, 2009 ; Van de Wiel *et al.*, 2016). In addition, P-efficient genotypes in common bean were characterized by both denser and longer root hairs (Yan *et al.*, 2004).

Because the root traits associated with increased PUE might depend on P distribution in the soil, the findings presented in this study should be extended to a wider context, such as to soils where horizontal extension of the roots would be less constrained while vertical root growth would be more restricted. However, the experimental setup presented in this study could reasonably be representative of a range of coarse-texture media and was suitable to explore the genetic diversity and identify traits associated with improved P efficiency.

Conclusion

The present study showed that significant genotypic variations occurred in the root architectural traits in *Lactuca*, and they varied across root traits. DIDm and ibd had the highest genetic variation. Root trait plasticity was observed in response to low P availability, but there was no significant genotype x P interaction for most traits. Wild species had specific responses, particularly in terms of taproot depth and inter-branch distance. Overall, the lettuce genotypes showed increased primary root growth to the detriment of the branching process in response to low P. PUE was associated with root biomass under both P conditions. The maintenance of a large taproot diameter under low P appears to be the most pertinent trait for determining the relative increase in PUE in *Lactuca*. These results highlight the specific adaptations of the *Lactuca* genus under low P and provide information about the relevant traits to be conserved when selecting P-efficient varieties.

Data availability

All data sets are available from the corresponding author on request.

Author contributions

AB conducted experiment and data collection; AB, FL, LP designed the experiment; AB, FL, AM; LP analyzed the data; AB, wrote the first draft of the manuscript; FL, AM, LP revised the work in detail. All authors contributed to the manuscript revision and read and approved the submission version.

Funding

This research received financial support from the European Agricultural Fund for Rural Development (FEADER) and Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA) regions. A. Beroueg was supported by a grant of the Tunisian Higher Education Program.

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as potential conflicts of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to Dr. B. Maisonneuve and other partners of the project for providing lettuce seeds. The authors thank F. De Bruyne for his expert technical assistance and V. Serra for her help in scanning the roots.

References

- Abdolzadeh, A., Wang, X., Veneklaas, E. J., and Lambers, H. (2010). Effects of phosphorus supply on growth, phosphate concentration and cluster-root formation in three *Lupinus* species. *Ann. Bot.* 105, 365–374. doi:10.1093/aob/mcp297.
- Balemi, T. (2010). Effect of phosphorus nutrition on growth of potato genotypes with contrasting phosphorus efficiency. *African Crop Sci. J.* 17, 199–212. doi:10.4314/acsj.v17i4.54304.
- Balemi, T., and Negisho, K. (2012). Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: A review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 547–561. doi:10.4067/s0718-95162012005000015.
- Beebe, S. E., Rojas-Pierce, M., Yan, X., Blair, M. W., Pedraza, F., Muñoz, F., *et al.*, (2006). Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean. *Crop Sci.* 46, 413–423. doi:10.2135/cropsci2005.0226.
- Bilal, H. M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Farooq, M., and Yan, G. (2018). Categorization of wheat genotypes for phosphorus efficiency. *PLoS One* 13, e0205471. doi:10.1371/journal.pone.0205471.
- Bonser, A. M., Lynch, J., and Snapp, S. (1996). Effect of phosphorus deficiency on growth angle of basal roots in *Phaseolus vulgaris*. *New Phytol.* 132, 281–288. doi:10.1111/j.1469-8137.1996.tb01847.x.
- Borch, K., Bouma, T. J., Lynch, J. P., and Brown, K. M. (1999). Ethylene: A regulator of root architectural responses to soil phosphorus availability. *Plant, Cell Environ.* 22, 425–431. doi:10.1046/j.1365-3040.1999.00405.x.
- Brown, L. K., George, T. S., Thompson, J. A., Wright, G., Lyon, J., Dupuy, L., *et al.*, (2012). What are the implications of variation in root hair length on tolerance to phosphorus deficiency in combination with water stress in barley (*Hordeum vulgare*)? *Ann. Bot.* 110, 319–328. doi:10.1093/aob/mcs085.
- Bui, H. H., Serra, V., and Pagès, L. (2015). Root system development and architecture in various genotypes of the solanaceae family. *Botany* 93, 465–474. doi:10.1139/cjb-2015-0008.
- Buso, G. S. C., and Bliss, F. A. (1988). Variability among lettuce cultivars grown at two levels of available phosphorus. *Plant Soil* 111, 67–73. doi:10.1007/BF02182038.

- Campos, P., Borie, F., Cornejo, P., López-Ráez, J. A., López-García, Á., and Seguel, A. (2018). Phosphorus acquisition efficiency related to root traits: Is mycorrhizal symbiosis a key factor to wheat and barley cropping? *Front. Plant Sci.* 9, 1–21.
- Cordell, D., Drangert, J. O., and White, S. (2009). The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Glob. Environ. Chang.* 19, 292–305. doi:10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009.
- Da Silva, D. A., Esteves, J. A. de F., Messias, U., Teixeira, A., Gonçalves, J. G. R., Chiorato, A. F., *et al.*, (2014). Efficiency in the use of phosphorus by common bean genotypes. *Sci. Agric.* 71, 232–239. doi:10.1590/S0103-90162014000300008.
- De Souza Campos, P. M., Cornejo, P., Rial, C., Borie, F., Varela, R. M., Seguel, A., *et al.*, (2019). Phosphate acquisition efficiency in wheat is related to root:shoot ratio, strigolactone levels, and PHO2 regulation. *J. Exp. Bot.* 70, 5631–5642. doi:10.1093/jxb/erz349.
- Gahoonia, T. S., and Nielsen, N. E. (1998). Direct evidence on participation of root hairs in phosphorus (³²P) uptake from soil. *Plant Soil* 198, 147–152. doi:10.1023/A:1004346412006.
- Gallardo, M., Snyder, R. L., Schulbach, K., and Jackson, L. E. (1996). Crop growth and water use model for lettuce. *J. Irrig. Drain. Eng.* 122, 354–358. doi:10.1061/(asce)0733-9437(1996)122:6(354).
- Gourley, C. J. P., Allan, D. L., and Russelle, M. P. (1994). Plant nutrient efficiency: A comparison of definitions and suggested improvement. *Plant Soil* 158, 29–37. doi:10.1007/BF00007914.
- Hammond, J. P., Broadley, M. R., White, P. J., King, G. J., Bowen, H. C., Hayden, R., *et al.*, (2009). Shoot yield drives phosphorus use efficiency in *Brassica oleracea* and correlates with root architecture traits. *J. Exp. Bot.* 60, 1953–1968. doi:10.1093/jxb/erp083.
- Honvault, N., Houben, D., Nobile, C., Firmin, S., Lambers, H., and Faucon, M. P. (2020). Tradeoffs among phosphorus-acquisition root traits of crop species for agroecological intensification. *Plant Soil*. doi:10.1007/s11104-020-04584-3.
- Hoque, M. M., Ajwa, H., Othman, M., Smith, R., and Cahn, M. (2010). Yield and postharvest quality of lettuce in response to nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers. *HortScience* 45, 1539–1544. doi:10.21273/HORTSCI.45.10.1539.
- Irfan, M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Bilal, H. M., Siddique, K. H. M., and Xu, M. (2020). Phosphorus (P) use efficiency in rice is linked to tissue-specific biomass and P allocation patterns. *Sci. Rep.* 10, 1–14. doi:10.1038/s41598-020-61147-3.

- Jackson, L. E. (1995). Root architecture in cultivated and wild lettuce (*Lactuca spp.*). *Plant Cell Environ.* 18, 885–894. doi:10.1111/j.1365-3040.1995.tb00597.x.
- Jenner, G. A., Longerich, H. P., Jackson, S. E., and Fryer, B. J. (1990). ICP-MS - A powerful tool for high-precision trace-element analysis in Earth sciences: Evidence from analysis of selected U.S.G.S. reference samples. *Chem. Geol.* 83, 133–148. doi:10.1016/0009-2541(90)90145-W.
- Kerbiriou, P. J., Stomph, T. J., Van Der Putten, P. E. L., Lammerts Van Bueren, E. T., and Struik, P. C. (2013). Shoot growth, root growth and resource capture under limiting water and N supply for two cultivars of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Soil* 371, 281–297. doi:10.1007/s11104-013-1672-6.
- Lambers, H., Shane, M. W., Cramer, M. D., Pearse, S. J., and Veneklaas, E. J. (2006). Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching morphological and physiological traits. *Ann. Bot.* 98, 693–713. doi:10.1093/aob/mcl114.
- Lecompte, F., Abro, M. A., and Nicot, P. C. (2013). Can plant sugars mediate the effect of nitrogen fertilization on lettuce susceptibility to two necrotrophic pathogens: *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*? *Plant Soil* 369, 387–401. doi:10.1007/s11104-012-1577-9.
- Li, Q., Li, X., Tang, B., and Gu, M. (2018). Growth responses and root characteristics of lettuce grown in aeroponics, hydroponics, and substrate culture. *Horticulturae* 4. doi:10.3390/horticulturae4040035.
- Liu, Y., Mi, G., Chen, F., Zhang, J., and Zhang, F. (2004). Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. *Plant Sci.* 167, 217–223. doi:10.1016/j.plantsci.2004.02.026.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., and Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 280–287. doi:10.1016/S1369-5266(03)00035-9.
- López-Bucio, J., Hernández-Abreu, E., Sánchez-Calderón, L., Nieto-Jacobo, M. F., Simpson, J., and Herrera-Estrella, L. (2002). Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiol.* 129, 244–256. doi:10.1104/pp.010934.
- Lynch, J. P. (2007). Roots of the second green revolution. *Aust. J. Bot.* 55, 493–512. doi:10.1071/BT06118.

- Lynch, J. P., and Brown, K. M. (2008). Root strategies for phosphorus acquisition, in the ecophysiology of plant-phosphorus interactions, eds. P. J. (Dordrecht: Springer Netherlands), 83–116.
- Ma, Z., Bielenberg, D. G., Brown, K. M., and Lynch, J. P. (2001). Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell Environ.* 24, 459–467. doi:10.1046/j.1365-3040.2001.00695.x.
- Minemba, D., Gleeson, D. B., Veneklaas, E., and Ryan, M. H. (2019). Variation in morphological and physiological root traits and organic acid exudation of three sweet potato (*Ipomoea batatas*) cultivars under seven phosphorus levels. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 256, 108572. doi:10.1016/j.scienta.2019.108572.
- Mollier, A., and Pellerin, S. (1999). Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. *J. Exp. Bot.* 50, 487–497. doi:10.1093/jxb/50.333.487.
- Moreau, D., Abiven, F., Busset, H., Matejicek, A., and Pagès, L. (2017). Effects of species and soil-nitrogen availability on root system architecture traits – study on a set of weed and crop species. *Ann. Appl. Biol.* 171, 103–116. doi:10.1111/aab.12355.
- Neocleous, D., and Savvas, D. (2019). The effects of phosphorus supply limitation on photosynthesis, biomass production, nutritional quality, and mineral nutrition in lettuce grown in a recirculating nutrient solution. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 252, 379–387. doi:10.1016/j.scienta.2019.04.007.
- Niu, Y. F., Chai, R. S., Jin, G. L., Wang, H., Tang, C. X., and Zhang, Y. S. (2013). Responses of root architecture development to low phosphorus availability: A review. *Ann. Bot.* 112, 391–408. doi:10.1093/aob/mcs285.
- Pagès, L. (2014). Branching patterns of root systems: Quantitative analysis of the diversity among dicotyledonous species. *Ann. Bot.* 114, 591–598. doi:10.1093/aob/mcu145.
- Pagès, L., Bécel, C., Boukcim, H., Moreau, D., Nguyen, C., and Voisin, A. S. (2014). Calibration and evaluation of ArchiSimple, a simple model of root system architecture. *Ecol. Modell.* 290, 76–84. doi:10.1016/j.ecolmodel.2013.11.014.
- Pagès, L., and Kervella, J. (2018). Seeking stable traits to characterize the root system architecture. Study on 60 species located at two sites in natura. *Ann. Bot.* 122, 107–115. doi:10.1093/aob/mcy061.
- Pagès, L., and Picon-Cochard, C. (2014). Modelling the root system architecture of Poaceae. Can we simulate integrated traits from morphological parameters of growth and branching? *New Phytol.* 204, 149–158. doi:10.1111/nph.12904.

- Parentoni, S. N., and De Souza Júnior, C. L. (2008). Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 43, 893–901. doi:10.1590/S0100-204X2008000700014.
- Ramaekers, L., Remans, R., Rao, I. M., Blair, M. W., and Vanderleyden, J. (2010). Strategies for improving phosphorus acquisition efficiency of crop plants. *F. Crop. Res.* 117, 169–176. doi:10.1016/j.fcr.2010.03.001.
- Reddy, V.R.P., Dikshit, H.K., Mishra, G.P., Aski, M., Pandey, R., and Singh, M.P. (2020). Unravelling the phosphorus use efficiency associated traits in mungbean (*Vigna radiata* L.) under low phosphorus condition. *Indian J. Genet.*, 80(4) 412-418doi:10.31742/IJGPB.80.4.6.
- Reddy, V. R. P., Aski, M.S., Mishra, G. P., Dikshit, H. K., Singh, A., Pandey, R., *et al.*, (2020). Genetic variation for root architectural traits in response to phosphorus deficiency in mungbean at the seedling stage. *PLoS ONE* 15(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221008>.
- Reidinger, S., Ramsey, M. H., and Hartley, S. E. (2012). Rapid and accurate analyses of silicon and phosphorus in plants using a portable X-ray fluorescence spectrometer. *New Phytol.* 195, 699–706. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04179.x.
- Reymond, M., Svistoonoff, S., Loudet, O., Nussaume, L., and Desnos, T. (2006). Identification of QTL controlling root growth response to phosphate starvation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell Environ.* 29, 115–125. doi:10.1111/j.1365-3040.2005.01405.x.
- Rose, T. J., and Wissuwa, M. (2012). Rethinking internal phosphorus utilization efficiency. Anew approach is needed to improve PUE in grain crops. In Donald L. Sparks, editor *Advances in Agronomy*, Vol. 116, Burlington: Academic Press, 2012, pp. 185-217.
- Salinier, J., Daunay, M., Talmot, V., Lecarpentier, C., Pagès, L., Bardel, A., *et al.*, (2019). Root Architectural Trait Diversity in Aubergine (*Solanum melongena* L.) and Related Species and Correlations with Plant Biomass. *Crop Breeding, Genet. Genomics*, 1–23. doi:10.20900/cbgg20190011.
- Samadder, M., Nath, U., and Malek, M. (2018). Genetic study for selection and characterization of phosphorus efficient soybean genotypes. *J Agri Sci Food Res*, 9:251.
- Sarker, B., and Karmoker, J. (2009). Effects of phosphorus deficiency on the root growth of lentil Seedlings (*Lens Culinaris* Medik) grown in rhizobox. *Bangladesh J. Bot.* 38(2): 215-218.

- Sattari, S. Z., Bouwman, A. F., Martinez Rodríguez, R., Beusen, A. H. W., and Van Ittersum, M. K. (2016). Negative global phosphorus budgets challenge sustainable intensification of grasslands. *Nat. Commun.* 7. doi:10.1038/ncomms10696.
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., *et al.*, (2011). Phosphorus dynamics: From soil to plant. *Plant Physiol.* 156, 997–1005. doi:10.1104/pp.111.175232.
- Tiziani, R., Pii, Y., Celletti, S., Cesco, S., and Mimmo, T. (2020). Phosphorus deficiency changes carbon isotope fractionation and triggers exudate reacquisition in tomato plants. *Sci. Rep.* 10, 1–12. doi:10.1038/s41598-020-72904-9.
- Van de Wiel, C. C. M., van der Linden, C. G., and Scholten, O. E. (2016). Improving phosphorus use efficiency in agriculture: opportunities for breeding. *Euphytica* 207, 1–22. doi:10.1007/s10681-015-1572-3.
- Vance, C. P., Uhde-Stone, C., and Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol.* 157, 423–447. doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x.
- Vejchasarn, P., Lynch, J. P., and Brown, K. M. (2016). Genetic variability in phosphorus responses of rice root phenotypes. *Rice* 9. doi:10.1186/s12284-016-0102-9.
- Veneklaas, E. J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P. M., Lovelock, C. E., Plaxton, W. C., *et al.*, (2012). Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New Phytol.* 195, 306–320. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04190.x.
- Wacker-Fester, K., Uptmoor, R., Pfahler, V., Dehmer, K. J., Bachmann-Pfabe, S., and Kavka, M. (2019). Genotype-specific differences in phosphorus efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Front. Plant Sci.* 10, 1–14. doi:10.3389/fpls.2019.01029.
- Walk, T. C., Jaramillo, R., and Lynch, J. P. (2006). Architectural tradeoffs between adventitious and basal roots for phosphorus acquisition. *Plant Soil* 279, 347–366. doi:10.1007/s11104-005-0389-6.
- Wang, Y.-L., Almvik, M., Clarke, N., Eich-Greatorex, S., Øgaard, A. F., Krogstad, T., *et al.*, (2015). Contrasting responses of root morphology and root-exuded organic acids to low phosphorus availability in three important food crops with divergent root traits. *AoB Plants* 7, plv097. doi:10.1093/aobpla/plv097.
- Wen, Z., Li, H., Shen, Q., Tang, X., Xiong, C., Li, H., *et al.*, (2019). Tradeoffs among root morphology, exudation and mycorrhizal symbioses for phosphorus-acquisition strategies of 16 crop species. *New Phytol.* 223, 882–895. doi:10.1111/nph.15833.

- Williamson, L. C., Ribrioux, S. P. C. P., Fitter, A. H., and Leyser, H. M. O. (2001). Phosphate Availability Regulates Root System Architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126, 875–882.
- Wu, Q., Pagès, L., and Wu, J. (2016). Relationships between root diameter, root length and root branching along lateral roots in adult, field-grown maize. *Ann. Bot.* 117, 379–390. doi:10.1093/aob/mcv185.
- Yan, X., Liao, H., Beebe, S. E., Blair, M. W., and Lynch, J. P. (2004). QTL mapping of root hair and acid exudation traits and their relationship to phosphorus uptake in common bean. *Plant Soil* 265, 17–29. doi:10.1007/s11104-005-0693-1.
- Zebrowska, E., Milewska, M., and Ciereszko, I. (2017). Mechanisms of oat (*Avena sativa* L.) acclimation to phosphate deficiency. *PeerJ* 2017, 1–29. doi:10.7717/peerj.3989.
- Zhou, T., Du, Y., Ahmed, S., Liu, T., Ren, M., Liu, W., *et al.*, (2016). Genotypic differences in phosphorus efficiency and the performance of physiological characteristics in response to low phosphorus stress of soybean in southwest of China. *Front. Plant Sci.* 7. doi:10.3389/fpls.2016.01776.
- Zhu, J., and Lynch, J. P. (2004). The contribution of lateral rooting to phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays*) seedlings. *Funct. Plant Biol.* 31, 949–958. doi:10.1071/FP04046.

Supplementary Material

Supplementary Table S1: correlations among relative responses of root architecture traits.

Pearson correlation coefficients in bold type are significant at the 5% level ($P < 0.05$).

	Rrb	Rdepth	Rdmax	Rdmin	RDIDm	Ribd	Relong
Rrb	1						
Rdepth	0.65*	1					
Rdmax	0.58*	0.57*	1				
Rdmin	0.001	-0.20	-0.53*	1			
RDIDm	-0.11	-0.08	-0.56*	0.44	1		
Ribd	-0.26	-0.53*	-0.08	0.06	-0.24	1	
Relong	0.49*	0.91***	0.18	0.03	0.22	-0.59*	1

Rrb, relative root biomass; Rdepth, Relative taproot depth; Rdmax, relative apical maximum diameter; Rdmin, Relative minimum diameter; RDIDm, relative dominance between the diameters of mother and lateral roots; Ribd, relative inter-branch distance; Relong, Relative taproot elongation activity.

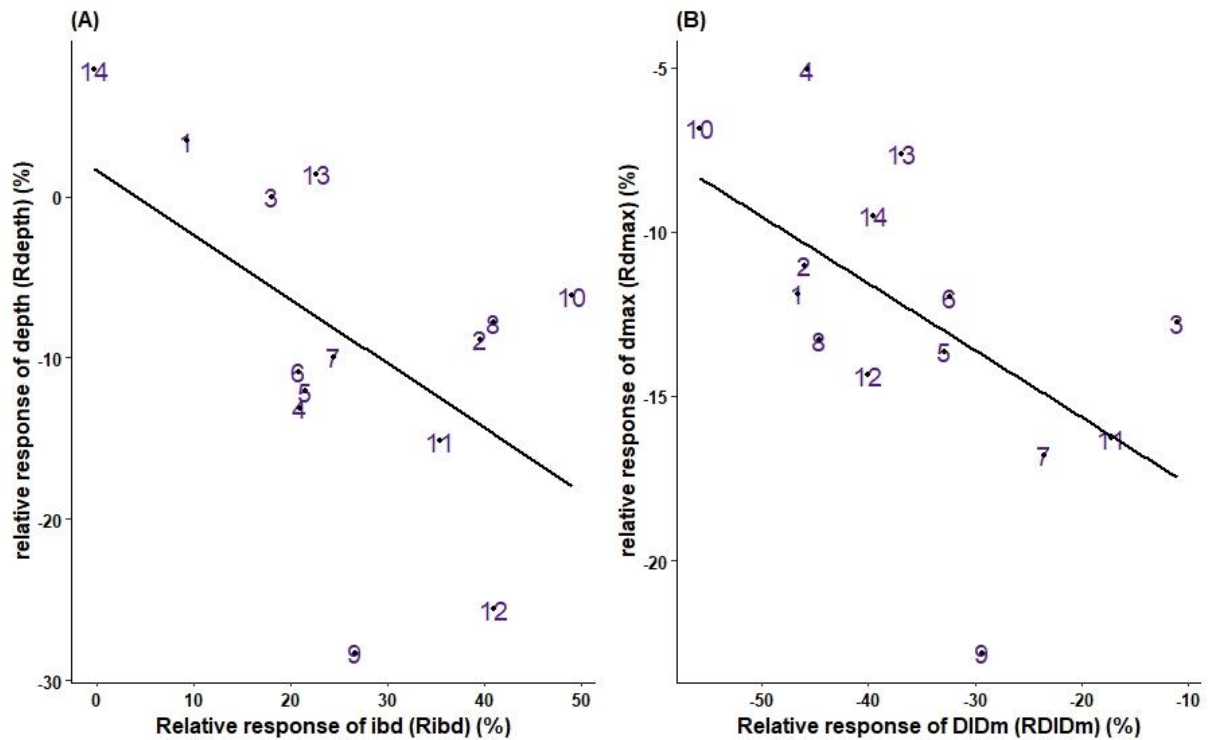
Supplementary Table S2: PUpE, PUE and PUE of 14 *Lactuca* genotypes grown under low P (LP) and sufficient P condition (HP).

P treatment	Genotypes	PUpE		PUtE		PUE	
		Mean $\pm$ se		Mean $\pm$ se		Mean $\pm$ se	
HP	13	0.085	$\pm$ 0.013	192.64	$\pm$ 6.35	16,27	$\pm$ 1.89
	2	0.1	$\pm$ 0.017	200.6	$\pm$ 9.95	18,99	$\pm$ 2.56
	12	0.13	$\pm$ 0.01	170.33	$\pm$ 6.21	21,86	$\pm$ 1.86
	1	0.15	$\pm$ 0.026	159.19	$\pm$ 2.69	24,88	$\pm$ 4.58
	4	0.12	$\pm$ 0.016	214.98	$\pm$ 16.00	26,58	$\pm$ 3.35
	11	0.15	$\pm$ 0.057	231.25	$\pm$ 59.53	26,97	$\pm$ 7.90
	10	0.16	$\pm$ 0.018	184.82	$\pm$ 3.48	29,37	$\pm$ 3.95
	5	0.18	$\pm$ 0.009	181.01	$\pm$ 9.23	32,17	$\pm$ 1.04
	7	0.20	$\pm$ 0.026	164.64	$\pm$ 3.14	32,63	$\pm$ 3.89
	8	0.18	$\pm$ 0.008	189.01	$\pm$ 2.14	33,72	$\pm$ 1.97
	9	0.15	$\pm$ 0.036	236.97	$\pm$ 31.60	34,34	$\pm$ 3.43
	6	0.23	$\pm$ 0.005	212.23	$\pm$ 12.94	49,84	$\pm$ 1.75
	3	0.43	$\pm$ 0.054	159.16	$\pm$ 4.05	68,83	$\pm$ 9.45
	14	0.33	$\pm$ 0.016	213.15	$\pm$ 5.73	69,92	$\pm$ 4.76
LP	2	0.16	$\pm$ 0.046	401.29	$\pm$ 52.84	61,24	$\pm$ 10.85
	12	0.25	$\pm$ 0.044	477.78	$\pm$ 44.07	117,05	$\pm$ 15.56
	9	0.29	$\pm$ 0.056	414.32	$\pm$ 8.52	118,60	$\pm$ 20.84
	11	0.30	$\pm$ 0.042	411.25	$\pm$ 10.13	123,25	$\pm$ 18.45
	7	0.34	$\pm$ 0.040	387.23	$\pm$ 22.07	128,68	$\pm$ 10.25
	13	0.32	$\pm$ 0.034	432.26	$\pm$ 8.77	137,98	$\pm$ 14.78
	5	0.33	$\pm$ 0.047	428.02	$\pm$ 15.94	141,08	$\pm$ 18.86
	1	0.37	$\pm$ 0.012	389.10	$\pm$ 27.77	144,96	$\pm$ 7.39
	4	0.31	$\pm$ 0.022	470.27	$\pm$ 4.95	146,51	$\pm$ 10.48
	10	0.40	$\pm$ 0.010	437.15	$\pm$ 10.54	175,96	$\pm$ 3.37
	8	0.32	$\pm$ 0.043	574.32	$\pm$ 28.17	186,82	$\pm$ 33.07
	6	0.45	$\pm$ 0.052	476.25	$\pm$ 15.95	215,50	$\pm$ 20.15
	14	0.82	$\pm$ 0.055	553.76	$\pm$ 14.72	454,26	$\pm$ 33.00
	3	0.89	$\pm$ 0.104	510.08	$\pm$ 13.84	455,03	$\pm$ 58.28

PUpE: Phosphorus uptake efficiency; PUtE: Phosphorus utilization efficiency; PUE:

Phosphorus use efficiency.

Genotypes are ordered according to their PUE values.



Supplementary Figure S1: Correlations among the relative response to low P availability: (A) relative taproot depth (Rdepth) vs relative inter-branch distance (Ribd) ($r=-0.52$, $p<0.01$), (B) relative dominance between diameters of the taproot and its laterals (RDIDm) vs relative apical diameter (Rdmax) ($r=-0.56$, $p<0.05$).

Values are the means of the relative response, calculated using the mean for each genotype in the two P treatments. The fourteen genotypes are identified by their numbers, as given in Table 1.

**Chapitre IV : Prise en compte de la variabilité génotypique
et de la disponibilité en P dans la paramétrisation du
modèle d'architecture racinaire « ArchiSimple ».**

IV.1 Introduction

Les données expérimentales présentées dans le chapitre précédent ont permis de caractériser la variabilité génotypique des traits de l'architecture racinaire et leur plasticité en réponse à une diminution du P disponible, chez 14 génotypes du genre *Lactuca*. Cela a été fait à travers un ensemble de traits "analytiques" mesurés à partir d'échantillonnages et d'analyses d'images de racines. Tous les traits considérés (Depth, Dmax, Dmin, Elong, DIDm, Ibd) ont présenté des variations génotypiques significatives, sauf Dmin.

Dans le chapitre 2, nous avons montré que l'efficacité d'acquisition du P est corrélée à la masse des racines, et qu'un surcroît d'efficacité d'utilisation peut être obtenu en augmentant la fraction racinaire dans la masse totale produite. Cela montre que la biomasse racinaire est un bon indicateur d'efficacité en P.

Dans le chapitre 3, il a été montré que la profondeur du pivot et le diamètre apical maximal étaient les principaux déterminants de la masse racinaire. L'efficacité globale en P était liée à la capacité génotypique à ne pas diminuer le diamètre maximal quand le P est limitant. Dans d'autres études sur des espèces différentes, l'efficacité de P a été associée à d'autres traits racinaires. Selon, Fernández *et al.* (2009), la capacité d'acquisition du P par unité de racine est liée à la longueur totale spécifique des racines (SRL) et à la surface racinaire spécifique. De la même manière, Zhou *et al.* (2016) ont montré que les génotypes de maïs les plus efficaces ont eu des racines plus longues, une SRL plus élevée, une surface racinaire plus large, et un volume racinaire plus grand que ceux non efficaces en P. À l'inverse des traits utilisés dans notre étude, ces traits cités sont plus complexes, difficiles à mesurer et renseignent sur des caractéristiques intégrées des systèmes racinaires souvent liées à la capacité d'acquisition des nutriments.

Les démarches expérimentales peuvent montrer des limites pour mesurer ces traits intégrés, en raison de la lourdeur des dispositifs nécessaires pour l'excavation du système racinaire et le traitement d'images. C'est pourquoi, la modélisation, comme complément méthodologique, est un outil privilégié pour rendre compte du fonctionnement intégré des plantes en interaction avec leur environnement.

La plupart des modèles de représentation et de croissance de racines sont des modèles dits d'architecture (RSA). Ils sont basés sur une représentation topologique de la structure ramifiée des racines. La fonctionnalité et l'application des modèles RSA ont été examinées en détails par (Dunbabin *et al.*, 2013) et plus récemment par (Postma *et al.*, 2021). Certains modèles tiennent compte de la variabilité de l'architecture racinaire observée qui résulte de la variabilité des ressources dans le sol, mais ils ne sont pas basés sur des formalismes pour

modéliser explicitement les processus responsables de cette variation (Diggle, 1988; Doussan *et al.*, 1998; Pagès *et al.*, 1989; Lynch *et al.*, 1997). D'autres modèles dits « Modèles structure-fonction » tiennent compte d'aspects physiologiques de la croissance et du fonctionnement des racines (Postma *et al.*, 2021). Ces modèles incluent souvent des relations empiriques entre les conditions environnementales, l'état de la plante et les réponses de croissance des racines (Postma *et al.*, 2017). Un exemple est le modèle « OpenSimRoot », une extension du modèle « SimRoot » qui a été beaucoup utilisé pour simuler l'interaction entre les traits architecturaux et l'efficacité de l'acquisition du phosphore chez le haricot (Ge *et al.*, 2000; Walk *et al.*, 2006) *Arabidopsis* (Ma *et al.*, 2001) et le maïs (Postma and Lynch, 2012). OpenSimRoot est composé de plusieurs modules en particulier d'un module d'acquisition des minéraux et un module de transfert d'eau basés sur l'équation de Richard et les processus de convection-diffusion. Ce type de modèles, comportant un grand nombre de formalismes, utilise un grand nombre de paramètres, et leur calibration est complexe.

D'autres démarches de modélisation cherchent au contraire à donner une représentation des systèmes racinaires à partir d'un petit nombre de paramètres qui synthétisent les processus de développement. C'est le cas du modèle ArchiSimple, élaboré par (Pagès *et al.*, 2014). Ce modèle inclut les processus majeurs du développement du système racinaire, tels que l'élongation, l'émission des racines adventives, la ramification, la croissance radiale et la mortalité des racines. Il a été conçu pour permettre de représenter la diversité de l'architecture racinaire d'espèces végétales variées et calibré sur *Musa spp.*, *Pisum sativum*, *Prunus persica*, *Teucrium botrys*, *Thlaspi perfoliatum* et *Zea mays*. Archisimple n'a encore jamais été calibré pour représenter des systèmes racinaires de laitue. Contrairement aux approches des modèles structure-fonction où les conditions environnementales sont décrites de manière explicite, et où des formalismes permettent de représenter l'effet de ces conditions environnementales sur les processus de croissance et de développement, le modèle Archisimple ne propose pas de modules d'interaction avec l'environnement. Ce sont les paramètres choisis pour la croissance et le développement qui intègrent implicitement les conditions du milieu influençant l'architecture racinaire. L'approche de phénotypage choisie dans le cadre de ce travail a permis d'acquérir des mesures sur un petit nombre de traits chez des géotypes du genre *Lactuca*, dans des conditions différentes de disponibilité en P. Il apparaît ainsi intéressant d'étudier la capacité du modèle à simuler des traits intégrés, comme la longueur racinaire totale, la surface racinaire et le volume exploré, dans des conditions d'environnement variables, et sur plusieurs géotypes.

Les objectifs de ce chapitre sont : (1) de paramétrer le modèle ArchiSimple à partir des données obtenues chez les 14 génotypes du genre *Lactuca* ; (2) de vérifier si le modèle est capable de simuler la biomasse racinaire, et de rendre compte de la variabilité génétique et de la disponibilité en P ; et (3) de simuler d'autres traits intégrés de l'architecture comme la colonisation spatiale du substrat et la longueur spécifique des racines.

IV.2. Matériel et méthodes

IV.2.1. Description du modèle

ArchiSimple est un modèle architectural dynamique, dans lequel le système racinaire est représenté comme un ensemble de segments racinaires (de quelques millimètres) interconnectés. Le temps est divisé en pas de un jour au cours desquels les racines existantes subissent des modifications liées aux processus de développement. Les sorties du modèle comprennent un fichier contenant des informations générales sur la simulation et un fichier de structure « seg.txt » contenant la liste des segments simulés avec leurs caractéristiques (informations de connexion, longueur, diamètre, coordonnées 3D et âge).

IV.2.2. Paramètres du modèle

IV.2.2.1. Emission des racines séminales et adventives

Dans le modèle, l'émission des racines séminales est caractérisée par le paramètre « nbmaxsem » représentant le nombre maximal de racines émises. Chez les plantes qui développent l'ensemble de leur système racinaire à partir d'une radicule, cette valeur est de 1. À l'inverse, chez certaines espèces végétales, en particulier les monocotylédones, de nombreuses racines primaires peuvent être émises durant la période de croissance. Chaque racine émise est caractérisée par un diamètre apical (D) dont dépendra son taux d'élongation après l'émergence. Le modèle tient compte également du taux d'émission des racines séminales « emissratesem » (jour^{-1}) et de la proportion de leur diamètre par rapport au diamètre maximal « propdiamsem ». L'apparition des racines adventives a été caractérisée de la même manière. Chez la laitue, il n'y a qu'une seule racine séminale, correspondant au pivot, et il n'a pas été observé de racines adventives lors de l'expérimentation.

IV.2.2.2. Elongation

Ce processus désigne la croissance axiale de la racine qui définit sa longueur et sa trajectoire. Le modèle considère qu'une racine commence à s'allonger après le stade du primordium, qui dure un temps donné (fixé à 5 jours dans le modèle).

Le taux d'élongation potentiel (PER) est calculé en se basant sur le diamètre apical (D) et l'âge de la racine selon cette formule :

$PER = EL * D$; si $D > D_{min}$ et $\text{âge} < GD$

$PER = 0$, si $D \leq D_{min}$ ou $\text{âge} \geq GD$

Avec : EL l'activité d'élongation des racines, qui correspond au trait mesuré « elong » ($\text{mm} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$). Le diamètre minimal (D_{min} , mm) est la valeur en dessous de laquelle il n'y a pas d'allongement. GD correspond à la durée de croissance (paramètre « growthdur », en jours) qui est considérée corrélée au diamètre apical (Cahn *et al.*, 1989). Ce paramètre a été calculé selon cette formule :

$$GD = GD_s \times D^2$$

Avec : D le diamètre apical (mm), et un paramètre GD_s ($\text{jour} \cdot \text{mm}^{-2}$).

La croissance de sa racine est affectée par le gravitropisme. Deux coefficients de gravitropisme qui renseignent sur la direction (tgravi) et son intensité (igravi) ont été intégrés dans le modèle pour représenter la trajectoire de la racine. Comme aucune donnée spécifique n'a été recueillie à ce sujet dans l'expérimentation, nous avons pris des valeurs standards obtenues dans des démarches de paramétrisation du modèle sur d'autres espèces.

IV.2.2.3. Ramification

Au cours de l'élongation, chaque racine initie des primordia latéraux qui sont régulièrement espacés tout au long de la racine. La distance entre les primordia successifs est donnée par le paramètre de distance inter ramification (Ibd). Un aspect important de la ramification est la hiérarchie entre les diamètres apicaux des racines filles et racines mères (Pagès, 2014a). Chaque nouvelle racine émerge avec un diamètre lié au diamètre de sa racine mère. Pour simuler cette relation, le modèle dispose du paramètre DIDm, qui correspond à la pente de la relation observée entre le diamètre de la racine fille et le diamètre de la racine mère. La variation relative des diamètres des racines latérales autour de la moyenne est estimée à partir d'un coefficient de variation « CVDD ».

IV.2.2.4. Croissance radiale

La croissance radiale est estimée à partir de l'aire de la section transversale à un endroit donné le long de la racine. Ce processus est modélisé par le paramètre « radgrowth » du modèle qui correspond au coefficient de proportionnalité entre l'aire de section du segment et la somme des aires des sections distales.

IV.2.2.5. Mortalité

La mortalité des racines correspond à un arrêt définitif de leur croissance estimé par le paramètre « lifeexp » dans le modèle. Ce paramètre est calculé en se basant sur le diamètre apical et la densité des tissus racinaires (RTD). Elle est rapide chez les racines les plus fines.

Dans notre étude, il n'a pas été tenu compte de la mortalité des racines. Les plantes ont été observées durant une courte période en début de cycle, si bien que nous n'avons pas observé de mortalité.

IV.2.3. Paramétrisation du modèle et simulations

L'ensemble des paramètres du modèle sont donnés dans le tableau 1. Certains paramètres, en particulier ceux qui n'ont pas fait l'objet d'observation expérimentale, ont été laissés constants. Des analyses d'images supplémentaires ont été réalisées à partir des observations expérimentales présentées au chapitre 3 pour estimer la durée de croissance des racines, en particulier des racines fines, (paramètre « growthdur »). Pour cela, le diamètre et la longueur de 20 racines latérales parmi les plus fines ont été mesurés pour chaque plante. Le coefficient de la durée de croissance (GDs) qui a servi pour calculer la durée de croissance ($\text{growthdur} = \text{GDs} \times D^2$), correspond à la pente de la droite de régression linéaire entre le diamètre et la longueur. D'autres valeurs variables de paramètres ont été utilisées, correspondant aux observations expérimentales présentées dans le chapitre précédent.

Les valeurs simulées de masse racinaire totale des plantes ont été comparées aux valeurs observées, en utilisant différentes stratégies de paramétrisation. Quelle que soit la stratégie, 84 simulations ont été faites, mais selon les stratégies les paramètres correspondant à chaque plante observée expérimentalement ou des paramètres moyens ont été utilisés. Dans ce second cas, le même jeu de paramètres a été utilisé pour plusieurs plantes, et les valeurs simulées par le modèle ne varient que du fait de la stochasticité introduite, en particulier avec le paramètre CVDD. Les comparaisons entre masses racinaires observées et simulées portent alors sur des moyennes. Dans le modèle, la période simulée est de 30 jours.

Tableau1 : Les paramètres d'entrée du modèle ArchiSimple

Abréviation	Signification	Unité	Valeur
nbmaxsem	Nombre maximale des racines séminales	-	1
emisratesem	Taux d'émission des racines séminales	jour ⁻¹	1
propdiamsem	Proportion de diamètre des racines séminales par rapport à celui maximal	-	1
ageadvemis	Age des racines adventives	jours	1000
distmaxadv	Distance maximale entre les adventives	mm	100
emissrateadv	Taux d'émission des racines adventives	jour ⁻¹	0
propDiamadv	Proportion des diamètres des adventives par rapport au diamètre maximal	-	1
nbmaxadv	Nombre maximal des adventives	-	0
tgravi	Direction de gravitropisme	-	1
igravi	Intensité de gravitropisme	-	0.005
growthdur	Durée de croissance	jours	variable
lifeexp	Mortalité des racines	-	20000
radgrowth	Croissance radiale	-	0.25
Dmax	Diamètre apical maximal	mm	variable
Dmin	Diamètre minimal des racines fines	mm	variable
elong	Activité d'élongation du pivot	mm.mm ⁻¹ .jour ⁻¹	variable
DIDm	La pente de la droite de régression entre les diamètres des racines mère et racines filles	-	variable
ibd	Distance inter-ramification	mm	variable
RTD	Densité des tissus racinaires	g.cm ⁻³	0.10
CVDD	La variation relative des diamètres des racines latérales	-	0.20

Stratégie S1 : Dans cette stratégie, 84 simulations ont été faites, correspondant aux 84 plantes observées (14 génotypes x 2 niveaux de P x 3 réplifications biologiques). Les valeurs observées de Dmax, Dmin, Elong, DIDm et Ibd ont été utilisées dans un paramétrage spécifique pour chaque plante. La confrontation entre biomasses racinaires simulées et observées porte sur les 84 plantes.

Stratégie S2 : Dans cette stratégie, une valeur moyenne pour chaque génotype des paramètres Dmax, Dmin, Elong, DIDm et Ibd a été calculée à partir des observations expérimentales, sans tenir compte des effets du P. La confrontation entre biomasses racinaires simulées et observées porte sur 14 valeurs moyennes par génotypes (moyenne de 6 observations, 3 plantes x 2 niveaux de P, et moyenne de 6 simulations, avec des valeurs identiques de paramètres pour ces 6 simulations).

Stratégie S3 : Dans cette stratégie, les simulations ont été réalisées avec des groupes de 3 plantes ayant des paramètres identiques, correspondant aux valeurs moyennes observées pour un génotype et un niveau de P. Cette stratégie est similaire à S1, sauf que des valeurs moyennes ont été utilisées pour un ensemble de 3 plantes correspondant à un couple génotype x P, alors qu'en S1 les valeurs individuelles des paramètres pour chaque plante ont été retenues. La confrontation entre biomasses racinaires simulées et observées porte sur les 28 couples génotype x P (moyenne de 3 observations, et moyenne de 3 simulations avec des valeurs identiques de paramètres pour ces 3 simulations). La stratégie S3, comme la stratégie S1, représente des effets génotype, P et leur interaction.

Stratégie S4 : Dans cette stratégie, comme dans S3, les simulations ont été réalisées avec des groupes de 3 plantes ayant des paramètres identiques, correspondant aux valeurs moyennes observées pour un génotype et un niveau de P. Mais à la différence de S3, S4 représente les effets génotype et P sans l'interaction génotype x P. Pour cela, les simulations ont été réalisées avec une valeur de paramètre par génotype (G) et par niveau de P, en prenant un effet moyen du P sur les traits Dmax, DIDm, elong et ibd selon ces deux formules :

En HP : valeur d'un trait = valeur moyenne du trait par génotype + (0.5*[valeur moyenne trait HP – valeur moyenne trait LP]).

En LP : valeur d'un trait = valeur moyenne du trait par génotype - (0.5*[valeur moyenne trait HP – valeur moyenne trait LP])

Les résultats des observation expérimentales faites sur les racines fines ont montré que celles-ci sont plus longues en LP (Fig.1)

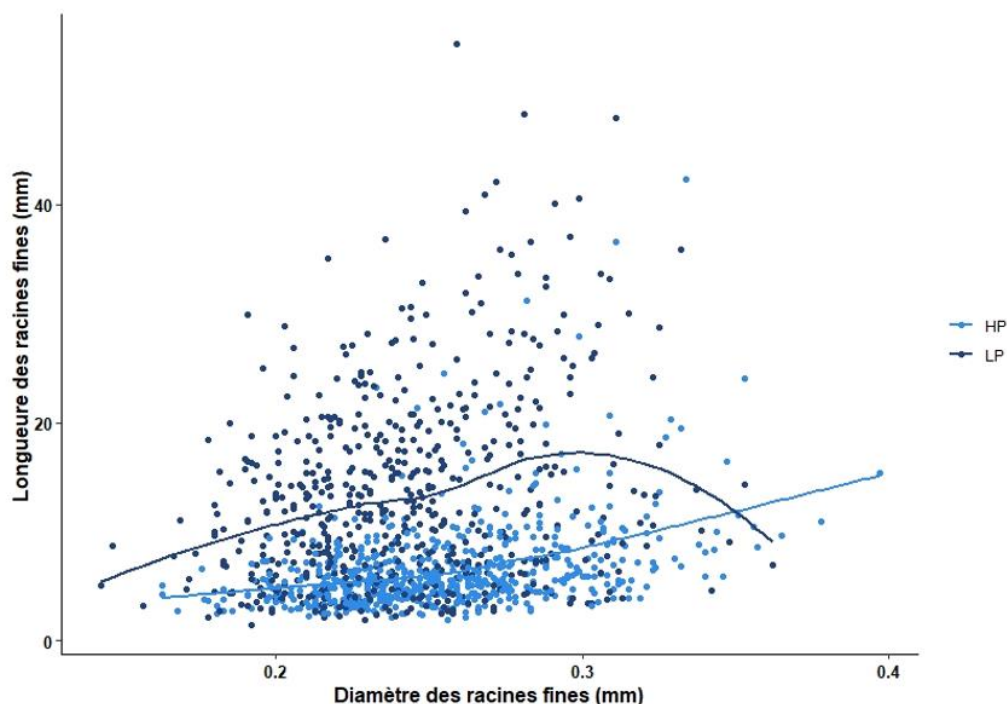


Figure 1 : Relation entre le diamètre et la longueur des racines fines.

Ce résultat suggère que les racines ont poussé plus vite ou bien plus longtemps ou les deux. Pour cela, deux corrections supplémentaires ont été appliquées dans la stratégie S4 ; la première sur les valeurs du trait « elong » dans le modèle selon cette formule :

En HP : valeur d'un trait = $10 \times \text{valeur moyenne du trait par génotype} + (50 \times [\text{valeur moyenne trait HP} - \text{valeur moyenne trait LP}])$.

En LP : valeur d'un trait = $10 \times \text{valeur moyenne du trait par génotype} - (50 \times [\text{valeur moyenne trait HP} - \text{valeur moyenne trait LP}])$

La deuxième correction a été apportée sur le paramètre « growthdur » en donnant des valeurs différentes de durée de croissance : 55 jours en HP et 70 jours en LP. Dans les stratégies S1 à S3, ce paramètre avait une valeur fixe de 50 jours.

Pour Dmin, une valeur moyenne par génotype a été calculée car le P n'a pas affecté ce trait. La confrontation entre biomasse racinaire simulée et observée porte sur les 28 couples génotype x P (moyenne de 3 observations, et moyenne de 3 simulations avec des valeurs identiques de paramètres pour ces 3 simulations).

IV.2.4. Les sorties du modèle

Le fichier obtenu comme sortie de modèle pour chaque plante contient les coordonnées des segments. Ces coordonnées sont utilisées pour calculer la longueur totale, la surface racinaire et la biomasse.

Les autres traits intégrés sont :

- Longueur spécifique SRL : Longueur totale des racines / Biomasse racinaire simulée (en m/g).
- Volume colonisé : le voxel est un cube dans l'espace 3D. Dans notre cas, le volume du sol a été divisé en voxels. Nous avons choisi deux tailles de voxel soit de 6 mm de côté, soit 24 mm pour calculer un volume colonisé situé à environ 3 mm et 12 mm en moyenne autour des racines. Le nombre des voxels ayant été touchés au moins par un segment racinaire a été calculé. Le produit du nombre de voxels par le volume d'un voxel donne ainsi une estimation du volume total colonisé par le système racinaire.
- Efficience de colonisation : Il s'agit du rapport entre le volume de sol colonisé en considérant des voxels de 6mm et de 24 mm et la masse du système racinaire. Dans le cas d'une répartition homogène du P dans le milieu, la variabilité génétique du volume exploré pourrait être un bon indicateur de l'efficience d'acquisition du P.

IV.3. Résultats :

IV.3.1. Evaluation de la simulation pour chaque stratégie

Le modèle Archisimple a été exécuté pour les différentes stratégies présentées ci-dessus. Lorsque plusieurs simulations ont été réalisées avec le même jeu de paramètres, la variabilité des valeurs de biomasse simulées liée à l'effet stochastique du modèle était d'environ 7%, soit 1/3 de la variabilité expérimentale moyenne observée dans les répliques biologiques pour un couple génotype x P (21%).

Les coefficients des corrélations entre la biomasse simulée et celle observée, ainsi que le RMSE, la moyenne des carrés des écarts entre masse racinaire simulée par le modèle et celle observée, ont été calculés pour chaque stratégie de simulation (tableau 2).

Tableau 2 : Coefficient de corrélation entre la biomasse simulée et celle observée et les RMSE pour chaque situation de simulation.

	Stratégie de simulation	Masse racinaire observée	
		Corrélation	RMSE (g)
Masse racinaire simulée	S1	0.29**	0.46
	S2	0.55***	0.23
	S3	0.35***	0.37
	S4	0.56***	0.24

La relation entre les masses racinaires simulées et observées a été représentée dans la figure 2, pour les quatre stratégies. Pour mieux évaluer la simulation chez chaque génotype et à chaque niveau du P, les résidus du modèle ont été calculés pour chaque stratégie de simulation (Fig. 3).

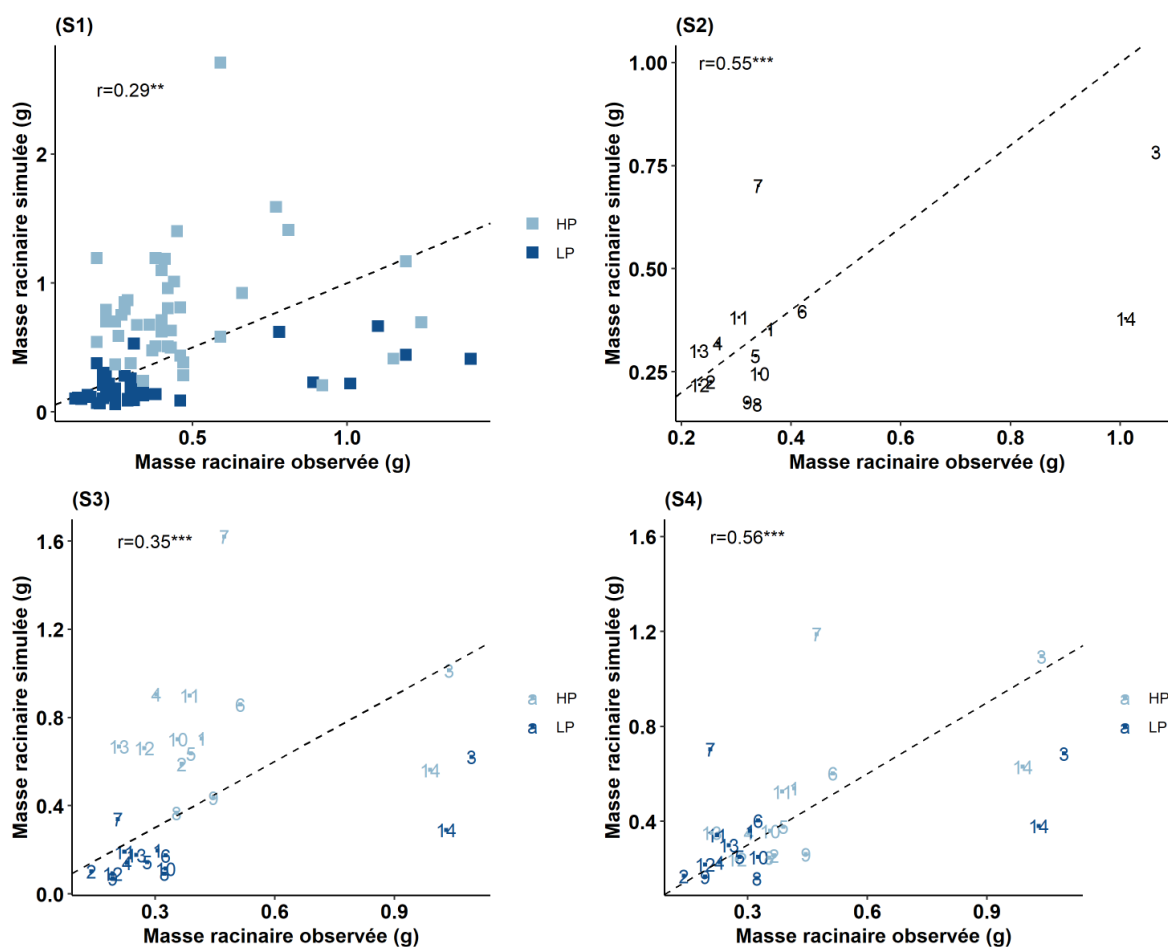


Figure 2 : Relation entre masse racinaire simulée et observée à chaque stratégie de simulation.

D'une manière générale, le modèle simule des masses de systèmes racinaires du même ordre de grandeur que les masses observées, avec cependant des erreurs significatives, plus ou moins importantes d'un génotype à l'autre.

En S1, les simulations ont été effectuées en utilisant les 84 valeurs mesurées pour chaque trait. Le modèle surestime globalement la masse racinaire en HP et il la sous-estime en LP, sauf pour le génotype G7 où la masse a été surestimée dans les deux conditions de P, et le génotype G14 où la masse a été sous-estimée dans les deux cas. En HP, les génotypes les moins bien simulés sont G4, G7, G12, G13 (résidu relatif > 100%, Fig. 3 S1).

En S2, les simulations sont réalisées sans tenir compte des effets du P sur la valeur des paramètres. Cette stratégie de simulation corrige en les annulant les biais liés au P observés en S1, du fait de l'utilisation de paramètres moyens quel soit le P disponible : les écarts entre valeurs observées et simulées sont moins importants. La masse racinaire reste mal estimée dans certains cas, en particulier pour le génotype G7 en LP et le génotype G14. Pour le génotype G7,

l'utilisation de paramètres non dépendants du P diminue la masse du système racinaire moyen simulé : en comparaison avec la valeur observée en HP, la simulation moyenne est plus proche, en revanche pour LP les paramètres moyens utilisés dans la simulation aboutissent à une prédiction de masse racinaire plus élevée qu'en S1, alors que les paramètres de S1 aboutissaient déjà à une surestimation.

La stratégie (S3) est par construction très similaire à S1. Le fait de calculer une valeur moyenne pour chaque génotype et chaque niveau de P augmente marginalement la qualité de la prédiction, et la tendance de surestimation en HP et de sous-estimation en LP est identique. (Fig. 3 S3).

L'utilisation en S4 d'effets « moyens » du P sur les traits, sans interaction génotype x P a permis d'obtenir des résultats comparables en qualité de prédiction à la stratégie S2, où l'on n'observe plus de biais systématique entre LP et HP (Fig. 2 S4, Fig. 3 S4). Si certains génotypes sont simulés de manière relativement satisfaisante pour les deux niveaux de disponibilité en P, le modèle ne parvient pas, comme dans les autres stratégies, à simuler correctement la masse racinaire des génotypes G7 et G14, en particulier. Les valeurs observées des traits racinaires du génotype G7, qui ont servi à la paramétrisation, ne révèlent pas des caractéristiques spécifiques qui pourraient expliquer la surestimation systématique de sa masse racinaire. C'est également le cas pour G14.

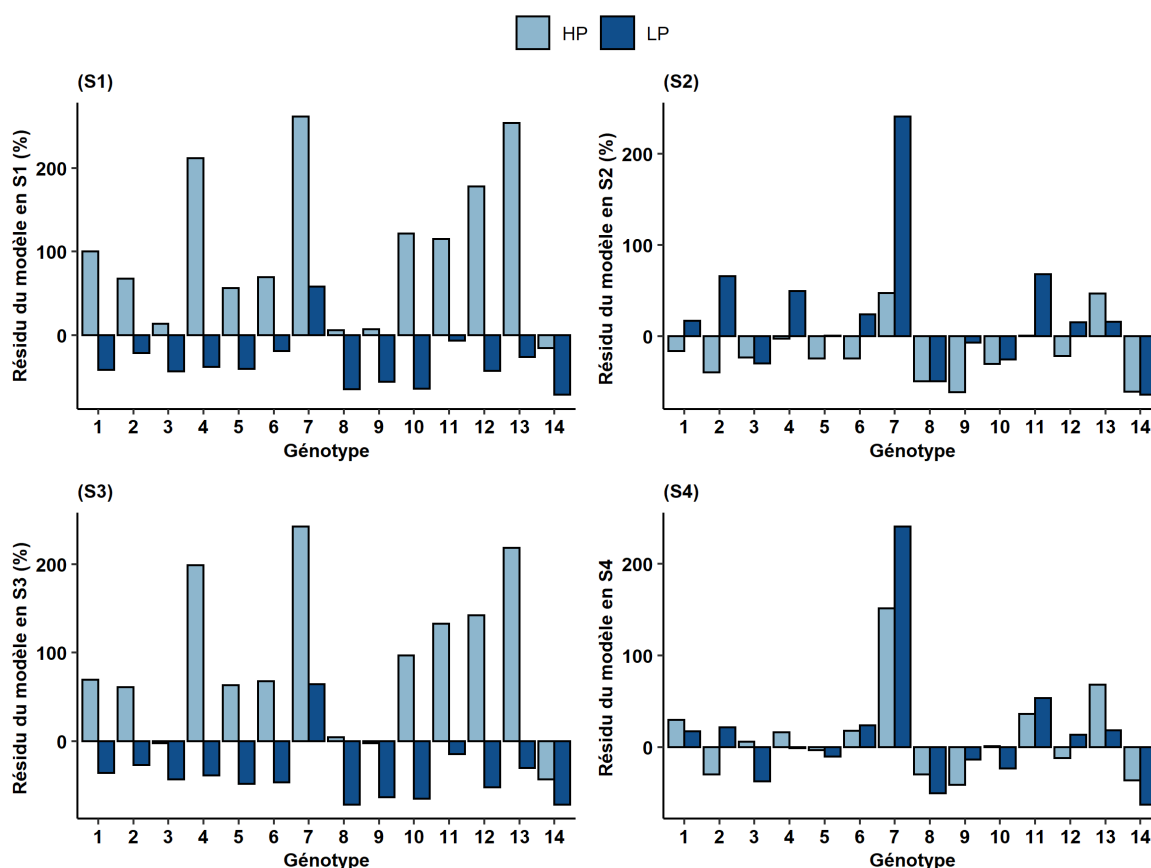


Figure 3 : Résidu du modèle à chaque stratégie de simulation.

Une analyse de sensibilité a été ébauchée de façon à identifier les traits racinaires (les 5 traits pour lesquels des valeurs variables ont été utilisées dans cette étude) ayant un effet sur la masse racinaire comme variable de sortie de modèle. Cette analyse consiste à faire varier (+/- 20%) la valeur d'un paramètre et à évaluer son impact sur la masse simulée. Cette analyse a été réalisée de la même manière pour chaque variable d'entrée du modèle. La valeur de base des paramètres est celle utilisée en S4. Les résultats obtenus ont montré que tous les traits ont une influence sur la variation de la masse racinaire simulée et l'augmentation ou la réduction de leur valeur ont permis d'avoir des écarts importants entre la masse racinaire simulée et celle observée (tableau 3). Globalement, l'augmentation des valeurs des traits (Dmax, Dmin, DIdm et elong) de l'ordre de 20% a permis de simuler une masse plus élevée que celle de référence simulée. La réduction de 20% des valeurs des traits a permis de simuler une masse plus faible que la masse racinaire simulée de référence. Inversement pour le trait Ibd, une réduction de 20% des valeurs a permis de simuler une masse plus élevée et inversement.

Le modèle est plus sensible à l'augmentation de 20% des valeurs des traits, ce qui a engendré des variations très importantes de la masse simulée. Les traits induisant les variations de masse les plus importantes sont « Dmax », « Dmin » et « elong », en particulier en augmentant les valeurs de +20% : ils portent donc sur les processus d'élongation et de durée croissance. L'intensité de la variation de la masse a dépendu également du génotype.

Tableau 3 : Variation relative de la masse racinaire simulée en S4 en variant +/-20% la valeur de trait.

G	P	Variation globale en S4 (%)	Dmax		Dmin		ibd		DIDm		elong	
			-20%	+20%	-20 %	+20 %	-20 %	+20 %	-20 %	+20 %	-20 %	+20 %
1	HP	60,05	-46,34	109,05	-44,25	105,11	59,51	-22,35	-36,42	58,86	-39,97	68,26
	LP	17,20	-54,49	85,55	-48,25	101,14	38,75	-20,25	-27,65	27,95	-43,66	52,98
2	HP	-26,53	-43,96	152,75	-30,18	133,26	97,77	-7,47	-17,88	75,95	-14,40	116,46
	LP	35,90	-49,95	111,90	-36,99	131,39	54,81	-11,29	-4,11	50,77	-35,60	81,50
3	HP	6,28	-55,43	95,64	-35,72	90,91	59,62	-28,09	-34,75	69,58	-41,18	69,80
	LP	-35,64	-49,67	116,36	-41,77	109,54	56,14	-16,27	-15,78	39,15	-40,21	70,41
4	HP	29,26	-41,52	148,90	-28,79	144,47	75,41	7,32	-14,95	127,92	-28,55	110,02
	LP	2,50	-32,37	136,14	-32,58	198,58	119,80	7,37	-4,82	79,19	-17,14	140,57
5	HP	-3,43	-54,02	130,34	-32,66	115,48	75,60	-13,64	-26,71	76,18	-35,09	74,50
	LP	-16,05	-31,05	137,92	-33,28	174,17	76,29	0,09	-6,01	65,99	-22,51	121,34
6	HP	8,48	-55,48	163,70	-36,78	117,51	82,16	-18,60	-28,50	106,42	-38,54	114,14
	LP	-2,93	-43,40	122,61	-36,76	169,13	64,04	4,16	-6,81	80,13	-30,22	111,12
7	HP	126,73	-48,54	166,16	-39,40	123,11	83,98	-19,36	-34,99	113,30	-39,33	112,74
	LP	233,31	-50,04	97,60	-49,24	120,25	75,49	-16,64	-23,48	63,58	-39,74	68,85
8	HP	-33,83	-53,23	112,77	-36,10	91,92	48,37	-12,26	-18,64	39,65	-36,94	54,36
	LP	-41,83	-49,34	73,88	-40,23	96,46	23,46	-20,87	-16,19	17,88	-35,64	53,63
9	HP	-42,81	-55,23	107,78	-35,68	116,26	50,51	-17,53	-24,89	59,05	-30,93	79,47
	LP	-9,62	-49,54	90,86	-41,81	117,48	56,70	-13,56	-12,00	36,56	-33,35	85,29
10	HP	11,13	-57,28	104,94	-40,98	98,80	28,66	-17,98	-35,60	56,79	-42,46	48,41
	LP	-31,64	-46,50	104,34	-40,20	135,74	46,70	-6,81	-9,17	50,08	-33,94	68,03
11	HP	45,12	-54,96	120,54	-36,32	146,65	68,35	-21,09	-25,56	87,85	-37,62	95,03
	LP	59,91	-38,38	145,75	-47,37	169,72	74,24	-15,74	-20,93	64,19	-26,63	92,03
12	HP	-4,20	-50,11	108,76	-31,14	80,44	51,15	-13,22	-28,93	51,98	-45,00	83,08
	LP	16,06	-46,11	96,43	-37,79	103,59	46,32	-6,79	-11,22	29,32	-34,47	60,56
13	HP	81,19	-54,20	121,43	-36,46	94,90	68,22	-15,59	-24,55	73,08	-32,25	94,42
	LP	3,34	-34,17	119,91	-30,68	126,39	76,32	7,28	1,92	64,67	-21,18	91,88
14	HP	-36,29	-57,48	88,41	-40,59	73,38	31,75	-26,39	-33,89	57,23	-41,89	61,06
	LP	-62,94	-51,66	92,42	-39,43	86,76	37,44	-18,64	-21,21	28,33	-40,53	52,45
Moyenne	HP	15,79	-51,98	123,66	-36,07	109,44	62,93	-16,16	-27,59	75,27	-36,01	84,41
	LP	11 ,96	-44,76	109,40	-39,74	131,45	60,46	-9,14	-12,68	49,84	-32,49	82,19

IV.3.2. Simulation des traits intégrés

D'autres variables intégratives ont été calculées à partir des résultats des simulations. Ces traits ont été calculés avec les paramètres de la stratégie S4, qui permet de simuler l'effet du P sur l'architecture sans biais systématique.

La longueur totale simulée des racines pour une durée de 30 jours se situe entre 10 m et 36 m en LP, et entre 11 et 59 m en HP (Fig.4 A). La longueur totale des racines a été réduite en LP, avec une moyenne de réduction de l'ordre de 17%. La réduction la plus forte de la longueur totale des racines a été observée chez le génotype G7 (-38%).

Une augmentation systématique de la longueur spécifique des racines (SRL) a été observée chez tous les génotypes en LP. La surface racinaire spécifique (SRL) varie entre 53 m/g⁻¹ et 68 m/g⁻¹ en LP et entre 41 et 53 m/g⁻¹ en HP (Fig. 4 B).

La surface racinaire simulée varie entre 0.03 et 0.12 m² en LP et entre 0.04 et 0.22 m² en HP. La surface racinaire est plus faible en LP, avec une réduction moyenne de l'ordre de 25%. Les génotypes G3 et G7 ont eu les surfaces racinaires les plus larges en LP et HP.

Le volume colonisé a été calculé en plongeant le système racinaire dans un espace de voxels de 6mm et de 24 mm pour calculer le volume situé à environ 3 mm et 12 mm respectivement aux alentours des racines. En considérant des voxels de 6 mm, le modèle simule un volume qui varie entre 349 et 1182 cm³ en LP, et entre 346 et 1661 cm³ en HP. Il a été réduit d'environ 4% en moyenne en LP comparé à HP. En revanche, dans l'espace de voxels de 24 mm, le modèle a simulé un plus grand volume colonisé en LP comparé à HP (Fig. 4 F), avec une variation allant de 4409 et 11860 cm³ en LP et entre 3128 et 11068 cm³ en HP, soit une augmentation moyenne de 13% en LP par rapport à HP. Les génotypes G3 et G7 ont eu les volumes colonisés les plus élevés en LP et HP.

Ces traits intégrés longueur totale, surface racinaire, longueur spécifique et volume colonisé sont fortement auto corrélés, du fait de leur définition. La mise en relation de ces traits avec la PUE a montré des résultats similaires. La PUE a été corrélée positivement à la longueur totale des racines ($r=0.40$, $p<0.01$ en LP et HP), la surface racinaire ($r=0.42$, $p<0.01$ en LP et HP), au volume à 6mm ($r=0.43$, $p<0.01$ en LP et HP) et négativement au SRL ($r=-0.35$ en HP et $r=-0.46$ en LP, $p<0.01$).

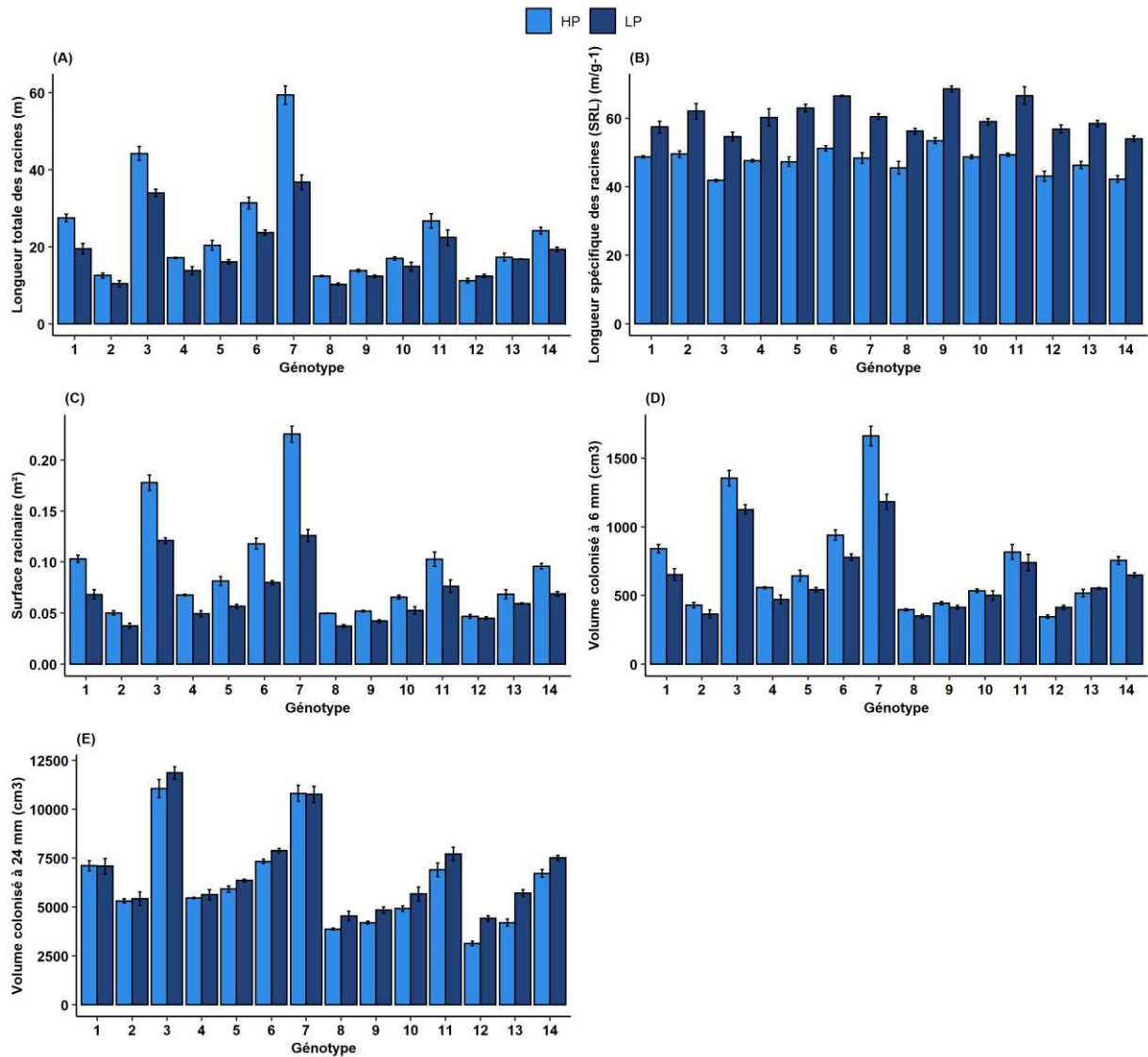


Figure 4 : Valeurs moyennes des traits simulés chez 14 génotypes de laitue cultivés dans des conditions limitantes et non limitantes en P.

IV.3.3. Efficience de colonisation

La corrélation entre la biomasse simulée et le volume colonisé simulé dans des voxels de 6 mm est positive et forte en LP ($r=0.98$, $p<0.001$) et HP ($r=0.98$, $p<0.001$) (Fig. 6 A). De même, le volume colonisé dans des voxels de 24 mm est corrélée positivement à la biomasse en LP ($r=0.97$, $p<0.001$) et HP ($r=0.95$, $p<0.001$) (Fig. 6 B).

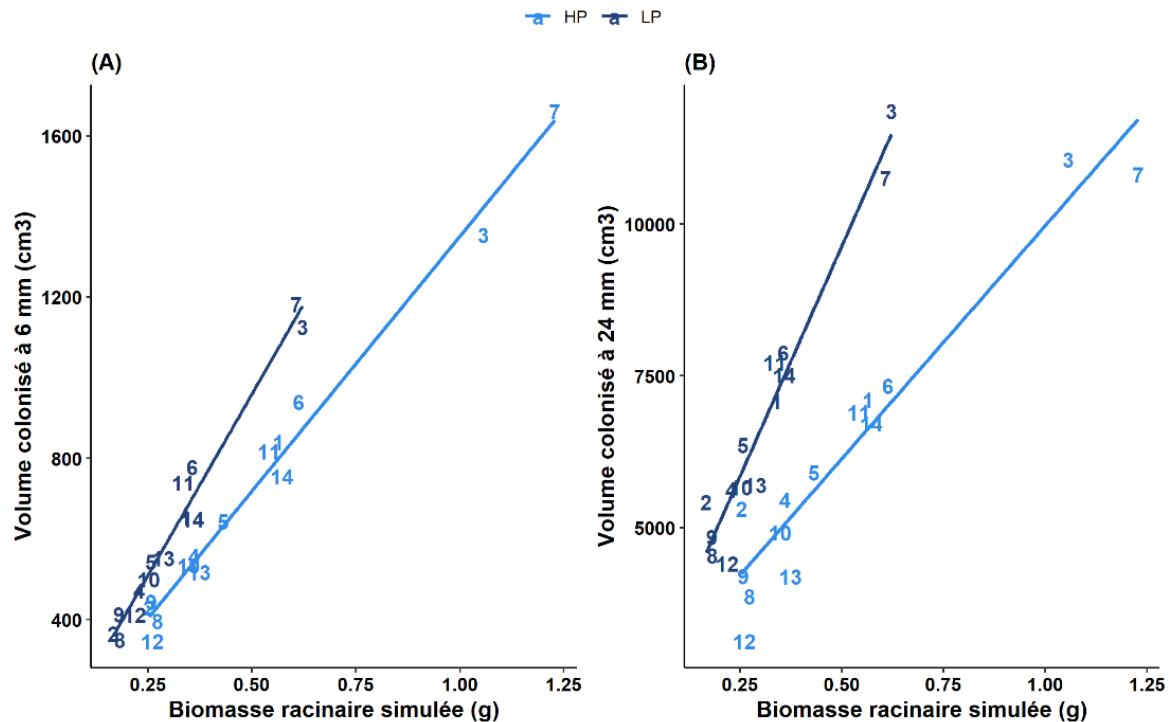


Figure 5 : Relation entre volume colonisé et biomasse racinaire simulée.

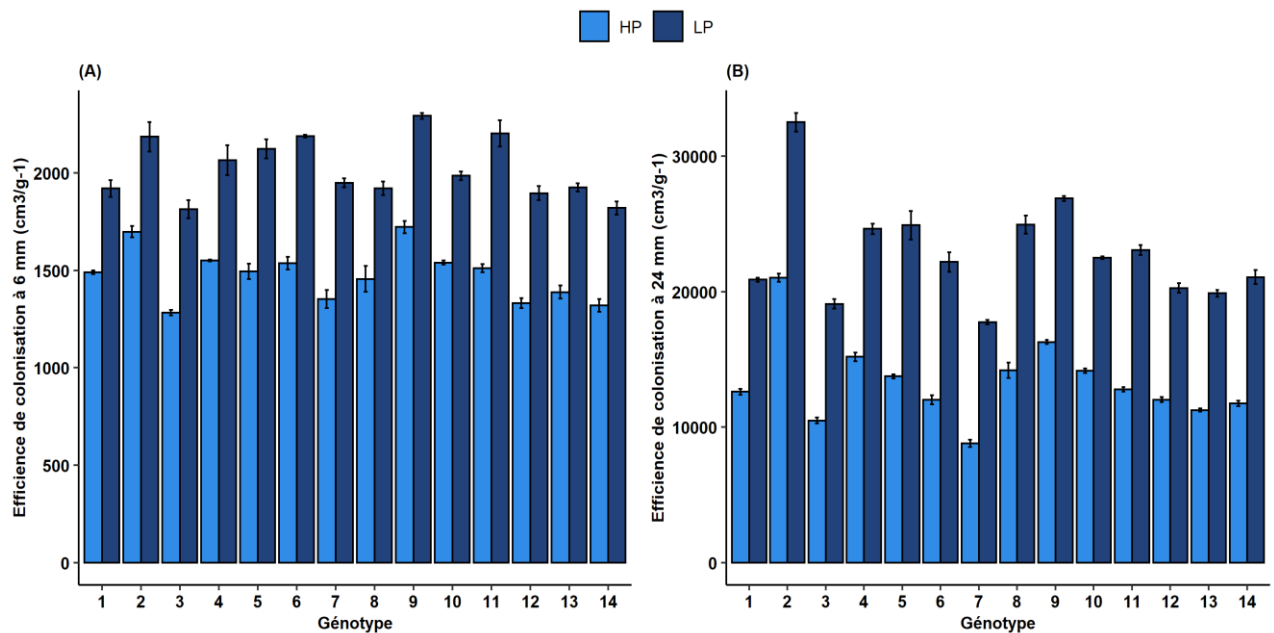


Figure 6 : Efficience de colonisation dans des voxels de 6 mm (A) et de 24 mm (B).

Les efficacités de colonisation calculées à partir d'un volume simulé dans un espace de voxels de 6 mm ou 24 mm sont plus élevées en LP chez tous les génotypes (Fig. 6 A, B). On peut faire l'hypothèse que les génotypes ayant une efficacité de colonisation élevée auront la possibilité de mieux explorer le sol et acquérir plus de P.

En LP, le trait « ibd » était le déterminant majeur de l'efficacité de colonisation (24 mm)

($r=0.91^{**}$). En HP, l'efficacité de colonisation est positivement associée à « ibd » et « elong » ($r=0.81^*$ et 0.91^{**} respectivement, et négativement à « Dmax » ($r=-0.90^{**}$).

IV.4. Discussion

L'objectif de ce travail était d'étudier la capacité d'un modèle d'architecture racinaire basé sur un nombre réduit d'équations et de paramètres à simuler la variabilité génotypique et la réponse à la disponibilité en P. La particularité du modèle utilisé est qu'il n'y a pas de formalismes simulant l'effet de l'environnement sur les processus d'émission, de croissance ou de ramification. Ce sont les valeurs choisies des paramètres qui permettent de simuler implicitement ces processus dans des environnements et pour des génotypes variés. La démarche réalisée ici s'apparente à une étape de calibration, mais pas de validation du modèle, dans la mesure où l'on s'est limité à utiliser des observations expérimentales pour obtenir des paramètres et une variable intégrée, la masse du système racinaire, qui est comparée à une valeur simulée. Une démarche de validation du modèle aurait demandé de comparer des données observées et simulées à partir d'observations n'ayant pas servi à la paramétrisation.

IV.4.1. Évaluation de la simulation du modèle

La simulation de la masse racinaire a été effectuée en se basant sur 4 stratégies pour tester le fonctionnement du modèle en tenant compte de la variabilité génotypique et du niveau de P. Dans la simulation S1, les valeurs des traits pour chaque plante ont été utilisées. Cette stratégie est très similaire de celle S3 où une valeur moyenne a été considérée pour chaque génotype plutôt que les plantes individuelles. Ces deux stratégies de simulation en reproduisant chaque couple génotype x P étaient a priori les plus à même de rendre compte de la variabilité expérimentale observée. Cependant, les résultats obtenus ont montré que la masse racinaire simulée en S1 et S3 était systématiquement surestimée en HP et sous-estimée en LP à l'exception des génotypes G14 et G7. Dans S1 et S3, le modèle estime une réduction de la masse racinaire de l'ordre de 75% en LP comparée à HP. Cette réduction est beaucoup plus élevée par rapport à la réduction de la masse racinaire observée en LP comparée à HP (25%).

Pour pallier à cela, une correction des valeurs des traits a été faite dans la stratégie S4 en utilisant un effet moyen de P sur Dmax, ibd et DIDm. Le trait « elong » avait été mesuré expérimentalement uniquement sur le pivot. Dans le modèle, ce trait est appliqué à toutes les catégories de racines. Une étude complémentaire sur la relation entre le diamètre et la longueur des racines fines a montré qu'à diamètre égal, les racines sont plus longues en LP. On peut faire l'hypothèse que ces racines ont pu pousser plus vite, ou plus longtemps ou les deux. En se basant sur cette hypothèse, une correction a été faite dans la stratégie S4 pour diminuer les

valeurs de *elong* en HP et les augmenter en LP. Suite à ces observations, le paramètre « *growthdur* » du modèle qui renseigne sur la durée de croissance a été également modifiée (55 jours en HP et 70 jours en LP).

La stratégie S4 a permis d'enlever l'effet systématique du P sur les écarts entre la masse simulée et celle observée. Globalement, on a une estimation correcte de la masse racinaire en S4 avec une réduction de la biomasse racinaire de l'ordre de 35% en LP comparé à HP qui est plus proche à celle observée (de l'ordre de 25%). Cependant, une surestimation systématique de la biomasse chez le génotype G7, et une sous-estimation de celle-ci chez les deux génotypes G8 et G14 en LP ont été constatées.

L'effet du génotype a été considéré dans la stratégie S2. Une valeur moyenne par génotype a été calculée pour chaque trait sans tenir compte de l'effet P. Cette stratégie a permis d'avoir des masses simulées proches de celles observées. L'erreur moyenne relative entre la masse racinaire simulée et observée est de l'ordre de 40%. Une simulation a été faite en utilisant une valeur moyenne de tous les génotypes pour chaque trait pour déterminer l'erreur moyenne pour tous les génotypes (résultats non montrés). On a obtenu une erreur moyenne entre masse simulée et observée plus grande, de l'ordre de 57% avec une sous-estimation systématique de la masse racinaire. Ce résultat souligne l'importance de tenir compte de la variabilité génotypique dans le modèle pour réduire l'erreur de simulation en S2.

La stratégie S4 a été identifiée comme la meilleure méthode pour mieux simuler la masse racinaire. En revanche, la masse racinaire de certains génotypes (G3, G14 et G7) reste mal estimée. Aucune particularité spécifique n'a été identifiée chez ces génotypes pour expliquer ces résultats. L'analyse de sensibilité effectuée en S4 a permis d'identifier les paramètres d'entrée du modèle les plus sensibles. En effet, une variation de l'ordre de +20% de la valeur des traits *Dmax*, *Dmin*, *elong* et *DlDm* a conduit à des variations très importantes de la masse simulée. Les traits qui renseignent sur la croissance et l'élongation (*Dmax*, *Dmin* et *elong*) sont identifiés comme les paramètres les plus sensibles du modèle et qui ont contribué à des variations plus importantes de la masse simulée. Cette première réflexion d'analyse de sensibilité mériterait d'être réalisée de manière plus exhaustive en utilisant des méthodes statistiques plus appropriées afin de mieux étudier l'effet de chaque trait et en étudiant les effets de variations croisées entre plusieurs traits.

IV.4.2. Simulation des traits intégrés

Le modèle nous a permis de simuler des traits intégrés du système racinaire. Ces traits sont : la longueur totale, la surface racinaire, la longueur spécifique (SRL) et le volume exploré. Ces traits ont été calculés à partir des coordonnées des segments racinaires obtenus dans le

fichier de sortie de modèle. Ces traits sont complexes et difficiles à déterminer expérimentalement. Dans la littérature, ces traits sont souvent liés à l'acquisition du P.

Chez *Beta vulgaris*, une augmentation accrue de la longueur totale des racines en faible P a contribué à une augmentation de l'absorption du P d'environ 25% (Steingrobe, 2001). Le même résultat a été constaté chez l'orge (Steingrobe *et al.*, 2001; Heydari *et al.*, 2019). Dans notre étude, le modèle a simulé une longueur totale des racines plus faible en LP. Nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus chez d'autres espèces tels que le haricot mungo (Reddy *et al.*, 2020) et la patate douce (Minemba *et al.*, 2019).

Le modèle a simulé également une surface racinaire plus faible en LP chez les 14 génotypes, avec une réduction moyenne d'environ 21%. Chez la pomme de terre, une réduction plus importante de la surface racinaire (60%) a été observée en faible P (Fernandes *et al.*, 2014). Une surface racinaire large permet d'explorer un plus grand volume et d'augmenter la capacité d'acquisition de P (Marques *et al.*, 2020). Dans notre étude, la surface racinaire et la longueur totale sont autos corrélées par construction. Ces deux traits sont corrélés positivement à la PUE en LP et HP et par conséquent à la PUPe, le principal déterminant de la PUE dans le genre *Lactuca*.

La longueur spécifique des racines (SRL) est un trait pertinent et il est un bon indicateur de modification de l'environnement. Le modèle a simulé une SRL plus élevée en LP chez tous les génotypes. Cette réponse est commune et elle a été observée chez plusieurs espèces (Gahoonia and Nielsen, 2004; Minemba *et al.*, 2019). Des valeurs de SRL similaires à nos résultats ont été obtenues chez le maïs. Selon da Silva *et al.* (2016) une augmentation du SRL a été associée à une plus grande efficacité d'absorption du P chez des cultivars de blé, et ce paramètre pourrait être utilisé pour identifier les variétés les plus efficaces en absorption du P. Selon nos résultats, le SRL simulée est corrélée négativement à la PUE en LP et en HP.

Le volume exploré par le système racinaire a été simulé en plongeant le système racinaire dans un espace de voxels de 6 mm ou 24 mm. Cela donne des approches de la rhizosphère avec des dimensions variables, soit 3 mm et 6 mm aux alentours du système racinaire. Ge *et al.* (2000) ont utilisé cette notion de voxel pour calculer le volume de la zone de déplétion en P. L'inconvénient de cette méthode réside du fait que chaque segment de racine a son propre voxel et que ces segments peuvent se chevaucher, la somme des volumes de tous les voxels surestime donc le volume exploré par le système racinaire.

Les résultats de simulations ont montré que le volume exploré à 6 mm a diminué globalement en LP (10%). En revanche, pour les voxels de 24 mm, le modèle a simulé un plus grand volume en LP comparé à HP, avec une augmentation moyenne de l'ordre de 15%. Cette

augmentation du volume pourrait être expliquée par la méthode utilisée en considérant des voxels de 24 mm. On peut aussi faire l'hypothèse que les racines fines plus longues en LP ont pu explorer plus de volume.

Le ratio volume/biomasse a été calculé pour estimer un nouvel indicateur d'efficacité qui est l'efficacité de colonisation du milieu par le système racinaire. En effet, une variabilité génotypique de cette efficacité pourrait favoriser une meilleure exploration du milieu et acquérir plus de P. Les résultats de simulation ont montré que la biomasse et le volume de sol colonisé sont corrélés en LP et HP. Cependant, la relation entre ces deux traits est différente en fonction du traitement P. Pour une même biomasse, on a eu une augmentation du volume exploré en LP, avec une augmentation beaucoup plus marquée en considérant des voxels de 24 mm. L'efficacité de colonisation a été associée à « ibd », le trait qui renseigne sur la ramification du système racinaire. L'importance de chacun des traits dans les réponses sur l'efficacité de colonisation devrait être menée par une analyse de sensibilité pour mieux évaluer la contribution de chaque trait seul et en corrélation avec les autres.

IV.5. Conclusion

Les données expérimentales des traits racinaires ont permis de paramétrer le modèle ArchiSimple en tenant compte de la variabilité génotypique à chaque niveau de disponibilité de P. Le modèle était capable de simuler correctement la masse racinaire pour certains génotypes, mais pas pour d'autres, particulièrement les génotypes G3, G7 et G14. À partir des données de la masse racinaire simulée, on a pu calculer par simulation un ensemble de traits intégrés pour chaque génotype et chaque niveau de P, qui sont parfois mesurés dans la littérature : longueur totale, nombre de racines, SRL, surface racinaire.

Le volume colonisé a été estimé en plongeant le système racinaire dans un espace de voxels. Le modèle a simulé un plus grand volume quand le P est limitant. Le volume exploré simulé a été fortement corrélé à la masse racinaire simulée. Le ratio entre ces deux traits a abouti à une efficacité de colonisation qui pourrait être un indicateur d'exploration du sol.

Cette démarche de modélisation n'est cependant pas achevée. Elle semble être intéressante pour enrichir le travail mené durant cette thèse. L'étude devrait être complétée par une analyse de sensibilité par exemple par criblage globale pour explorer la variation de la sortie de modèle à partir d'une gamme de variation définie des paramètres d'entrée du modèle.

**Chapitre V : Caractérisation de la variabilité génotypique
de la croissance aérienne et de l'efficacité d'utilisation du
P chez 50 géotypes du genre *Lactuca*.**

V.1. Introduction

L'étude précédente a confirmé l'existence d'une variabilité génotypique de l'architecture racinaire et l'effet de la disponibilité en P sur celle-ci, au sein d'un panel de 14 géotypes du genre *Lactuca* représentant cinq types morphologiques différents. La surface foliaire et les teneurs en P dans la plante ont été les variables les plus sensibles à la variation du P, avec des réductions fortes de l'ordre de 61% et 57% respectivement en LP comparé à HP. Cela s'est accompagné d'une réduction de la masse des feuilles d'environ la moitié, avec des variations selon les géotypes.

La littérature rapporte des teneurs en P recommandées pour une croissance optimale. Il apparaît que ces teneurs en P optimales sont susceptibles de diminuer au cours du cycle de la plante, à mesure que s'accroît la masse sèche. Cela est dû à un effet de dilution de P, analogue à celui que l'on observe pour l'azote, et qui a été largement décrit (Lemaire *et al.*, 2008). Williams (1948) a expliqué le phénomène de dilution de P par le fait qu'un apport supplémentaire de P induit une stimulation de la production de matière sèche (notamment les carbohydrates et les protéines) favorisant ainsi la dilution de la quantité accrue de P absorbée. Selon Duru *et al.* (1992) la courbe de dilution du P, qui représente la relation entre la biomasse et la teneur en P, permet de déterminer les valeurs critiques de P qui sont un bon indicateur de l'état de nutrition des plantes.

Des courbes de dilution critiques de P ont été rapportées chez plusieurs espèces telles que la pomme de terre (Soratto *et al.*, 2020; Nyiraneza *et al.*, 2021), le blé (Raut, 2017). Cependant, à notre connaissance il n'y a pas de données rapportées pour la laitue. Bolland and Brennan (2005) ont rapporté que les teneurs en P critiques diminuent avec l'âge de la plante, c'est à dire avec l'augmentation de la masse sèche produite. Il en résulte une réduction relative du contenu en P dans la plante qui est le produit de ces deux variables (masse x teneur en P), ainsi qu'une augmentation de l'efficacité d'utilisation du P (PUtE). Une variété efficiente en P est considérée capable de maintenir la production de biomasse dans des conditions déficientes en P. Selon Ahmad *et al.* (2001), la PUtE dépend de la durée de croissance des plantes, par conséquent elle varie au cours du cycle en fonction de la masse produite et du contenu en P dans les tissus. De la même manière, Rose and Wissuwa (2012), ont lié la variation de l'efficacité d'utilisation au géotype et aux conditions de milieu. Beebe *et al.* (1997) ont attribué la variabilité génétique de l'efficacité d'utilisation de P chez le haricot à l'origine géographique des cultivars utilisés et ils ont suggéré d'étudier un grand nombre de géotypes pour détecter une variation génétique de la PUtE.

L'étude des efficacités en P chez les 14 génotypes du genre *Lactuca* (chapitre 2 et 3) a révélé l'existence d'une variabilité génotypique significative de la PUE et de ses composantes en réponse au faible P. La PUE se situe entre 16.27 gMS/gP appliqué et 69.92 gMS/gP appliqué en HP, et entre 61.24 gMS/gP appliqué et 455.05 gMS/gP appliqué en LP. L'efficacité d'acquisition (PU_PE) était le principal déterminant de la PUE en LP et HP. En LP, la PUE était corrélée positivement à la PU_tE, mais il n'y avait pas de corrélation significative en HP. Buso and Bliss (1988) ont étudié l'efficacité d'utilisation de P chez 15 variétés de laitue cultivées dans un mélange de substrat (sable et alumine) et à deux niveaux de P et ils ont montré une variabilité génétique de l'efficacité d'utilisation de P avec des valeurs allant de 407 mg MS/ mg P par plante à 526 mg MS/ mg P par plante en faible P (CV=7%), et de 264 mg MS/ mg P par plante à 328 mg MS/ mg P par plante en P disponible (CV=6%). Ces valeurs sont comparables à nos résultats de PU_tE chez les 14 génotypes en LP (333-574 mg MS/ mg P par plante (CV=11%), mais plus forte en HP (159-236 mg MS/ mg P par plante (CV=10%). Cock *et al.* (2002) ont également étudié les efficacités de P chez 19 variétés de laitue appartenant à trois cultigrupes cultivées en mélangeant du sable et du sol. Ils ont montré que l'efficacité d'utilisation de P varie significativement en fonction du génotype et à chaque niveau de P avec des coefficients de variation qui sont plus élevés, de l'ordre de 21 % et 18% en faible P et en P non limitant respectivement.

Notre précédente étude a été menée sur des plantes très jeunes et un nombre limité de génotypes, cultivés dans un dispositif expérimental spécifique pour caractériser la variabilité génétique des traits de l'architecture racinaire en réponse au P, ainsi que leur contribution à l'efficacité d'utilisation de P. Il nous semble donc intéressant de vérifier la robustesse des résultats obtenus dans un panel plus large de génotypes, sur des plantes plus âgées et dans d'autres conditions de P.

Une expérience complémentaire, limitée à du phénotypage aérien, a été donc menée en serre. Les objectifs de cette étude sont : (1) d'étudier l'effet du P sur la croissance et l'efficacité d'acquisition du P chez 50 génotypes du genre *Lactuca* (2) de comparer et d'étendre chez les 14 génotypes communs dans les deux essais les résultats obtenus.

V.2. Matériel et méthodes

V.2.1. Matériel végétal et semis

L'essai a été mené en serre de Décembre à Janvier 2020. 50 génotypes de laitue ont été utilisés : le principe de construction de l'échantillon a été le même que dans l'essai sous tunnel, à savoir représenter une diversité de types variétaux, d'origines géographiques, de niveau

d'amélioration génétique et de date d'obtention pour les variétés sélectionnées. (Tableau 1 ; les 14 génotypes communs aux essais sous serre et sous tunnel sont représentés en gras).

Tableau 1 : Liste des génotypes utilisés

N°	Espèce	Type	classe	Nom	Date inscription	Origine/Mainteneur
1	<i>L. serriola</i>	sauvage	sauvage	LS367	NI	collecte BM 1990
2	<i>L. serriola</i>	sauvage	sauvage	LS258	NI	collecte Inrae 1982
3	<i>L. saligna</i>	sauvage	sauvage	CR17	NI	pathologiste de GB
4	<i>L. saligna</i>	sauvage	sauvage	PI 261653	NI	Portugal
5	<i>L. virosa</i>	sauvage	sauvage	LS238	NI	collecte Inrae 1982
6	<i>L. virosa</i>	sauvage	sauvage	PIVT280	NI	Jardin Horticole
7	<i>L. sativa</i>	sauvage	sauvage	PI251245	NI	Egypte
8	<i>L. sativa</i>	beurre	ancien	Bourguignonne	1952	LC0091
9	<i>L. sativa</i>	beurre	ancien	Merveille des quatre saisons	1952	LC0365
10	<i>L. sativa</i>	batavia	ancien	De Pierre Bénite	1952	LC0443
11	<i>L. sativa</i>	batavia	ancien	Rouge grenobloise	1952	LC0496
12	<i>L. sativa</i>	batavia	ancien	Reine des glaces	1952	LC0477
13	<i>L. sativa</i>	feuille de chêne	ancien	Feuille de chêne blonde	1931	LC0205
14	<i>L. sativa</i>	feuille de chêne	ancien	Red salad bowl	avant 1970	LC0473
15	<i>L. sativa</i>	romaine	ancien	Blonde lente à monter	1952, puis réinscrite 1991	LC0082
16	<i>L. sativa</i>	romaine	ancien	Little leprechaun	avant 2002-radiée 2015	LC0324
17	<i>L. sativa</i>	rougette/sucrine	ancien	Green Mignonette	NI	LC0245
18	<i>L. sativa</i>	rougette/sucrine	ancien	Gallega de invierno	NI	LC0230
19	<i>L. sativa</i>	tige	ancien	Red Orient	NI	LC0706
20	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Yeti	2016	Gautier
21	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Olmetie	NI	Rijk Zwaan
22	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Costabella (BVA6660)	NI	Vilmorin
23	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	SVLA4113	non trouvée au catalogue	Seminis
24	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Ferega	2017	Enza Zaden
25	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Gondola	2017	Syngenta
26	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Granola	non trouvée au catalogue	Syngenta
27	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Toutatis (SVLA 3345)	non trouvée au catalogue	Seminis
28	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Solasie	2015	Rijk Zwaan
29	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Madie	2015	Rijk Zwaan
30	<i>L. sativa</i>	Batavia	moderne	Voulsky	2017	Rijk Zwaan
31	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Minibar (BRA 730)	non trouvée au	Vilmorin

					catalogue	
32	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Lavendria	2012	Rijk Zwaan
33	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Panukia	2015	Syngenta
34	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Nenufar	non trouvée au catalogue	Vilmorin
35	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Espelo	2018	Enza Zaden
36	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Ondatra	2015	Rijk Zwaan
37	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Meteore	2015	Syngenta
38	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	SVLB4169	non trouvée au catalogue	Seminis
39	<i>L. sativa</i>	beurre	moderne	Fakto	2014	Enza Zaden
40	<i>L. sativa</i>	Chêne blonde	moderne	Kilervi	2016	Rijk Zwaan
41	<i>L. sativa</i>	Chêne blonde	moderne	Belanice	2015	Gautier
42	<i>L. sativa</i>	Chêne blonde	moderne	Ivernice	2015	Gautier
43	<i>L. sativa</i>	Chêne blonde	moderne	Kimenez	non trouvée au catalogue	Rijk Zwaan
44	<i>L. sativa</i>	Chêne blonde	moderne	Padawane	2015	Vilmorin
45	<i>L. sativa</i>	Chêne rouge	moderne	E01C.30497	non trouvée au catalogue	Enza Zaden
46	<i>L. sativa</i>	Chêne rouge	moderne	Zoumai	2016	Rijk Zwaan
47	<i>L. sativa</i>	Rougette	moderne	Joviale	2010	Gautier
48	<i>L. sativa</i>	Sucrine	moderne	Socca	2009	Gautier
49	<i>L. sativa</i>	Lollo blonde	moderne	Azory	2016	Enza Zaden
50	<i>L. sativa</i>	Lollo blonde	moderne	Jokary	2018	Enza Zaden

V.2.2. Semis et mise en culture des plantes

Les semis ont été réalisés mi-novembre 2019 dans des petits dés de laine de roche placés dans une chambre de culture réglée à une température de 17°/20° jour/nuit. Après une semaine, les plantules ont été repiquées en insérant les dés dans des cubes de laine de roche en serre. Durant cette période d'acclimatation, les plantes ont été arrosées par une solution nutritive commerciale (liquoplant) pendant une semaine.

Dès l'enracinement des plantules, les cubes de laine de roche ont été déposés sur des pots en plastique de 4l, remplis d'un mélange (1 :1 V) de pouzzolane et vermiculite. 3 plantes par variété à 3 niveaux d'alimentation en P ont été mises en place, soit 450 plantes au total. Deux lots de 25 variétés ont été chacun répartis dans deux compartiments de serre adjacents, régis par les mêmes consignes climatiques. Dans chaque compartiment, les pots ont été disposés en rangs de 25 pots sur l'axe O-E, avec 4 double rangs et 1 simple rang le long de la bordure sud des compartiments. Pour chaque rang le traitement nutritif a été attribué aléatoirement (du sud au nord : P3, P1, P2, P1, P2, P3, P2, P3, P1). Chaque pot était équipé d'un goutteur d'un débit de 2l/h raccordé à la ligne de fertirrigation du traitement correspondant.

Trois traitements de fertirrigation ont été mis en place le 17 Décembre 2019, avec des solutions à 0.1mM (P1), 0.2 mM (P2) et 1 mM (P3). Le principe de compensation anions-cations a été le même que celui décrit pour l'essai en tunnel, avec des variations des

concentrations d'apport de $\text{NH}_4\text{-NO}_3$, KNO_3 , et KH_2PO_4 , en considérant que les différences de concentration en NH_4^+ dans les solutions, inférieures à 1 mM et avec un excès de NO_3^- (11 mM), avaient une incidence négligeable sur le fonctionnement des plantes. L'arrosage des plantes a été réalisé quotidiennement à l'aide d'un dispositif automatique contrôlé par un programmeur. Le nombre et la durée des irrigations fertilisantes ont été ajustés chaque jour, à partir de mesures de la teneur en eau des pots avec des capteurs d'humidité Decagon GS1. Une courbe d'étalonnage a été établie pour lier le signal électrique mesuré par les sondes à la teneur en eau dans les pots. Six sondes par traitement ont été utilisées. Les irrigations ont été ajustées, pour chaque traitement, de manière à ce que la teneur en eau avant chaque irrigation ne soit pas inférieure à 80-85% de la teneur en eau à la capacité au champ. Les quantités d'eau apportées durant l'essai, depuis le repiquage, ont été enregistrées pour pouvoir estimer la quantité totale de P apportée aux plantes à la récolte. La quantité de P appliquée à chaque plante a été calculée comme la somme de la quantité apportée en pépinière, de la quantité apportée pendant la phase d'acclimatation dans les pots, et de la quantité apportée entre le début des traitements nutritifs différenciés et la récolte. Une erreur dans le protocole a été identifiée au cours de l'expérimentation : les phosphates ont été introduits dans le bac de solution mère alcalin (contenant en particulier les ions calcium), au lieu du bac acide. En conséquence, une précipitation de phosphates de calcium a pu survenir, aboutissant à des concentrations en P en sortie de goutteurs inférieures aux concentrations attendues, en particulier pour le traitement P3 1 mM. Des mesures de contrôle ont été réalisées les 21/12/18, 02/01/19 et 14/01/19, mais la nature de l'erreur expérimentale n'a été identifiée qu'en fin d'essai. Les quantités de P apportées aux plantes ont donc été calculées à partir de ces concentrations mesurées en sortie de goutteur et non des concentrations « théoriques » issues des quantités de sels apportés. Elles ont été estimées à P1 : 34 mg, P2 : 44 mg et P3 : 85 mg. Mais avec cette correction, il apparaît (voir résultats) que certaines plantes ont accumulé davantage de P que ces apports calculés. En conséquence, les quantités indiquées permettent d'obtenir des approximations de masse de P apportées, et des écarts entre les traitements, mais avec une incertitude assez élevée. Il n'a donc pas été possible de quantifier avec précision une efficacité d'acquisition du P (PUPE) (rapport entre quantité apportée et quantité absorbée), et l'analyse a porté sur la quantité absorbée uniquement.



Photo 1 : Dispositif expérimental

V.2.3. Mesures non destructives sur les plantes avant la récolte

A partir du 14/12, une mesure hebdomadaire de la surface foliaire projetée a été réalisée : les plantes ont été photographiées avec une prise d'image verticale à partir d'un support de hauteur fixe. La surface foliaire projetée (cm²) a été obtenue par analyse d'image avec le logiciel Image-J (<https://imagej.nih.gov/ij>).

Environ trois semaines après la mise en place des traitements P, une mesure de la photosynthèse, de la transpiration, et de la conductance stomatique a été effectuée sur chaque plante, à l'aide d'une pince à photosynthèse (Li-Cor 6400, Lincoln, NE, USA) réglée en rayonnement émis fixe (800 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). Les mesures ont été réalisées entre le 07/01 et le 09/01 dans le compartiment 1 et entre le 14/01 et le 16/01 dans le compartiment 2. Les 9 plantes d'une même variété ont été mesurées dans une plage de temps réduite, permettant ainsi d'évaluer l'effet du traitement P sur les fonctions de transpiration et photosynthèse. En revanche, du fait du temps requis pour mesurer l'ensemble des 450 plantes, et d'un possible biais lié à l'évolution des conditions environnementales sur cet intervalle, malgré le forçage du rayonnement admis, ces mesures n'ont pas été utilisées pour comparer les variétés entre elles.

V.2.4. Récolte des plantes et analyses minérales

Les plantes ont été récoltées le 22/01/2020. Les masses fraîches des parties aériennes ont été mesurées immédiatement à la récolte. Un échantillon d'environ 100 g de chaque plante été séché à l'étuve à 70°C pendant 72h pour calculer sa teneur en eau, et en déduire la masse sèche correspondant à la plante entière. Les échantillons secs ont été broyés et stockés.

Les teneurs en éléments minéraux dans la matière sèche (particulièrement P, K, Mg et Ca) ont été quantifiées avec un analyseur par fluorescence à rayons X (XRF titan), selon la

méthode décrite aux chapitres précédents. En particulier, la même courbe de calibration par rapport à la méthode de référence ICP a été utilisée.

L'efficacité d'utilisation du P (PUtE) a été calculée comme le ratio entre la masse sèche aérienne produite (g) et la quantité de P absorbée (g). Cette PUtE « feuilles » diffère de celle calculée en tunnel, qui prenait en compte la masse des racines et leur quantité de P.

V.2.5. Analyses statistiques

Des descripteurs statistiques usuels et des analyses de la variance à deux facteurs (ANOVA) ont été réalisées pour étudier l'effet du traitement P, du génotype et de leur interaction sur les variables mesurées.

V.3. Résultats

Une analyse de la variance de la masse sèche des feuilles des plantes à la récolte avec les traitements génotype, dose de P et leur interaction rend bien compte de la variabilité observée ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.89$, 446 ddl), avec un effet significatif des traitements génotype et P ($p < 0.0001$) mais pas de leur interaction ($p = 0.22$). En outre, la variabilité de la masse sèche liée au P pour un génotype donné est apparue relativement faible par rapport à la variabilité de la masse sèche liée au génotype pour un niveau de P donné (moyenne des coefficients de variation de 18.3% et 45.4% respectivement). Ainsi les résultats sont-ils présentés en deux parties, une première portant sur l'analyse de la variabilité génotypique de la croissance sans tenir compte du niveau de P, la seconde s'attachant à décrire les effets des quantités de P apportées.

V.3.1. Croissance des génotypes

V.3.1.1. Biomasse sèche des feuilles

La masse sèche des feuilles à la récolte a varié de 0.98 g à 20.85 g (Fig. 1). Les génotypes sauvages se sont situés aux extrêmes de cette distribution : les génotypes de *L. serriola*, *L. saligna* et *L. virosa* ont produit les masses les plus faibles, tandis que la *L. sativa* sauvage (PI251245) et la laitue tige (Red orient) ont produit les biomasses les plus élevées. Les génotypes sauvages ayant une teneur en eau environ deux fois plus élevée que les génotypes cultivés, les écarts de masse fraîche entre les génotypes des espèces *serriola*, *saligna* et *virosa* et les génotypes cultivés étaient encore plus conséquents (données non montrées).

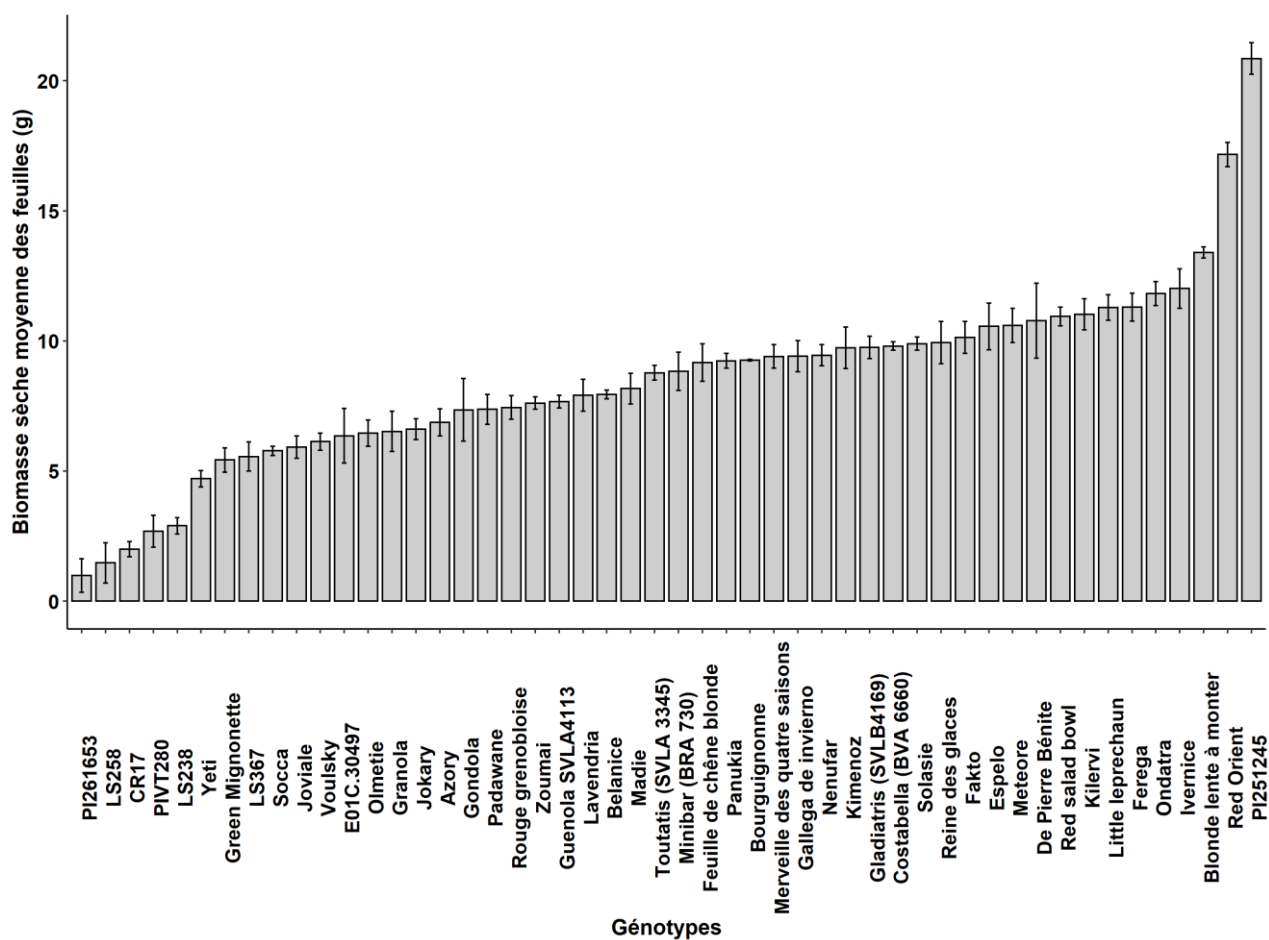


Figure 1 : Masse sèche moyenne produite par génotype.

Les barres représentent les moyennes (+/- écart type) calculées à partir de 9 répétitions biologiques pour chaque génotype indépendamment du traitement P.

Afin de comparer les différences génotypiques de croissance chez les 14 génotypes communs à l'essai serre et l'essai tunnel, l'indice de récolte d'une variété dans une expérimentation a été calculé comme le rapport entre la masse sèche moyenne des plantes de la variété et la masse sèche moyenne de la variété ayant eu la plus forte croissance dans chaque essai (moyennes sur 6 plantes en tunnel et 9 plantes en serre). La représentation graphique de ces indices de récolte montre une assez bonne concordance entre les deux essais (Fig. 2) : le classement par ordre croissant est assez similaire, avec cependant des différences pour Ferega et Kilervi qui ont respectivement mieux et moins bien cru en serre qu'en tunnel.

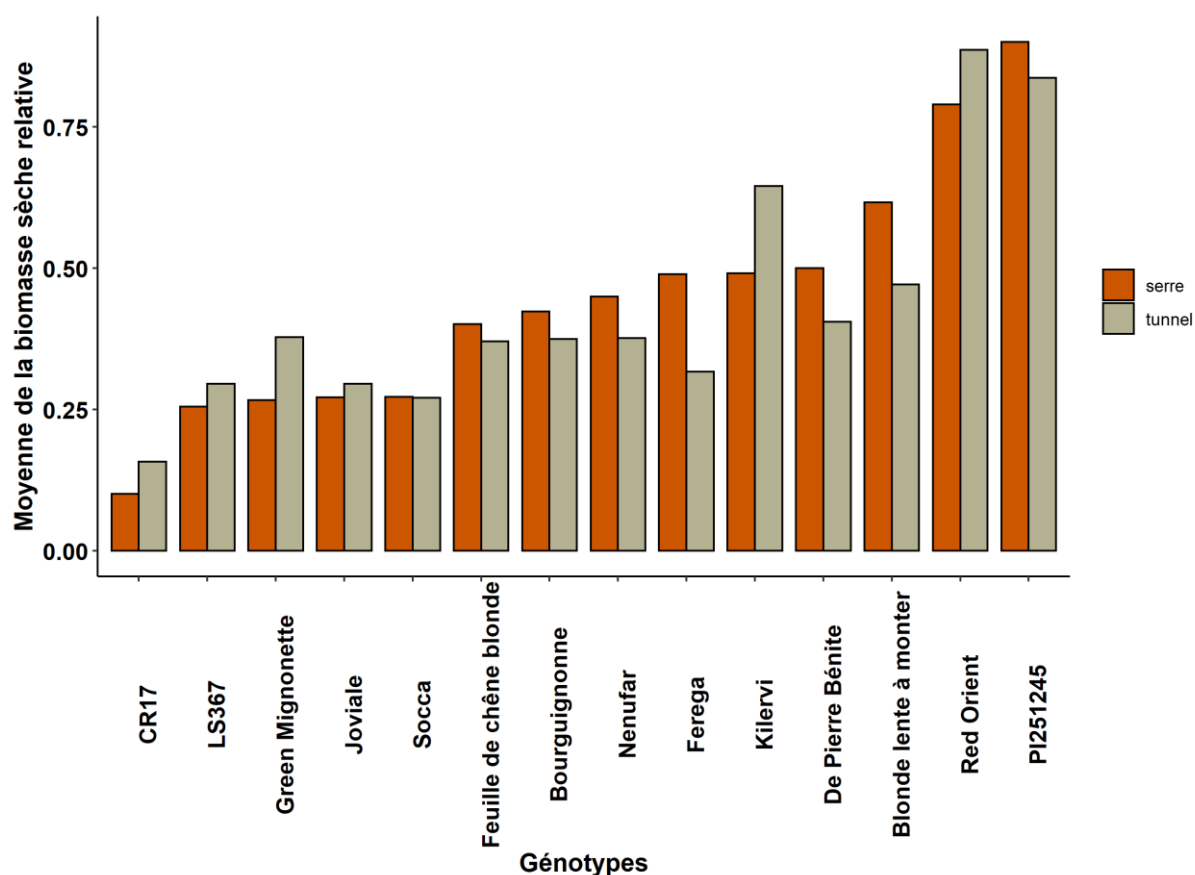


Figure 2 : Comparaison des indices de récolte chez les 14 génotypes sous serre et sous tunnel. Les barres représentent l'indice de récolte d'une variété qui est le rapport entre la masse sèche moyenne des plantes de la variété et la masse sèche moyenne de la variété ayant eu la plus forte croissance dans chaque essai.

V.3.1.2. Surface foliaire projetée

La dynamique, en $\text{cm}^2 \cdot \text{degrés jours}$, d'accroissement de la surface projetée des 50 génotypes est montrée dans la figure 3. Ces profils de croissance sont conformes aux observations de masse sèche à la récolte, les génotypes sauvages montrant une croissance faible en particulier en début de cycle, à l'exception de la *L. sativa* sauvage (PI251245) et de la laitue tige (Red orient), qui ont présenté une croissance très marquée les distinguant des autres génotypes. Corroborant ces observations, le coefficient de corrélation entre la surface projetée une semaine avant la récolte (662 degrés. jours) et la masse sèche à la récolte était de 0.93.

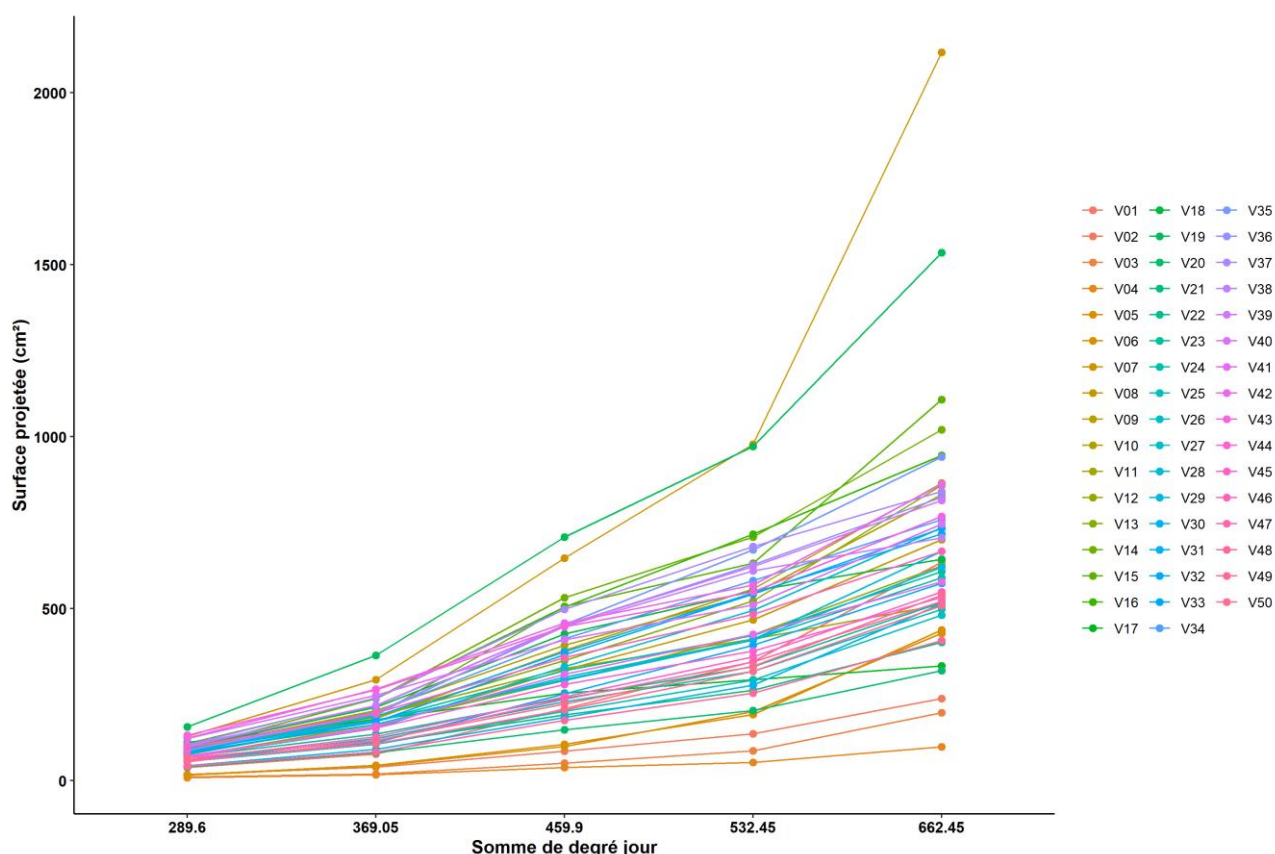


Figure 3 : Evolution de la surface projetée en dynamique chez les 50 génotypes.

Les points représentent les moyennes calculées à partir de 6 répétitions biologiques pour chaque génotype indépendamment du traitement P.

Il est intéressant de noter que les courbes de la figure 3 s'entrecroisent peu, ce qui signifierait que le développement foliaire précoce est un assez bon prédicteur de la croissance au cours du cycle. Une régression linéaire entre les surfaces projetées à la première et à la dernière date apparaît en effet hautement significative, avec un R^2 d'environ 50% (Fig.4). Certaines variétés s'écartent cependant plus que d'autres de cette tendance, soit qu'elles aient eu un début croissance vigoureux puis plus faible ensuite (exemple : LS367, Blonde lente à monter) soit au contraire qu'elles aient montré une forte croissance en fin de cycle (exemple : Green Mignonette, Rouge Grenobloise) (Fig. 4).

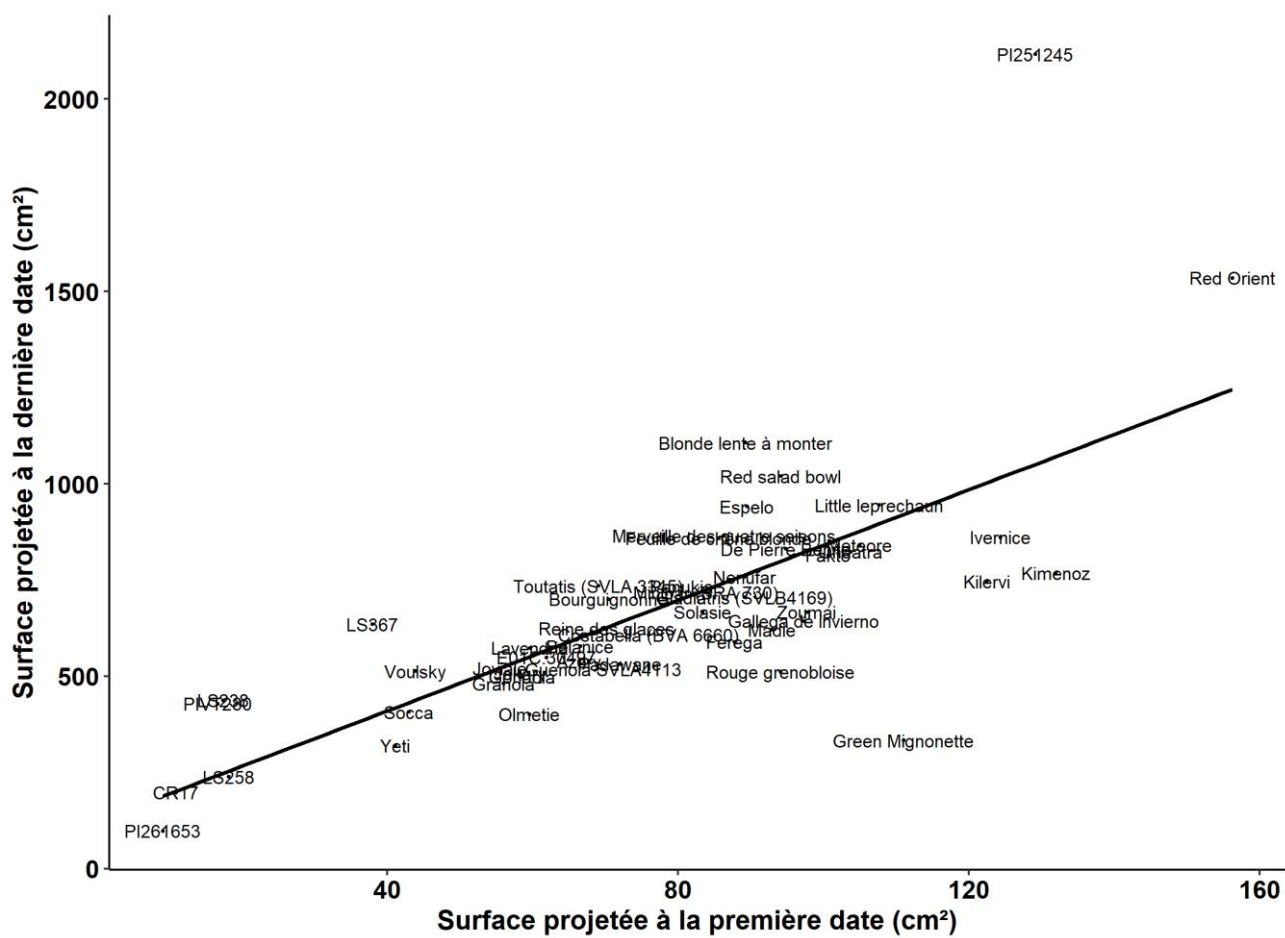


Figure 4 : Surface foliaire projetée au début de croissance et à la récolte chez les 50 génotypes.

Les noms des génotypes représentent les moyennes calculées à partir de 6 répétitions biologiques pour chaque génotype indépendamment du traitement P.

Cette variabilité génotypique s'illustre davantage en considérant le taux d'accroissement de la surface foliaire projetée entre deux dates de mesure. Le taux d'accroissement a chuté entre 460 et 532 degrés jours (Fig. 5 a), mais de 460 à 662 degrés jours il a été significativement plus élevé chez les génotypes sauvages (Fig. 5 b).

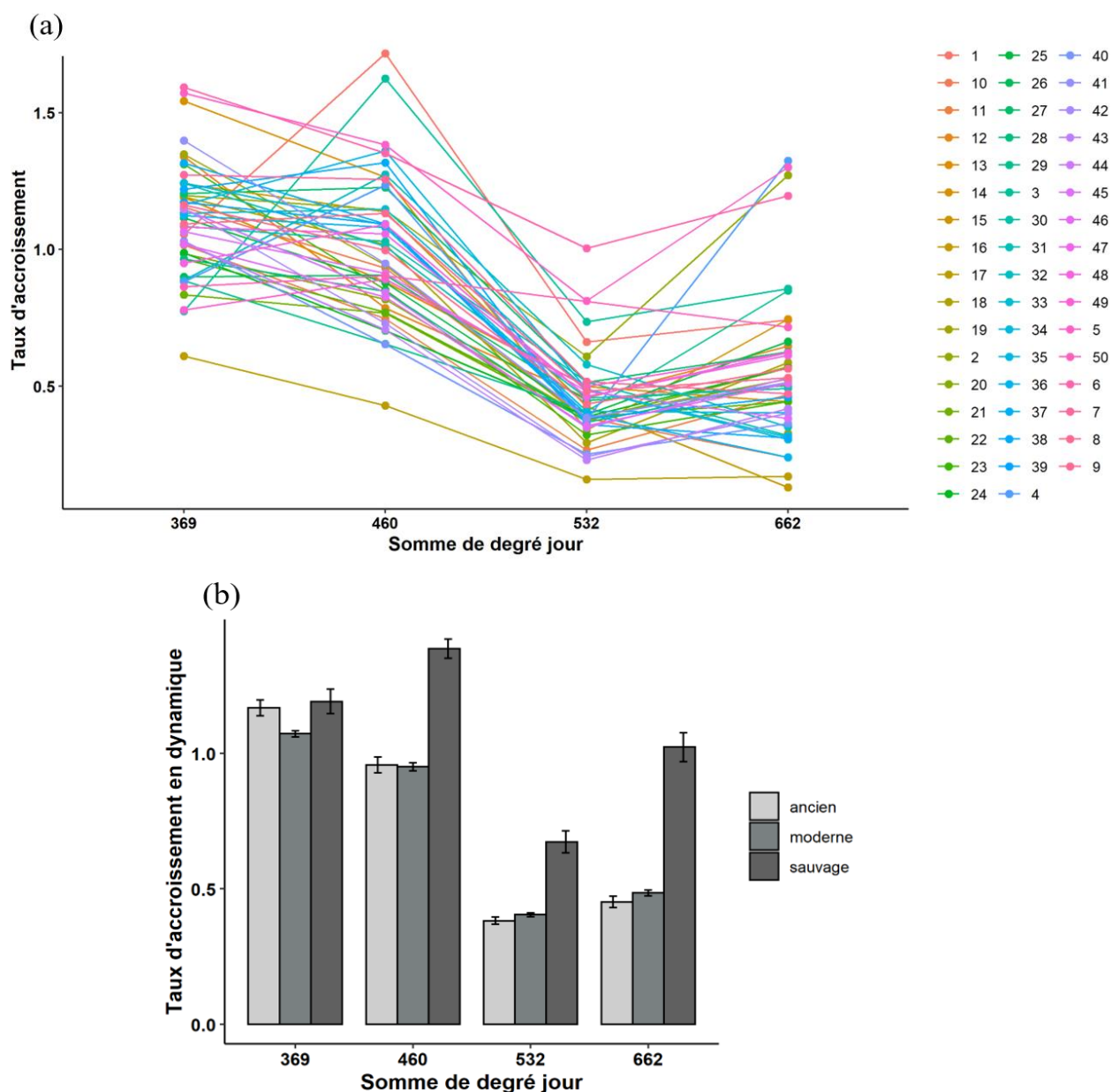


Figure 5 : Evolution du taux d'accroissement de la surface foliaire projetée chez les 50 géotypes (a) et en moyenne par type variétal (b).

V.3.1.3. Masse surfacique

Le rapport masse/surface projetée des feuilles, calculé en utilisant la masse sèche à la récolte et la surface projetée à la dernière date de mesure avant la récolte, a varié de 60 g/cm² à 180 g/cm² selon les géotypes (Fig. 6). Les géotypes sauvages se sont distingués par un rapport masse/surface plus faible, tandis que les géotypes modernes, particulièrement les laitues de type Batavia (Yeti, Costabella, Olmetie, Ferega) ont présenté de fortes masses surfaciques. Il faut probablement voir dans ce résultat les efforts de sélection variétale pour obtenir chez les variétés modernes des laitues compactes, avec un cœur dense, qui développent en conséquence un rapport masse/surface plus élevé.

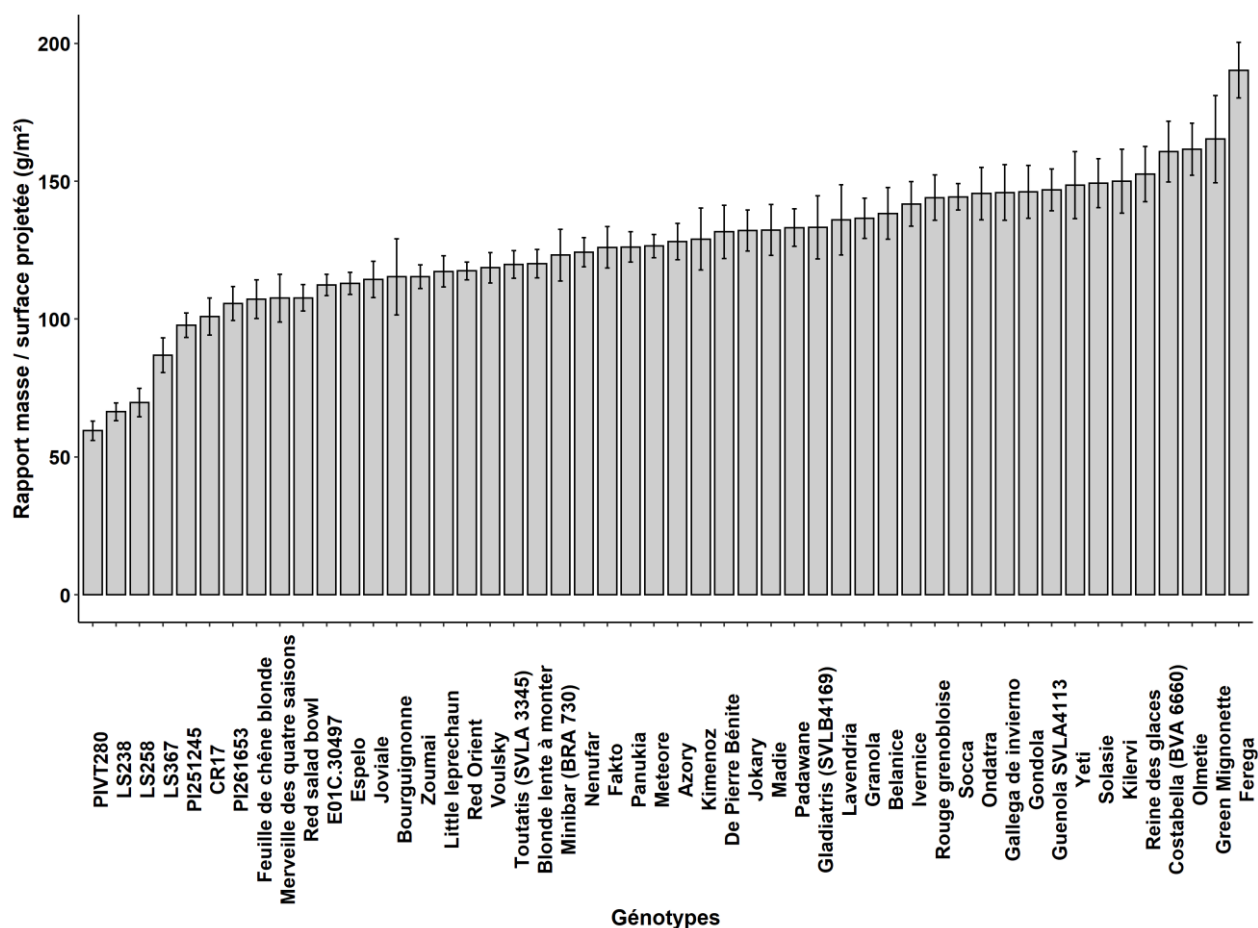


Figure 6 : Rapport masse / surface projetée (masse surfacique) chez les 50 génotypes.

Les barres représentent les moyennes calculées à partir de 6 répétitions biologiques pour chaque génotype indépendamment du traitement P. Les erreurs barres représentent l'intervalle +/- écart type).

V.3.2. Effet de P sur la croissance, la teneur en P et les efficacités

V.3.2.1. Effet de P sur la Biomasse

La masse sèche des feuilles a varié de 1.04 à 17,6 g en P1, de 1.07 à 22.7 g en P2 et de 0.96 et 22.48 g en P3 (Fig.7). L'effet du traitement P sur la biomasse est assez faible, avec une réduction de la biomasse en moyenne 13 % en P1 par rapport à P3. Ces faibles écarts résultent probablement des différences limitées de quantité de P apportée entre les différents traitements.

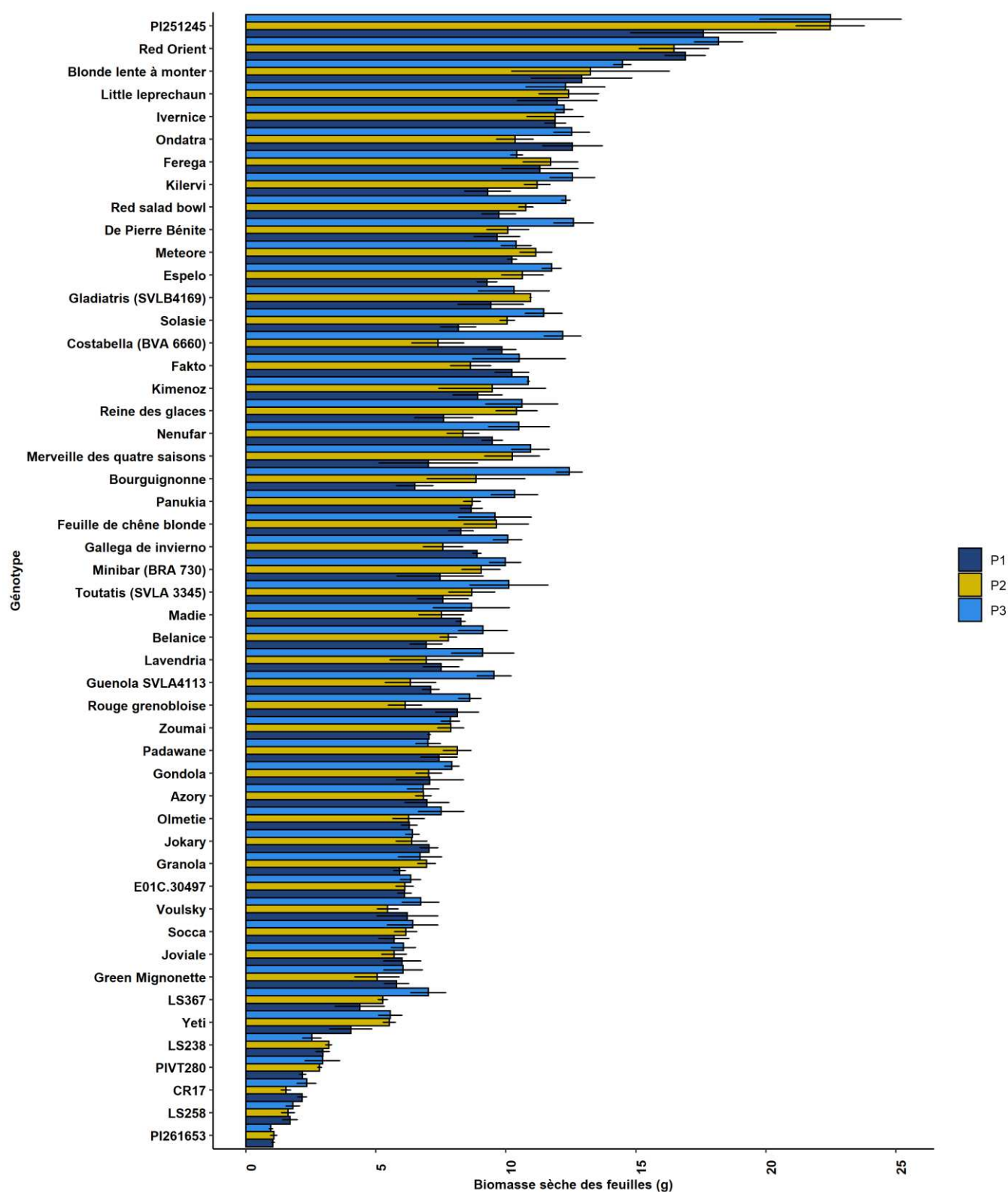


Figure 7 : Effet de P sur la masse sèche des feuilles produite chez les 50 génotypes.

Les barres représentent les moyennes calculées à partir de 3 répétitions biologiques pour chaque génotype et à chaque traitement P. Les erreurs barres représentent l'intervalle +/- écart type.

V.3.2.2. Effet du P sur les teneurs en P dans les feuilles

Les traitements nutritifs ont abouti à des teneurs en P différentes, et comme attendu croissantes de P1 à P3. Une variation de la teneur en P liée à un accroissement de la biomasse a été constatée chez les laitues en serre, avec une division par 2 environ de la teneur en P entre 1g et 10g de matière sèche, et ce pour les trois niveaux de P, cela est dû probablement à l'effet de dilution de P (Fig. 8). Les valeurs mesurées dans l'expérimentation en tunnel ont également été reportées sur la figure 8. Les teneurs en P étaient comparables en serre et en tunnel pour les apports de P élevés, en revanche on distingue le groupe de points correspondant au bas niveau de P en tunnel. Pour des concentrations de P dans la solution nutritive équivalentes (0.1 mM), et à des biomasses sensiblement comparables, les teneurs en P mesurées dans les laitues de serre ont été bien plus élevées. Cela semblerait indiquer que le stress en P subi par les laitues en tunnel a été plus fort que celui subi par les laitues en serre. Les comparaisons des teneurs en P chez les 14 génotypes communs et chez les 36 génotypes observés uniquement en serre ont montré que la gamme de variation des teneurs en P était la même en serre et en tunnel. Cela suggère qu'avoir 36 génotypes de plus n'a pas apporté plus de variabilité en termes des teneurs en P (données non montrées).

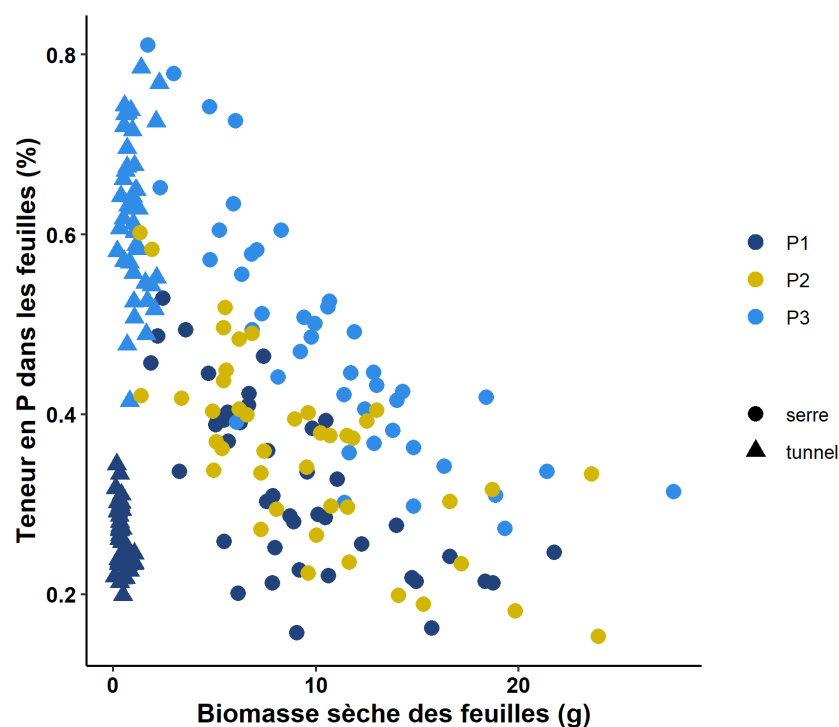


Figure 8 : Relation entre teneur en P et biomasse des feuilles en serre et en tunnel.

V.3.2.3. Effet du P sur le contenu en P

En serre, le contenu en P des parties aériennes, égal au produit de la teneur par la masse sèche des feuilles, a varié entre 0.004 à 0.053 g en P1, 0.005 à 0.078 g en P2 et 0.004 à 0.086 g en P3 (Fig. 9).

Les points obtenus en tunnel et les droites de régression pour les traitements LP et HP ont été insérées dans la figure 9. Ces droites de régression bornent assez bien le nuage de points obtenu sous serre, permettant d'estimer les contenus en P minimaux et maximaux attendus pour une biomasse donnée. Cependant, du fait de la dilution, la limite haute d'accumulation n'est linéaire que pour les faibles masses et doit présenter une forme asymptotique pour des masses plus élevées, (forme asymptotique que l'on peut deviner avec les données du traitement P3, cependant trop peu nombreuses pour faire un ajustement).

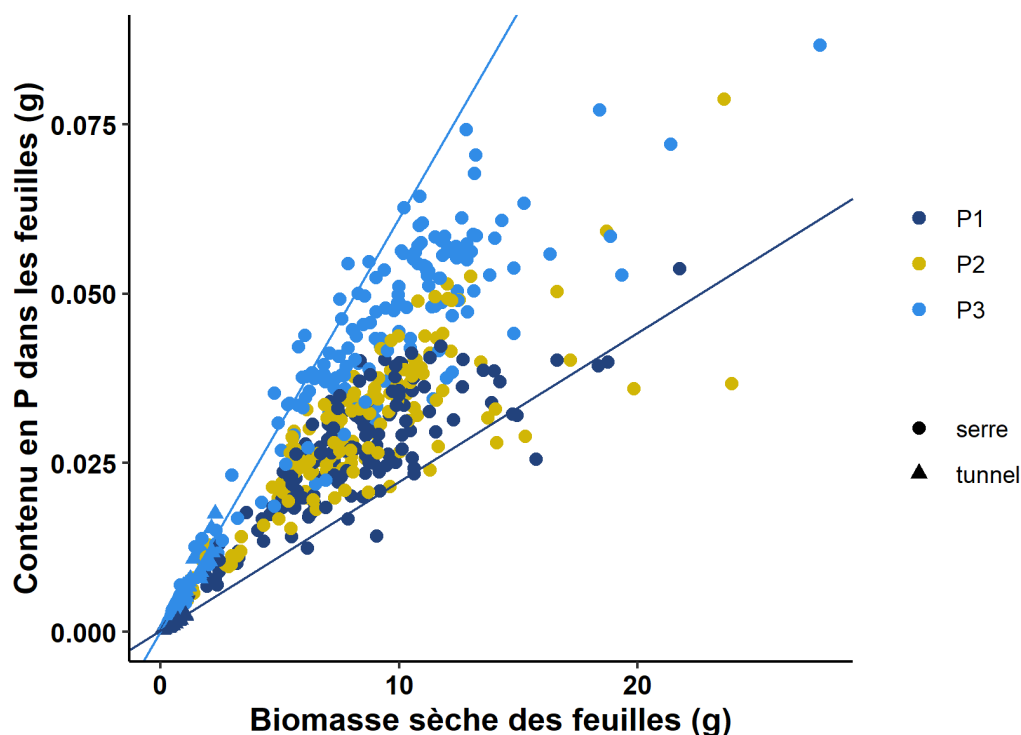


Figure 9 : Relation entre contenu en P et biomasse des feuilles en serre et en tunnel.

Une séparation des données obtenues sous serre par niveau de traitement permet de mieux identifier les effets des limitations en P (Fig. 10). La quantité de P accumulée par les plantes plafonne en P1 à 40mg environ, en P2 à 50mg environ, et en P3 à 80mg (avec quelques points « outliers » pouvant correspondre à des erreurs de mesure). Ces plafonds sont du même ordre de grandeur, mais légèrement supérieurs, aux quantités d'apport estimées (respectivement 34 mg, 44 mg et 85 mg). Les limites en P1 et P2 sont clairement distinctes de la courbe d'accumulation maximale évoquée ci-dessus.

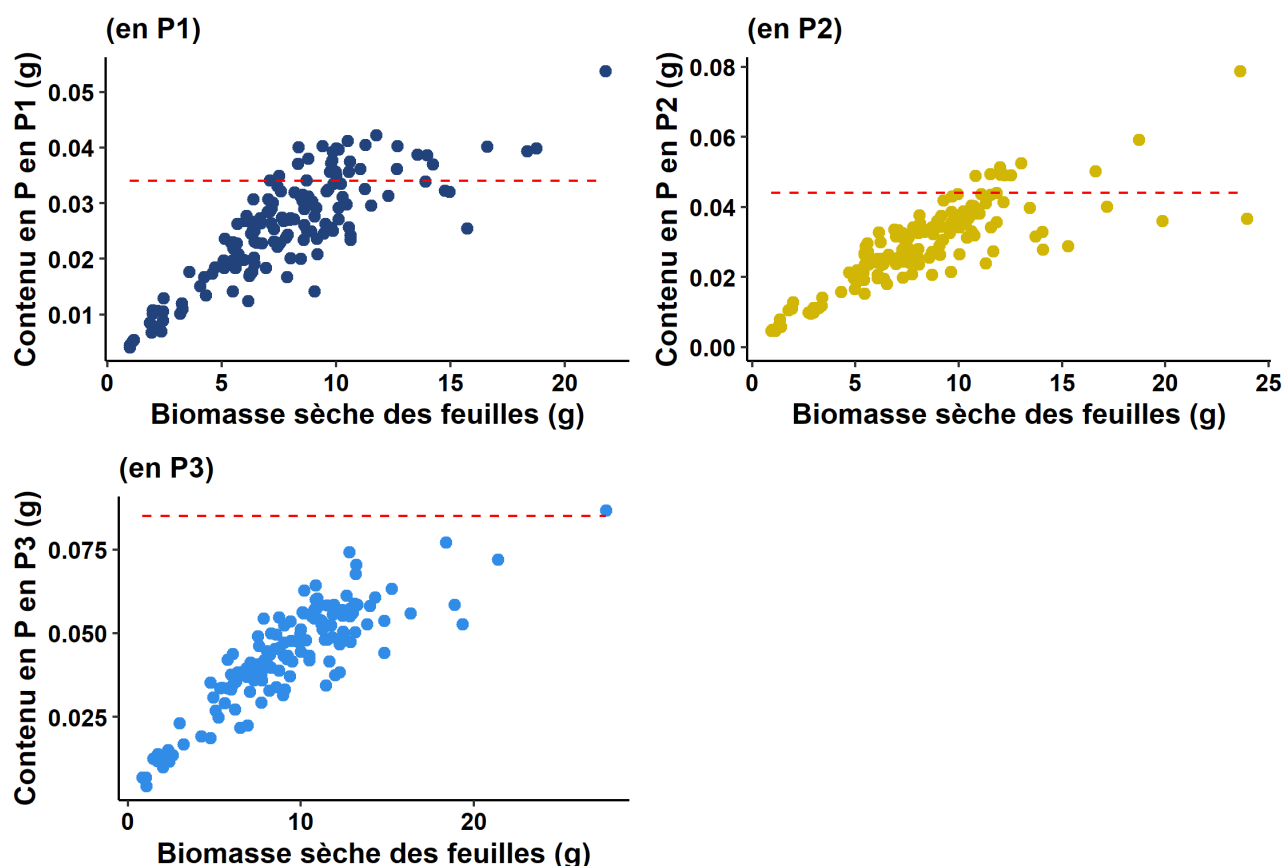


Figure 10 : Effet du traitement P sur la biomasse des feuilles.

La ligne rouge représente la quantité de P apportée estimée dans chaque traitement.

Dans le paragraphe qui suit, on considère surtout les deux traitements intermédiaires P1 et P3. Si 40 mg de P permettent d'après la figure 9 la production d'environ 20 g de masse sèche au maximum, on peut en déduire que les variétés les plus efficaces pour récupérer le P du milieu, et ayant un potentiel d'accumulation de masse sèche inférieur à 20g, on subit peu de contrainte en P, même dans le traitement P1. Ces données indiquent surtout que certaines variétés à faible potentiel de croissance ont pu trouver suffisamment de P dans le milieu pour réaliser ce potentiel : on peut observer sur la figure 11 que les génotypes ayant une masse sèche en P3 (condition a priori non limitante) inférieure à 5g ont en moyenne présenté une masse sèche similaire en P1 (ratio de masse P3/P1 proche de 1). Ce n'est que pour les génotypes ayant produit une masse sèche supérieure à 10g en P3 que le ratio P3/P1 s'écarte significativement de 1, indiquant un déficit en P dans le traitement P1 (Fig.11).

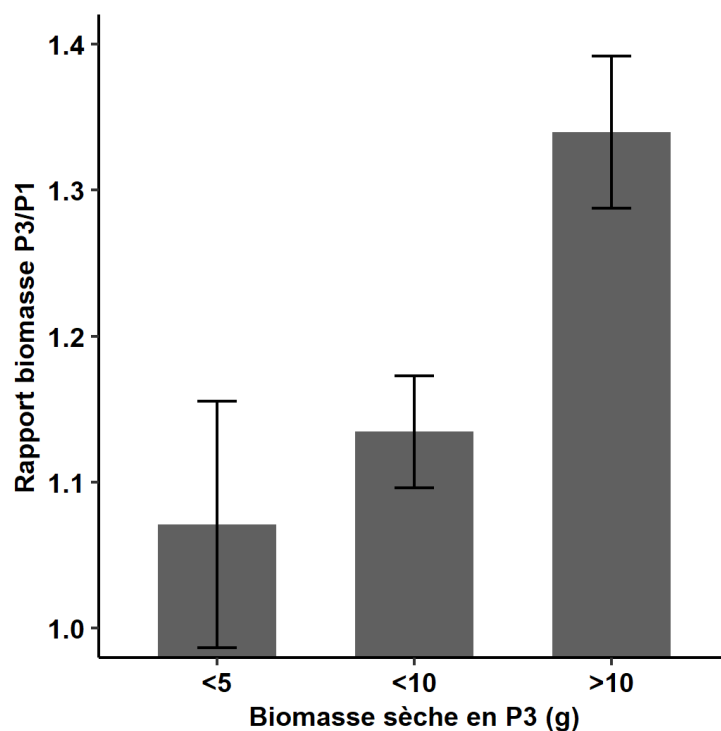


Figure 11 : Rapport de masse sèche des feuilles en P3/P1 en fonction du potentiel de masse en P3.

Cependant, les variétés à faible potentiel de croissance mais qui sont moins capables de récupérer le P disponible dans le milieu ont pu voir leur accumulation de masse limitée en P1. Les résultats par génotype sont donnés dans la figure 12. Les génotypes qui ont eu une réduction significative de leur masse sèche en P1 comparé à P3 sont représentées en rouge dans la figure 12. L'effet de P sur la masse sèche n'était pas significatif chez les génotypes ayant un potentiel de masse faible (<10g), avec un rapport de masse sèche en P3/P1 proche de 1. En revanche, une réduction significative de la masse sèche en P1 comparé à P3 a été constatée chez les génotypes à potentiel élevé (>10 g), mais certains génotypes (exemple : Red orient, Blonde lente à monter, Ondatra, Ferega, Meteore) sont caractérisés par un potentiel de masse élevé et un rapport masse P3/P1 faible ; on peut en déduire que ces génotypes sont plus efficaces en acquisition de P et en utilisation du P lorsque la disponibilité est faible.

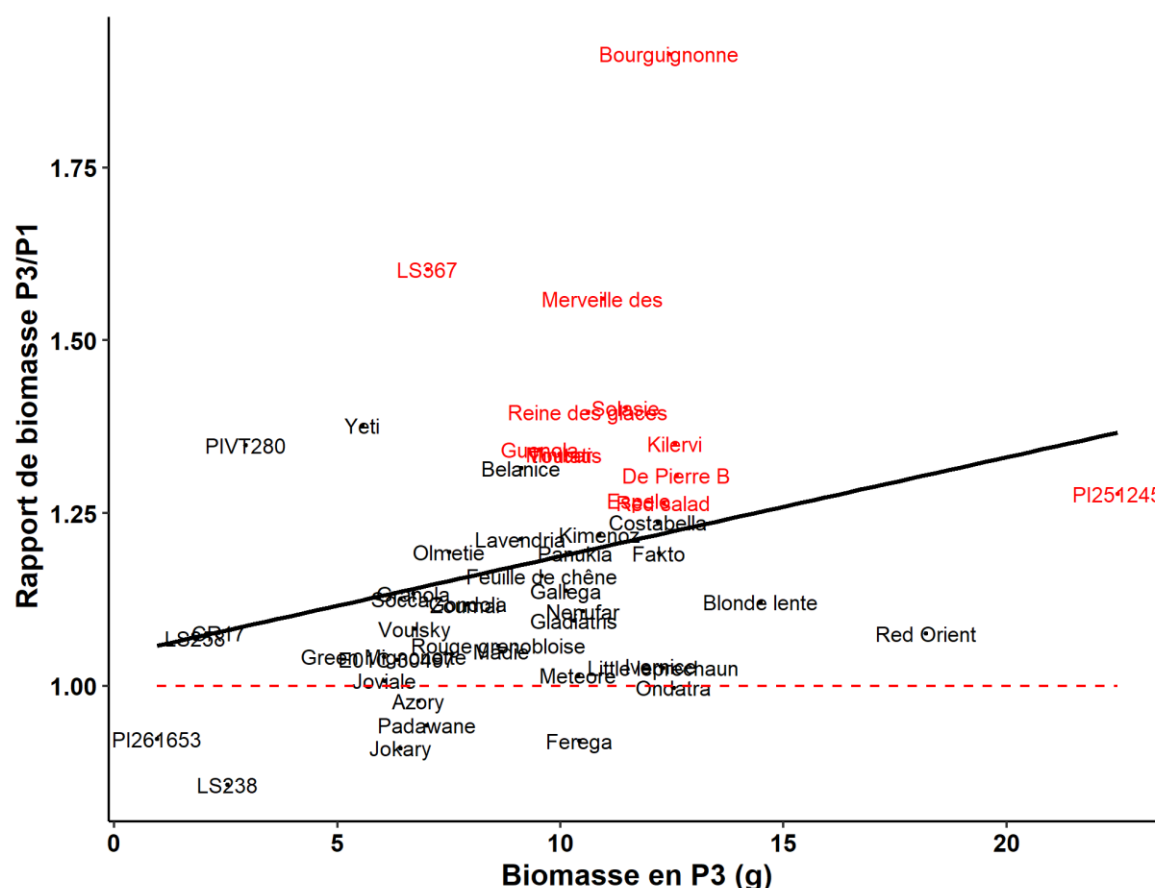


Figure 12 : Relation entre le rapport de biomasse en P3/P1 et la biomasse en P3.

Les génotypes représentés en rouge ont eu une réduction significative de leur biomasse en P1 comparé à P3 à un seuil de signification de 5%. La droite en noir représente la régression linéaire. La droite horizontale en pointillée rouge distingue entre les génotypes ayant un rapport masse sèche en P3/ P1 supérieur ou inférieur à 1.

La réduction significative de la masse sèche produite en P1 comparé à P3 observée chez les génotypes ayant un rapport masse P3/P1 élevé (représentés en rouge dans la Figure 12) a été fortement corrélée à la réduction de la masse surfacique en P1 par rapport à P3 ($r=0.85$, $p<0.001$), et faiblement associée à la réduction de la surface foliaire projetée en P1 comparé à P3 ($r= 0.30$, $p<0.05$). Cette réduction a été faiblement associée à la réduction de la photosynthèse en P1 comparé à P3 ($r=0.37$, $p<0.05$).

L'analyse de la variance de l'effet type de laitue sur le rapport masse sèche en P1/P3 a révélé qu'il n'y avait pas d'effet significatif de type de laitue ($p=0.28$) sur la réduction de la masse en P1 comparé à P3.

V.3.2.4. Effet du P sur l'efficacité d'utilisation

Une analyse de variance a montré un effet significatif du génotype, du traitement P et de leur interaction sur la PUE « feuille ». Celle-ci a varié de 196 gMS / g P par plante à 520gMS

/ gP par plante en P1, de 185 gMS / g P par plante à 501 gMS / gP par plante en P2 et de 135 gMS / g P par plante à 327 gMS / g P par plante en P3 (Fig. 13). Globalement, la PUE a diminué avec l'ajout de P, elle est en moyenne de 304 gMS /gP par plante en P1, 279 gMS /gP par plante en P2 et 209 gMS /gP par plante en P3.

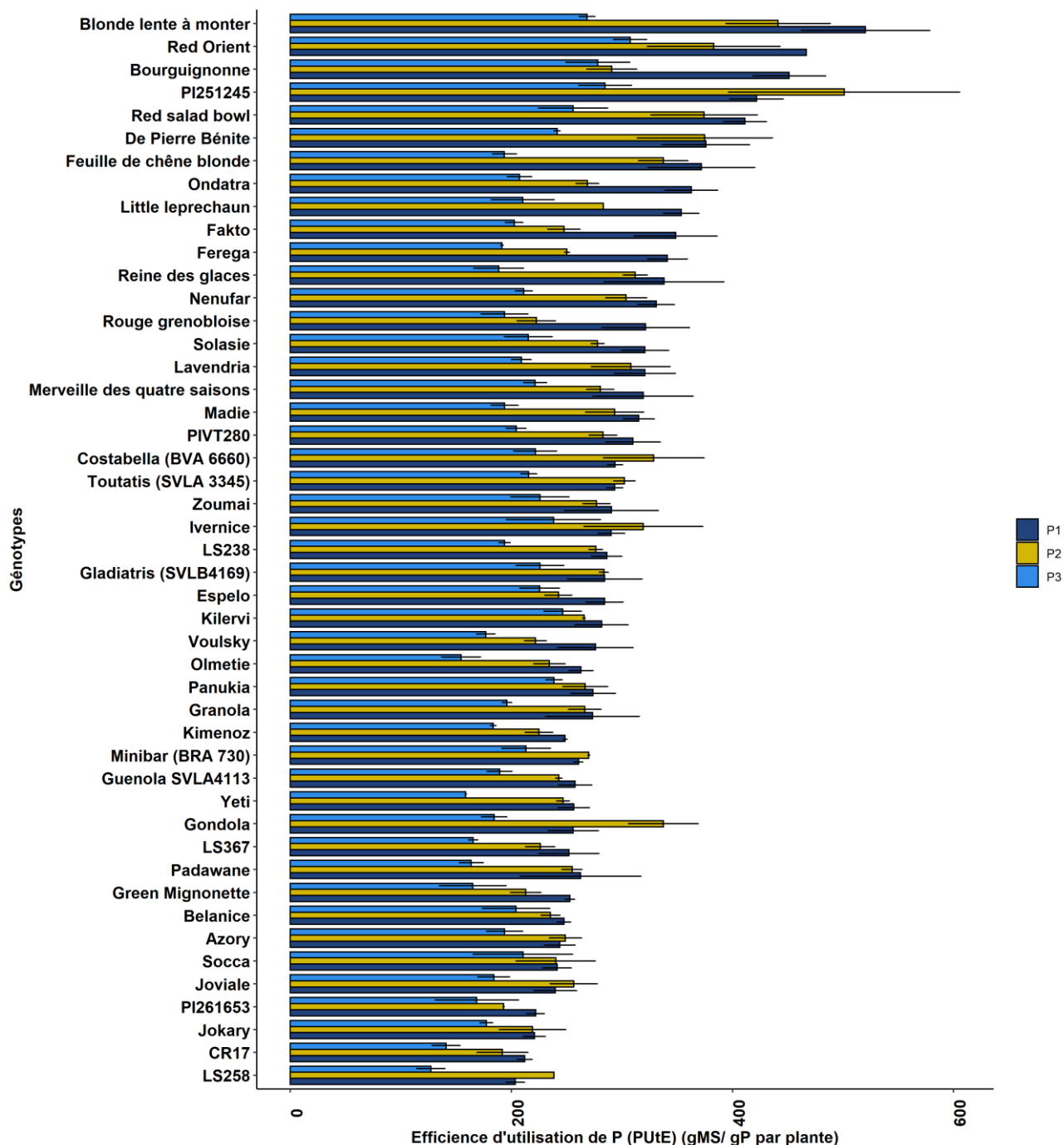


Figure 13 : Efficacité d'utilisation de P (PUtE) chez les 50 génotypes.

Les barres sont classées par ordre croissant selon les valeurs de PUtE en P1 et elles représentent les moyennes calculées à partir de 3 répétitions biologiques pour chaque génotype et à chaque traitement P. Les erreurs barres représentent l'intervalle +/- écart type).

La PUE en P1 est corrélée positivement à celle en P3 ($r=0.79$, $p<0.001$) (Fig. 14). Ce résultat ne corrobore pas ce qui a été observé en tunnel. En effet, aucune relation n'avait été identifiée entre la PUE en LP et HP (voir résultats chapitre 2).

On retrouve aux extrémités de cette distribution d'efficacité la laitue tige « Red orient » et l'ancien laitue type romaine « Blonde lente à monter » pour les valeurs hautes, et deux génotypes sauvages *L. saligna* « CR17 » et *L. serriola* « LS258 » pour les valeurs basses.

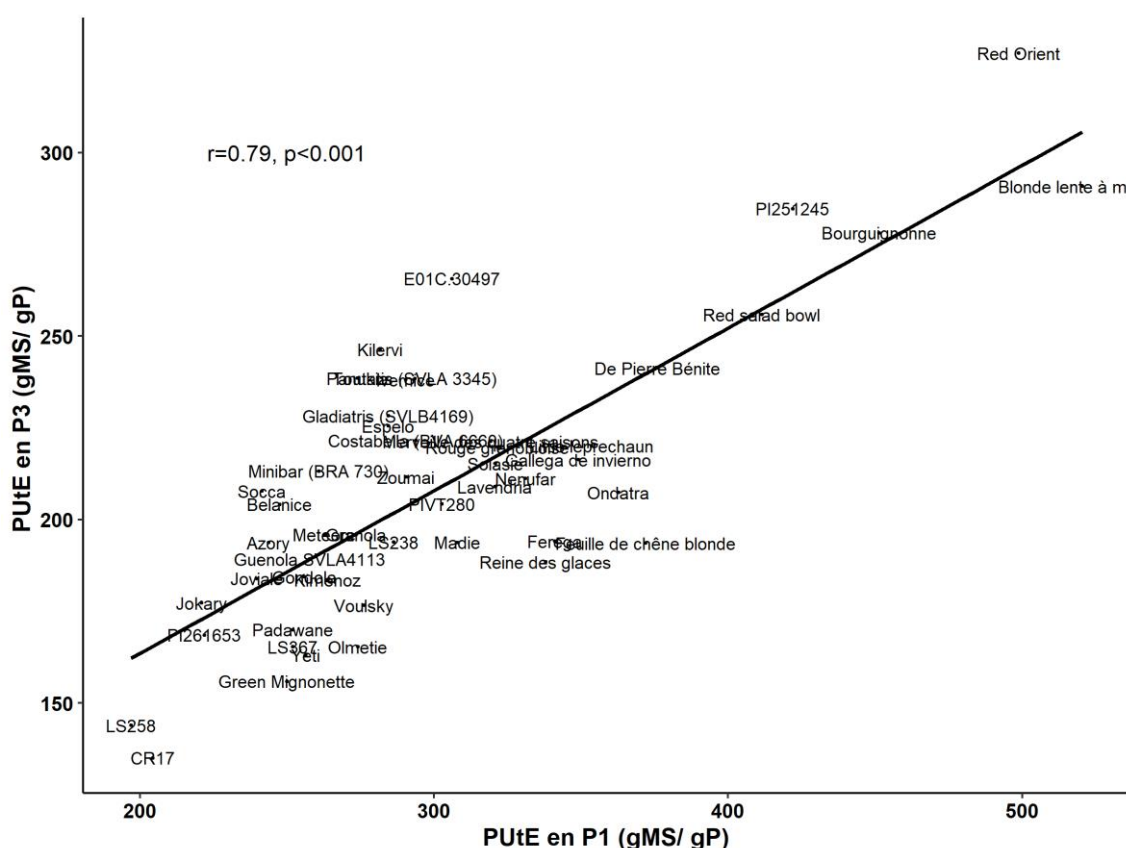


Figure 14 : Relation entre PUE en P1 et P3.

La droite correspond à la régression linéaire entre PUE en P1 et PUE en P3.

Une PUE « feuille » équivalente a été recalculée chez les 14 génotypes en tunnel comme le ratio de la masse sèche des feuilles et le contenu en P dans les feuilles pour ne pas tenir compte de la masse sèche racinaire et afin d'évaluer sa robustesse chez les 14 génotypes communs dans les deux essais (Fig.15).

En faible P, la PUE « feuille » a varié entre 267 et 461 gMS / gP par plante en tunnel et entre 203 et 520 gMS /gP par plante en serre, avec une variation génotypique plus importante en serre (CV= 11% et 24% respectivement en tunnel et serre). Avec une plus forte disponibilité en P, la PUE est apparue élevée en serre, allant de 135 à 327 gMS / gP par plante comparée à celle observée en tunnel (de 133 à 199 gMS /gP plante).

Le classement des génotypes est assez similaire en serre en P1 et tunnel en LP ($r=0.51$, $p<0.05$), avec cependant des différences pour les génotypes Nenufar, Kilervi, Joviale, Socca, Green mignonette et LS367 qui ont eu une efficacité d'utilisation plus élevée en tunnel (Fig. 15 a). En revanche, en P disponible, les génotypes ont eu des comportements différents en termes de PUE dans les deux essais, avec un coefficient de corrélation de l'ordre de 0.09. (Fig.15 b).

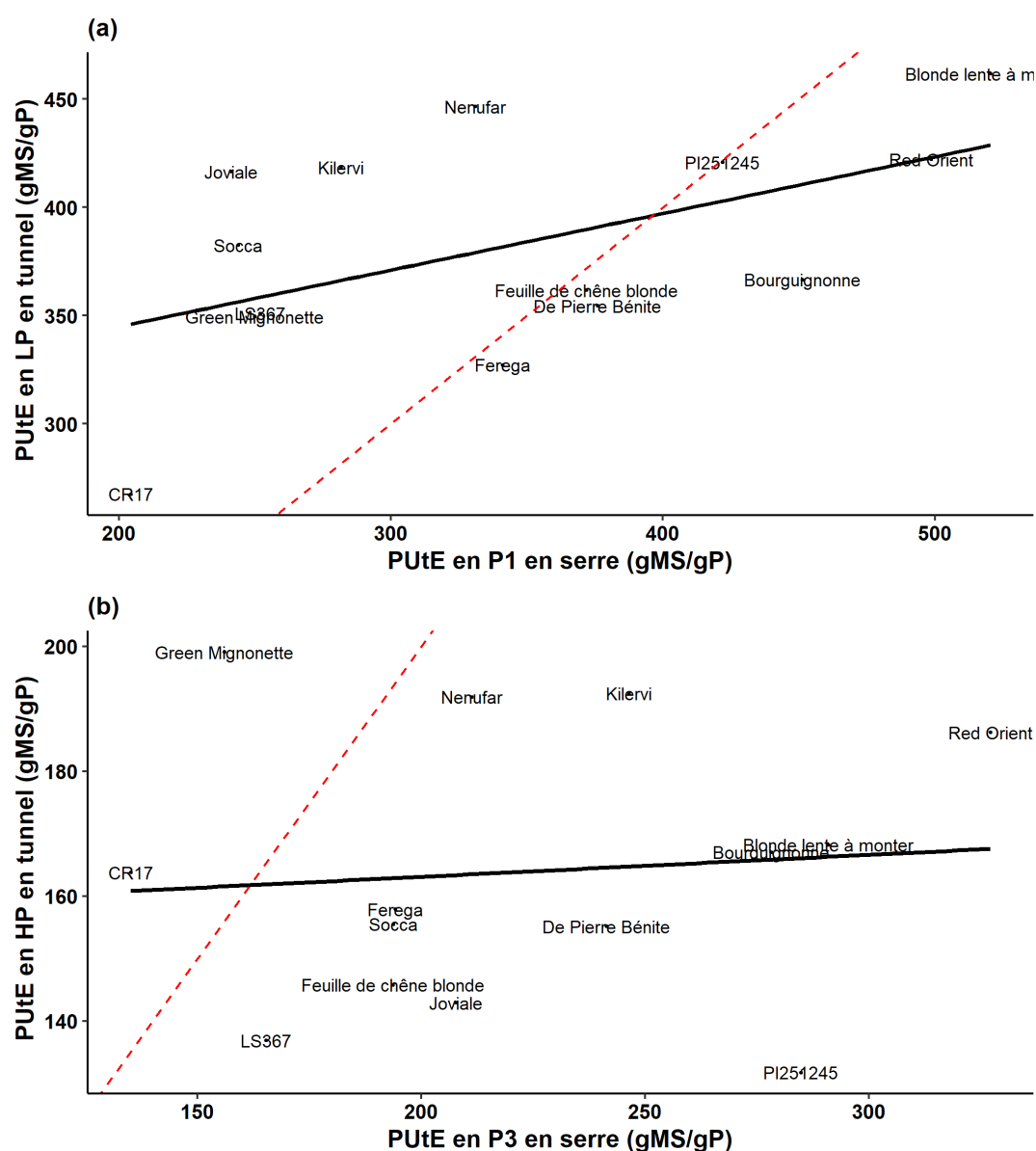


Figure 15 : Comparaison de PUE en tunnel et en serre chez les 14 génotypes communs en faible P (a) et en P disponible (b).

La droite en noir représente la régression linéaire entre PUE en serre et en tunnel en faible P et en P disponible. La droite en pointillé rouge correspond à la première bissectrice.

V.4. Discussion

V.4.1. Caractérisation de la variabilité génétique chez les 50 génotypes

Cette étude a confirmé l'existence d'une diversité génétique importante de l'efficience d'utilisation de P au sein des 50 génotypes étudiés du genre *Lactuca*. Ces génotypes ont présenté une variabilité significative de la masse produite (allant de 1g à 20 g MS). Les génotypes sauvages ont produit les masses sèches les plus faibles (particulièrement les espèces de *L. saligna*, *L. virosa* et *L. serriola*), mais également plus fortes dans le cas de la laitue sauvage (*L. sativa*). La variation de la masse est moins forte pour les espèces cultivées, allant de 5g pour « yeti » à 14g pour « Blonde lente à monter ». Un effet significatif du type de laitue a été observé. Les laitues type rougette/sucrines et lollo ont produit des masses faibles (environ 6g en moyenne) comparé à celle de type romaine (12 g). Les laitues types Batavia, Beurre et feuille de chêne ont eu un potentiel de masse similaire.

Le premier critère d'appréciation du rendement chez la laitue est le poids frais des plantes à la récolte. Les feuilles représentent la quasi-totalité de la masse récoltée chez la laitue. Nous avons montré que près de 50% du potentiel de croissance en surface est déterminée très précocement au cours du cycle. Pour l'autre moitié de la variabilité, l'allure d'évolution de la surface foliaire projetée en cours du temps a dépendu du génotype. Certains génotypes ont exprimé leur potentiel de croissance à un stade très précoce avec une surface foliaire projetée forte à partir de la première date de mesure. D'autres génotypes ont plutôt exprimé leur potentiel de croissance vers la récolte et ils ont eu des surfaces foliaires plus fortes à la dernière date de mesure. Le déterminisme génétique de la surface foliaire chez la laitue a été peu étudiée. Dans une étude de Zhang *et al.* (2007), des QTL associés à la surface foliaire ont été détectés dans une population issue d'un croisement entre *L. sativa* et *L. serriola*.

D'après Gay (2002), le rendement de laitue peut être calculé à partir de la surface foliaire et de la masse surfacique. Il a montré que la surface foliaire est corrélée positivement au poids frais à différents stades de croissance. Selon nos résultats, la surface foliaire projetée est corrélée positivement à la biomasse des feuilles au début de la croissance et à la récolte. Cela confirme que la surface foliaire projetée, comme mesure non destructive, pourrait estimer le rendement d'une culture de laitue.

La masse surfacique a varié en fonction du génotype, mais également en fonction du type variétal avec un rapport de 1 à 3. Les génotypes sauvages ont eu une masse surfacique faible, tandis que les variétés modernes, particulièrement de type Batavia, ont eu des masses surfaciques élevées, c'est-à-dire une forte biomasse par unité de surface. On peut faire

l'hypothèse que c'est le résultat d'un effet de sélection pour obtenir des variétés de laitues compactes.

Une comparaison de l'indice de rendement définit comme le ratio entre la masse sèche moyenne d'une variété et la masse moyenne de la variété ayant la plus forte croissance, chez les 14 génotypes communs dans l'essai serre et tunnel a été faite, pour pouvoir évaluer d'une manière plus robuste le potentiel de croissance dans deux conditions d'expérimentations différentes. Les résultats obtenus ont révélé que les génotypes ont eu globalement des potentiels de croissance similaires en serre et tunnel. La laitue tige « Red orient » et la laitue sauvage « PI261653 » ont été identifiés comme génotypes à gros potentiel de biomasse, tandis que le génotype sauvage *L. saligna* « CR17 » a eu la masse sèche la plus faible dans les deux essais. Irfan *et al.* (2019), ont testé les performances des variétés de laitue en sol et en hydroponie. Ils ont évalué les variétés en se basant sur la masse produite dans chaque milieu et ont montré que les conditions de culture avaient un effet significatif sur la production de matière sèche avec des valeurs significativement différentes en hydroponie et en sol.

V.4.2. Effet du traitement P sur la croissance

L'effet du traitement P sur la biomasse en serre a été assez faible, avec une moyenne de réduction de l'ordre de 13% en P1 comparé à P3. Ce taux de réduction est plus faible comparé à celui observé en tunnel (en moyenne -58 %). Cela semble dû à une variation du potentiel de masse. En effet, la variabilité génotypique de la masse produite était beaucoup plus élevée en serre (un rapport de 1 à 20) comparée à celle en tunnel (un rapport de 1 à 6). Ceci suggère que l'effet du traitement P devient plus marqué quand on a une variabilité génotypique importante de potentiel de masse.

En plus, la quantité de P disponible pour la plante était différente dans les deux essais. L'intensité du stress en P était plus sévère sur les laitues en tunnel et il a été introduit à un stade plus précoce sur des plantes très jeunes. Selon Mollier and Pellerin (1999), la réduction de la surface foliaire est le principal facteur contribuant à la réduction de matière sèche produite chez le maïs. Chez la pomme de terre, la réduction de la masse des feuilles dans des conditions déficientes en P a été associée à une réduction forte du nombre des feuilles et de la surface foliaire totale (Balemi, 2010). Rodríguez *et al.* (1998) ont trouvé les mêmes résultats chez le tournesol, avec une réduction d'environ 74% du taux d'émission des feuilles et plus de 50 % de réduction de la photosynthèse à lumière saturée. Dans notre étude, la réduction significative de la masse des feuilles en P1 comparé à P3 a été fortement liée à la réduction de la masse surfacique et faiblement associée à la réduction de la surface foliaire projetée et à la photosynthèse en P1 comparé à P3.

Selon Neocleous and Savvas (2019), la réponse au faible dépend également du type de laitue. Ils ont constaté que la laitue de type Romaine a eu une réduction significative de la biomasse et de l'activité photosynthétique, mais il n'y avait pas d'effet significatif de P sur la biomasse et la photosynthèse sur la laitue de type lollo. Dans notre étude, nous n'avons pas pu identifier d'effet significatif du type de laitue sur la masse sèche produite en réponse au P. Le même résultat a été observé en tunnel avec une influence importante du génotype, mais sans pouvoir distinguer l'effet du type de laitue.

V.4.3. Effet de P sur la teneur en P et sur l'efficacité d'utilisation

Dans les deux essais, les gammes de variations des teneurs en P étaient globalement similaires en serre et en tunnel. En tunnel, la teneur en P a varié en fonction du génotype et du traitement P. En serre, nous avons montré que la teneur en P diminue avec la production de la masse en cours du cycle. Au sein d'un traitement donné, on a plus de variabilité génétique des teneurs en P dans l'essai en serre (CV = 22% en P1 et 23% en P3) qu'en tunnel (CV=13 % en LP et HP).

Le contenu en P a diminué en cours de la croissance des laitues en serre. Cela est dû probablement à l'effet de dilution du P. Cet effet de dilution de P a été largement étudié chez la pomme de terre (Soratto *et al.*, 2020; Nyiraneza *et al.*, 2021) et le blé (Ziadi *et al.*, 2008). Les expérimentations nous ont permis d'identifier les contenus en P minimaux et maximaux pour une masse sèche donnée. Les contenus en P observés en tunnel sont cohérents avec ceux observés en serre. Il s'agit donc d'une première référence qui renseigne sur les contenus en P nécessaires pour produire un niveau donné de biomasse dans le genre *Lactuca* et qui pourrait être utilisée pour mieux gérer les apports en P.

En serre, l'efficacité d'acquisition du P (PU_pE) n'a pas pu être calculée en raison des incertitudes sur les quantités de P apportées aux plantes. La PU_pE représente le ratio entre le contenu en P et la quantité de P apportée. Dans la mesure où la même quantité de P a été apportée à tous les génotypes, la PU_pE est liée linéairement à la quantité de P absorbée et la variabilité génétique de la PU_pE est donc la même que celle du contenu en P. Le contenu en P dépend de la teneur en P et de la masse sèche. Selon nos résultats, les teneurs en P ont varié significativement en fonction des génotypes. On peut donc faire l'hypothèse qu'il existe une variabilité génotypique de la PU_pE en serre comme cela a été montré en tunnel.

Les données obtenues nous ont permis de calculer l'efficacité d'utilisation (PU_tE) chez les 50 génotypes. La PU_tE a varié en fonction du génotype, du traitement P et de leur interaction. Globalement, la PU_tE est plus élevée en P1 et diminue avec l'augmentation de la disponibilité en P. Le même résultat a été observé en tunnel chez les 14 génotypes. En tunnel,

on n'avait pas observé un lien entre PUE en LP et PUE en HP. Par contre, en serre la corrélation entre PUE en P1 et celle en P3 est assez forte.

La variabilité globale de la PUE est associée à la variabilité de masse sèche des feuilles produite et du contenu en P. Comme en serre, la masse des feuilles a beaucoup varié en fonction du génotype, la variation de la PUE a été beaucoup plus liée à la variation de la masse sèche qu'au contenu en P. D'autre part les effets relativement réduits du P ont fait que la masse en P1 était corrélée à celle en P3, c'est pourquoi on a observé en serre une corrélation forte obtenue entre PUE à différents niveaux de P.

La PUE varie en fonction du cycle de la culture, en fonction de la masse produite, du contenu en P ainsi que des conditions du milieu. Une comparaison de la PUE a été effectuée chez les 14 génotypes communs pour évaluer sa robustesse dans deux conditions différentes. Quand le P est limitant, les génotypes ont eu des performances similaires en termes de PUE avec quelques variations pour certains génotypes ayant une PUE plus élevée en tunnel, mais aucune relation significative n'a été observée en cas de P disponible. Irfan *et al.* (2019) ont montré que les variétés de blé ont eu des efficacités d'utilisation différentes en sol et en hydroponie. Cette différence a été associée à un effet significatif des conditions de culture sur la production de masse sèche. Cela corrobore nos observations concernant la forte relation entre PUE et la masse produite. Selon Rose *et al.* (2011), la biomasse doit être corrélée à l'efficacité d'utilisation de P et l'absence de corrélation en P disponible suggère que la production de biomasse a été déterminée par d'autres facteurs que le P.

Il est intéressant d'identifier des génotypes efficaces quand le P est limitant. La cohérence des données obtenues en serre et en tunnel nous ont permis d'identifier trois génotypes non efficaces en PUE (CR17, LS367 et Green mignonette) dans les deux essais. Ces génotypes ont eu également des contenus faibles en P en LP, ce qui permet de les considérer comme non efficaces en PUE et par conséquent en PUE.

Les trois génotypes « Red orient », « Blonde lente à monter » et « PI251245 » étaient les plus efficaces en PUE. Les deux génotypes sauvages « Red orient » et « PI251245 » sont caractérisés par des contenus en P élevés et ils sont identifiés comme très efficaces en PUE et en PUE en tunnel. Cependant, le génotype « Blonde lente à monter » a eu des contenus en P faibles dans les deux essais.

V.5. Conclusion

Ce travail nous a permis d'étudier la variabilité génétique existante dans un panel de 50 génotypes du genre *Lactuca*, ainsi que l'effet de la variation de P sur leur croissance et leur efficacité d'utilisation du P.

L'effet du traitement P sur la croissance a varié en fonction du potentiel de biomasse des génotypes. Cela représente une limite de la méthode de phénotypage utilisée. En effet, l'étude des génotypes à potentiel de masse très variable nécessite une adaptation du protocole pour pouvoir évaluer l'effet du P.

Les résultats obtenus nous ont permis de produire des références sur les contenus minimaux et maximaux en P nécessaires pour produire une telle masse dans le genre *Lactuca*. Les variations de la masse produite et du contenu en P ont impacté la PUE et son interprétation. On suggère donc de tenir compte de la capacité d'acquisition du P, du potentiel de biomasse et du stade des plantes au moment de la mesure de PUE pour étudier la variabilité génétique de la PUE.

Les observations de la croissance et des efficacités en P limitant en tunnel et en serre chez les 14 génotypes ont permis d'identifier des génotypes à gros potentiel de croissance et efficaces en utilisation et en acquisition du P tels que la laitue tige « Red orient » et la laitue sauvage « PI251245 », et d'autres qui ne sont pas efficaces, le cas des génotypes sauvage « CR17 », « LS367 » et « « Green mignonette ». Des études supplémentaires devront être menées pour étudier les déterminants génétiques responsable de l'efficacité en P chez ces deux génotypes et qui pourraient être utilisés dans des programmes de sélection afin d'améliorer la PUE chez la laitue.

Discussion générale et perspectives

I. Discussion générale

L'agriculture contemporaine doit relever plusieurs défis. Elle doit accroître la productivité des écosystèmes cultivés pour satisfaire l'augmentation de la demande alimentaire consécutive à l'évolution démographique ; dans le même temps, elle doit limiter les impacts négatifs sur l'environnement et gérer durablement les ressources indispensables à la production agricole, en particulier le P (Sharpley *et al.*, 2001; Vance *et al.*, 2003; Van de Wiele *et al.*, 2016). Pour cela, il est important de mieux comprendre les conséquences sur la croissance et le développement des plantes d'une diminution de la disponibilité en P, afin d'identifier les géotypes qui sont capables d'acquérir plus de P et de mieux l'utiliser. Il est acquis que l'exploration du sol et l'acquisition des nutriments sont intrinsèquement liés aux capacités de développement et d'adaptation des systèmes racinaires (Gahoonia and Nielsen, 2004; Lambers *et al.*, 2006; Da Silva *et al.*, 2016). Mais ces adaptations peuvent varier en fonction des genres botaniques, et peu d'informations sur le rôle du système racinaire dans l'acquisition de P sont disponibles dans le genre *Lactuca*.

Le premier objectif de la thèse consistait à caractériser la réponse aérienne et racinaire à la disponibilité en P et évaluer la variabilité génétique associée. Deux expérimentations ont été menées. La première portait sur l'étude, pendant une durée limitée, de 14 géotypes du genre *Lactuca* cultivés en tunnel dans des conditions limitantes (LP) et non limitantes en P (HP), avec un dispositif expérimental spécifique permettant d'étudier le système racinaire. La seconde a été menée en serre sur un panel de géotypes plus large, 50 géotypes (y compris les 14 géotypes utilisés dans l'essai 1) cultivés dans trois conditions de P, et elle était limitée à du phénotypage aérien.

Dans les deux expérimentations, la contrainte en P a été appliquée en ajustant les concentrations dans les solutions nutritives par rapport à une dose non limitante, définie à partir d'essais préliminaires. Avec cette méthode, la quantité appliquée de P dans un traitement donné était identique pour chaque plante, et liée à la quantité de solution apportée. La disponibilité en P pour les plantes a par ailleurs pu être influencée par le dispositif expérimental, et la répartition du P dans le substrat à partir du point source d'injection de la solution. Nous avons pu constater, à partir de l'analyse des teneurs en P dans les plantes, que bien que les concentrations appliquées dans les traitements en faible P et en fort P des deux essais étaient identiques, l'intensité du stress a été plus importante dans la première expérimentation en tunnel. La réponse des plantes en termes de croissance aérienne a été en conséquence différente en termes d'intensité dans les deux essais, mais similaire dans ses mécanismes. Dans l'expérimentation en tunnel, la masse sèche des feuilles a été réduite chez les 14 géotypes, en moyenne de 57%. Cette réduction a

été associée à une diminution forte de la croissance foliaire et une influence marginale de la photosynthèse maximale des feuilles. En serre, avec une contrainte de disponibilité en P moins forte, la réduction de masse n'a été que de 13%, là encore sans impact notable de la photosynthèse maximale. Dans d'autres études, l'impact de la disponibilité en P sur la photosynthèse a pourtant été signalé (Wissuwa *et al.*, 2005).

Il a été montré en tunnel que la masse racinaire a été réduite à faible P, mais dans une proportion moindre que l'appareil aérien, et pas chez tous les génotypes, quand bien même ceux-ci avaient subi une perte importante de masse sèche aérienne. Le maintien de la masse racinaire à faible P a été observé aussi bien chez des génotypes sauvages que des variétés cultivées anciennes et modernes. Cette réponse au faible P consistant à augmenter le rapport masse racine / masse parties aérienne est universellement observée chez les végétaux, chez la laitue (Buso and Bliss, 1988) comme chez d'autres espèces (Hammond and White, 2011; Gerke, 2015), et est due à un surcroît d'allocation relative de carbone aux racines. Classiquement également, la teneur en P a diminué dans les feuilles et dans les racines avec des réductions de plus de 50%. Cette diminution de la teneur en P n'a modifié que marginalement la surface spécifique des feuilles, ainsi que cela a pu être montré en tunnel. En serre, une approche comparative à partir de la variabilité génotypique des potentiels de croissance en masse a permis d'illustrer une source de variation de la teneur en P des feuilles, liée à l'accroissement de la biomasse. Ceci est probablement dû à un effet de dilution, bien décrit chez de nombreuses espèces, à la fois pour le phosphore et l'azote (Lemaire *et al.*, 2008; Nyiraneza *et al.*, 2021).

L'expression du potentiel de croissance chez les 14 génotypes communs aux deux essais est apparue assez similaire, avec une variabilité génétique de la masse plus importante en serre (de 1 à 20 en P3) qu'en tunnel (1 à 6 en HP). Les expérimentations ont été menées en automne pour la première, et en début d'hiver pour la seconde. Les variétés de laitue sont de nos jours sélectionnées pour s'inscrire dans un créneau calendaire assez restreint, défini par une intensité lumineuse, une durée de photopériode, et une gamme de températures. Les différences de croissance observées entre les génotypes ont pu partiellement refléter l'adéquation ou non aux périodes d'essais, et le créneau de production n'a pas été un critère de choix des variétés, pas plus qu'il n'a été considéré explicitement dans l'analyse des résultats. Malgré une bonne concordance entre les données obtenues dans les deux essais, des différences de classement des génotypes ont pu être liées à une expression accrue du potentiel de croissance d'un génotype dans une condition plutôt qu'une autre. Pour ce qui est de la réponse au P, il a été observé sous serre que, à dose fixe de P apportée pour tous les génotypes, la contrainte subie par la plante n'était pas la même en fonction de son potentiel de croissance, et donc de sa demande en P en

masse : avec un écart d'apport relativement restreint entre les traitements P, le faible niveau de P n'a été significativement limitant que pour les génotypes ayant un fort potentiel de masse sèche lorsque le P n'est pas limitant. Cela constitue indéniablement une limite à la méthodologie de phénotypage. Une alternative, plus difficile à mettre en œuvre, aurait été d'adapter les doses hautes et basses de P à chaque génotype en fonction de son potentiel de croissance. Il aurait été nécessaire dans ce cas d'étudier dans un premier temps ces potentiels, pour ensuite réaliser les essais de restriction en P. Du fait d'une faible plasticité, pour un génotype donné, de la masse surfacique des feuilles dans les conditions expérimentales des essais, la surface foliaire projetée est apparue bien corrélée à la masse sèche. En serre, la surface projetée mesurée à un stade précoce a expliqué la moitié de la variabilité de la masse sèche mesurée à la récolte, illustrant l'importance de la croissance en début de cycle sur le potentiel de développement. Néanmoins des différences génotypiques sont apparues ; en particulier, les génotypes sauvages ont tous présenté un accroissement relatif de la surface projetée plus élevé en fin de cycle, en comparaison des variétés cultivées, probable conséquence des objectifs de sélection variétale

Dans l'essai en tunnel, les traits racinaires ont été mesurés après échantillonnage et numérisation d'image des échantillons, sauf pour la profondeur du pivot qui a été mesurée directement sur le système racinaire extrait du substrat. Les six traits racinaires considérés (Depth, Dmax, Dmin, Elong, DIDm et Ibd) ont présenté des variations génotypiques significatives, et à part Dmin ont été affectés par la disponibilité en P. La variabilité des traits s'est accompagnée d'écarts de masse sèche du système racinaire de 1 à 5 en HP et de 1 à 8 en LP, avec une corrélation importante entre la masse de racines et la masse de feuilles. Cette corrélation est la résultante d'un rapport de masse entre racines et feuilles qui varie relativement moins que les masses absolues, et dont les variations ne dépendent pas du potentiel de croissance du génotype. En d'autres termes, et d'après ces observations, sélectionner pour un « gros » système racinaire s'accompagne d'une sélection pour un « gros » système aérien, mais il y a une source résiduelle de variabilité dans le rapport racine/feuille, qui peut être ciblée en valeur haute ou faible indépendamment du potentiel de croissance.

L'absence d'effet d'interaction génotype x phosphore dans les analyses statistiques réalisées laisse penser que la plasticité phénotypique racinaire liée à la disponibilité en P varie relativement peu avec le génotype. Le peu de variabilité observée à néanmoins permis de montrer que l'adaptation du système racinaire à une faible disponibilité en P ne se fait pas par une augmentation du nombre de racines latérales, et que la diminution de la densité de ramification s'observait tendanciellement davantage chez les génotypes réduisant fortement la croissance de leur pivot. Ce résultat suggère qu'il n'y a pas de phénomène de compensation sur

cet aspect, mais plutôt un système racinaire fragilisé chez certains géotypes en termes de croissance des racines primaires et d'émission de racines latérales. En revanche, il a été d'une part observé une relation linéaire négative entre la réduction du diamètre du pivot et la diminution de DIdm à faible P, indiquant un compromis possible entre maintien du potentiel de croissance du pivot et augmentation du diamètre des racines latérales relativement au pivot. D'autre part, une légère augmentation de la variable Elong a été observée à faible P disponible, tandis que la longueur observée des latérales en fonction du diamètre a été très significativement augmentée. Ces résultats montrent dans l'ensemble, en réponse à une baisse de la disponibilité en P, une stratégie de maintien du potentiel de croissance du pivot, accompagnée d'une diminution de la densité et du diamètre des racines latérales, compensée par une intensité ou une durée de croissance accrue de ces latérales, pour un diamètre donné. Ces résultats diffèrent sensiblement d'autres stratégies connues chez d'autres espèces en réponse à une baisse de P. Il a en effet été fréquemment reporté une formation accrue de racines latérales, accompagnée d'une inhibition de la croissance des racines primaires. Cela aurait pour conséquence l'augmentation de la surface racinaire développée pour un volume donné, principalement dans les couches superficielles du sol où le P est majoritairement présent (Ho *et al.*, 2005; Lynch, 2007; Péret *et al.*, 2014; Miguel *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2018). L'extension des observations réalisées dans ce travail à d'autres contextes permettrait de confirmer un type de plasticité environnementale en réponse au P spécifique dans le genre *Lactuca*.

Le deuxième objectif de la thèse consistait à étudier la variabilité génotypique de l'efficacité en P et identifier les traits associés à cette efficacité. La PUE a été classiquement divisée en deux composantes, l'efficacité d'acquisition (PU_pE) et l'efficacité d'utilisation (PU_tE). En tunnel, une variabilité génotypique de la PUE et de ses composantes a été observée confirmant les résultats de quelques autres études sur laitue (Buso and Bliss, 1988; Cock *et al.*, 2002). La PUE a varié davantage selon les géotypes en LP (d'un facteur 10) comparé à HP (d'un facteur 4), avec une variation relative de la PU_pE plus importante que celle de la PU_tE. On retrouve aux extrémités de la distribution de la PUE les géotypes sauvages, les variétés cultivées présentant des valeurs intermédiaires.

Dans l'essai en serre, les incertitudes concernant les quantités de P apportées n'ont pas permis de calculer la PU_pE et la PUE chez les 50 géotypes. Cependant, tous les géotypes ayant reçu la même quantité de P dans un traitement donné, la PU_pE est en conséquence liée linéairement à la quantité de P absorbée et la variabilité génétique de la PU_pE est donc la même que celle du contenu en P. La PU_tE en serre a été mesurée légèrement plus élevée qu'en tunnel, et a présenté une gamme de variation génotypique similaire avec un facteur de variation

d'environ 2.5 pour les deux traitements P1 et P3.

Afin de vérifier la robustesse des classements d'efficience dans les deux essais, la PUE « feuilles » a été calculée pour les 14 génotypes communs aux deux essais : en tunnel à partir des deux composantes en considérant le contenu en P dans les feuilles (i.e. sans tenir compte de la composante racine en termes de contenu en P et de masse sèche), et de la même manière en serre, en utilisant pour la PUE une estimation à partir des quantités théoriques de P apportée et de la quantité de P réellement mesurée dans les feuilles. Le tableau 1 montre une relative similitude entre les classements des génotypes par ordre d'efficience en tunnel et en serre, et d'un niveau de P disponible à un autre. Les deux génotypes sauvages, la laitue tige « Red orient », et la *L. sativa* « PI251245 » et l'ancienne variété de Romaine « Blonde lente à monter » sont les plus efficaces en PUE dans les deux conditions de P et dans les deux essais, tandis que l'espèce sauvage *L. saligna* « CR17 » est la moins efficace dans les quatre conditions. Les variétés beurre ancienne Green Mignonette et la batavia moderne Ferega présentent un classement plus divergent en fonction des conditions.

Tableau 1 : Classement des 14 génotypes communs dans chaque essai et à chaque niveau de P
Les génotypes sont classés en ordre croissant de moins efficaces au plus efficaces en PUE

PUE en serre		PUE en tunnel	
P1	P3	LP	HP
CR17	CR17	CR17	CR17
LS367	Green Mignonette	Ferega	Socca
Socca	Joviale	Joviale	LS367
Green Mignonette	Socca	Green Mignonette	Joviale
Joviale	LS367	LS367	Ferega
Bourguignonne	Feuille de chêne blonde	Bourguignonne	Nenufar
Feuille de chêne blonde	Ferega	Socca	De Pierre Bénite
Kilervi	Nenufar	Feuille de chêne blonde	Feuille de chêne blonde
Nenufar	Bourguignonne	Nenufar	Bourguignonne
De Pierre Bénite	Kilervi	De Pierre Bénite	Green Mignonette
Ferega	De Pierre Bénite	Blonde lente à monter	Blonde lente à monter
Blonde lente à monter	Blonde lente à monter	Kilervi	Kilervi
Red Orient	Red Orient	PI251245	PI251245
PI251245	PI251245	Red Orient	Red Orient

Il a été montré dans ce travail que la PUE est le déterminant majeur de la PUE quand le P est limitant. En P disponible, la PUE est davantage corrélée à la PUE, avec néanmoins

toujours une contribution majoritaire de la PUpE. Ce résultat a été déjà suggéré chez d'autres espèces (Parentoni and De Souza Júnior, 2008; Wang *et al.*, 2010; Gemenet *et al.*, 2015).

L'amélioration de la PUpE apparaît donc comme la composante la plus importante pour améliorer la PUE dans le genre *Lactuca* quel que soit le niveau de P, et ceci implique l'étude des caractéristiques racinaires chez cette espèce. L'effet du P sur les traits de l'architecture racinaire, ainsi que leur contribution chez la laitue n'avaient jamais été étudiés auparavant d'où l'intérêt de ce travail. Nous avons montré que la PUpE est corrélée positivement à la masse racinaire dans les deux conditions du P. Les deux géotypes les plus efficaces sont ceux qui ont la masse de racines la plus élevée. D'autres travaux ont souligné l'importance de la taille du système racinaire et la relation entre l'efficacité d'acquisition et le ratio « root : shoot », par exemple chez le café (Neto *et al.*, 2016), le blé (De Souza Campos *et al.*, 2019), ou l'orge (Gahoonia and Nielsen, 2004). Plusieurs auteurs ont souligné qu'un système racinaire large et profond permet à la plante d'explorer un plus large volume du sol et d'acquérir plus de P (Liu *et al.*, 2004; Samadder *et al.*, 2018). Les principaux déterminants de la masse racinaire dans ce travail ont été le diamètre apical du pivot (Dmax) et la profondeur de celui-ci (Depth), quel que soit le niveau de P disponible. En accord avec ces résultats l'augmentation relative de la PUE en LP comparé à HP, a été associée au diamètre apical (Dmax), soit que les géotypes aient eu un pivot de gros diamètre, soit que le diamètre n'ait pas trop diminué avec la contrainte en P. Cependant le lien entre volume, profondeur et efficacité n'est pas universel et il est discuté. Il a été souligné par Wang *et al.* (2010) que chez le Soja, les géotypes modernes ont des systèmes racinaires superficiels et des PUpE élevées, les rendant efficaces vis-à-vis du P majoritairement disponible en surface, tandis que les géotypes sauvages, à système racinaire plus profond, ont une PUpE plus faible. Chez *Lactuca*, dans les conditions de cette étude, les résultats s'opposent à ceux sur le soja : ce sont les géotypes sauvages à forte croissance du pivot qui sont les plus efficaces.

La PUE a augmenté chez tous les géotypes en LP. Cette augmentation a été associée à la capacité génotypique à augmenter la fraction des racines dans la masse totale en LP comparé à HP. Cela suggère que les géotypes ayant une faible plasticité en termes de fraction racinaire auront une faible augmentation de leur PUE, ce qui limite finalement leur PUE et leur croissance par unité de phosphore acquis. La dimension originale de ce résultat obtenue en comparant 14 géotypes a été soulignée, même si d'autres auteurs ont discuté les questions de l'intérêt d'allouer du carbone vers les racines en cas de déficit en P.

Le troisième objectif de la thèse visait à évaluer la capacité d'un modèle d'architecture racinaire simple à rendre compte de la variabilité génotypique et de la disponibilité en P. Le jeu de données issue de l'expérimentation en tunnel nous a permis de paramétrer le modèle d'architecture racinaire « ArchiSimple ». Ce modèle ne contient pas de formalismes permettant de simuler l'effet de l'environnement sur les processus de développement du système racinaire. Les traits racinaires mesurés ont servi comme paramètres d'entrée du modèle. Ce sont ces paramètres qui intègrent implicitement les conditions du milieu influençant l'architecture racinaire. L'enjeu était alors de vérifier si un petit nombre de paramètres pouvaient rendre compte de l'adaptation du système racinaire à la contrainte en P, et lesquels, sur un panel de géotypes. Ce travail de calibration a consisté à utiliser les observations des masses racinaires et à les comparer aux simulations. Cette démarche a été l'occasion d'un dialogue intéressant entre expérimentation et modélisation pour identifier les paramètres à représenter. En effet il est apparu que rendre compte de manière non biaisée de l'effet du P sur la masse totale du système racinaire nécessitait de modifier des paramètres n'ayant pas été regardés en première approche lors de l'expérimentation, en particulier ceux illustrant l'effet du P sur la croissance des racines latérales. Accéder à l'information sur la vitesse d'élongation et la durée d'allongement des racines latérales est impossible sans un dispositif d'observation dynamique du système racinaire (Lecompte *et al.*, 2001), puisque la longueur finale des racines dépend des deux variables. C'est la raison pour laquelle, dans l'expérimentation, le paramètre Elong n'a été mesuré que sur les pivots, dont on pouvait estimer avec une relative certitude qu'ils s'allongeaient encore au moment de l'échantillonnage. La vitesse d'allongement rapportée au diamètre pouvait donc être calculée sur ces pivots en divisant la longueur par un temps et par un diamètre, en faisant l'hypothèse implicite d'une vitesse de croissance constante entre l'émission de la racine et la mesure de sa longueur. Mais cette démarche n'est pas applicable aux racines fines, dont on ne pouvait préjuger au moment de l'observation si elles avaient cessé de croître ou pas, et depuis combien de temps. L'analyse a posteriori des relations diamètres-longueurs sur ces racines latérales a permis de montrer leur adaptation à faible P disponible, et de faire l'hypothèse d'une vitesse d'élongation ou d'une durée de croissance accrue. La prise en compte d'un effet P sur les paramètres Elong et Growthdur dans le scénario de simulation S4 a permis de supprimer le biais constaté de surestimation de la masse en HP et de sous-estimation en LP, lorsque les valeurs initialement mesurées des traits avaient été employés.

Le modèle a pu rendre compte de manière partielle de la variabilité génétique, avec un gain de prédiction obtenu en considérant les paramètres génotypiques individuels plutôt qu'une valeur moyenne pour l'ensemble des géotypes. Cependant l'erreur de prédiction reste

importante pour certains génotypes, sans que l'analyse des valeurs des paramètres et une première approche d'analyse de sensibilité puisse expliquer ces écarts. Ainsi la modulation de quelques paramètres dans le modèle Archisimple permet de représenter à la fois une partie de la variabilité génétique et de la plasticité phénotypique, sans néanmoins pouvoir simuler finement les spécificités architecturales de certaines variétés. Il aurait pu être tenté dans le cadre de ce travail de simuler une efficacité d'acquisition du P en considérant le P appliqué et en calculant le P contenu dans les racines à partir des biomasses simulées et des teneurs en P, mais l'incertitude sur les masses aurait probablement généré une erreur importante par rapport aux PUpE effectivement mesurées.

À l'issue de ce travail, on peut en conclusion considérer que les objectifs ont été partiellement atteints, et que de nouvelles informations ont été acquises sur le développement aérien et racinaire dans le genre *Lactuca*, la réponse à la disponibilité en P, et la variabilité génétique de l'efficacité d'acquisition du P.

II. Perspectives

II.1. Perspectives scientifiques

Ce travail de thèse s'est restreint à une approche descriptive des génotypes, sans chercher à caractériser les mécanismes physiologiques sous-jacents aux processus de croissance et d'adaptation à la contrainte en P. De nombreux travaux ont été menés pour déterminer les mécanismes physiologiques responsables de la modification de l'architecture racinaire en réponse au P. Ils ont montré que la variation de la disponibilité du P altère la production, la sensibilité et le transport des sucres et des hormones, en particulier l'auxine, l'éthylène et les cytokinines (Liao *et al.*, 2001; Nacry *et al.*, 2005; Chiou and Lin, 2011; Hammond and White, 2011; Niu *et al.*, 2013). Chez le Lupin, la formation des racines protéoïdes en faible P est contrôlée par au moins deux systèmes de régulation médiés par des signaux de sucres (Zhou *et al.*, 2008). Chez *Arabidopsis*, l'augmentation de la densité de ramification en réponse à une limitation en P est associée à une augmentation de la teneur en sucres (Péret *et al.*, 2011). Chez *Arabidopsis*, le développement des racines latérales et l'arrêt des divisions cellulaires dans les apex en cas de privation en P résultent de la modification du transport et/ou de la sensibilité à l'auxine (López-Bucio *et al.*, 2002). Chez le haricot, l'angle des racines basales peut être modulé par la sensibilité des racines basales à l'éthylène stimulée en faible P (Niu *et al.*, 2013).

La variabilité génétique constatée dans cette étude pourrait être explorée davantage en analysant les contenus métaboliques et la signalisation hormonale résultant de la perception du milieu. De même, les mécanismes physiologiques activés pour s'adapter à un déficit en P

pourraient faire l'objet de démarches d'analyse phénotypique. Les plantes secrètent également des enzymes telles que les phosphatases acides et les phytases pour hydrolyser les formes organiques de P. La sécrétion intracellulaire de ces enzymes joue un rôle important dans la remobilisation du P (Vance *et al.*, 2003; Balemi and Negisho, 2012). De plus, Les plantes libèrent des acides organiques dans la rhizosphère pour solubiliser les formes de P difficilement disponible (Yan *et al.*, 2004).

Des travaux en génétique ont identifié une série de gènes et de régulateurs transcriptionnels qui interviennent dans la modification de l'architecture des racines en réponse à une faible disponibilité en P chez diverses espèces (Ramaekers *et al.*, 2010; Hammond and White, 2011; Péret *et al.*, 2011; Niu *et al.*, 2013). Chez le haricot, deux QTL majeurs ont été identifiés et représentaient 19-61 % de la variation phénotypique totale des traits racinaires des racines adventices dans des conditions de faible P (Ochoa *et al.*, 2006). Chez le maïs, une analyse QTL a permis de détecter une région chromosomique où deux QTL codent pour la PUE, trois pour la PUpE et trois pour l'architecture racinaire. La sélection assistée par marqueur a identifié neuf lignées issues de rétrocroisements qui ont montré des augmentations moyennes de 22 % à 26 % de PUE en cas de faible P reposant principalement sur des changements dans la morphologie des racines dans des conditions hydroponiques et en sol (Gu *et al.*, 2016).

D'autres études ont mis en évidence l'importance de nombreux gènes impliqués dans la réponse à la privation en P (PSR), particulièrement les gènes AVP1, PHO1 et OsPHT1 qui ont été étudiés chez le riz et *Arabidopsis* (Heuer *et al.*, 2017). Ces gènes codent pour des protéines impliquées dans le transport du P. Il a été suggéré que l'introduction de ces gènes dans les plantes pourrait améliorer la PUE quand le P est limitant (Gamuyao *et al.*, 2012; Heuer *et al.*, 2017). Chez la laitue, Kerbirou, (2014) a identifié des QTL responsables de l'efficacité d'acquisition de l'azote, mais aucune information semble être disponible à propos du P.

L'identification de QTL impliqués dans l'efficacité renvoie à la diversité génétique utilisée pour quantifier les variations. Dans ce travail, l'observation d'espèces sauvages de *Lactuca* a permis d'illustrer une diversité génétique aérienne et racinaire plus importante que celle observée chez les *L. sativa* cultivées. C'est un constat général pour de nombreux caractères d'intérêt agronomiques, et justifie le croisement avec des espèces sauvages dans les programmes de sélection variétale. Parmi les génotypes sauvages étudiés, deux ont été identifiés comme les plus efficaces en P, ce qui illustre l'importance de l'exploration des ressources génétiques sauvages pour identifier les génotypes capables de se développer dans des milieux moins favorables que ceux qui sont exploités dans l'agriculture occidentale contemporaine. Nous avons observé une variabilité génétique comparable dans les essais en tunnel et en serre

chez les 14 génotypes communs aux deux essais. L'ajout de 36 génotypes supplémentaires en serre n'a pas permis d'obtenir davantage de variabilité phénotypique, par exemple en termes de teneur en P. Cependant, on ne peut en conclure que l'exploration de davantage de diversité, notamment au sein des espèces sauvages apparentées, ne permettrait pas d'identifier une gamme encore plus large d'architecture, de réponse au P, et d'efficience.

Le choix des dispositifs expérimentaux construits lors de ce travail s'est basé sur l'expérience de l'équipe scientifique d'accueil, en particulier dans sa focalisation sur les traits importants pour explorer la variabilité génétique des traits racinaires. L'accès à ces traits est relativement facile à partir de prélèvements destructifs, mais il a été souligné plus haut que certains aspects dynamiques d'adaptation des racines à leur environnement pouvaient être occultés. Il convient donc de souligner la complémentarité possible de ce type d'approche avec des démarches ayant davantage recours à des enregistrements d'images séquentielles dans le temps, ou des techniques d'imagerie 3D. D'autre part, les images de scans de racines obtenues, malgré leur définition, n'ont pas permis de mesurer la longueur et la densité des poils absorbants dont on sait qu'ils ont souvent été associés à la capacité d'acquisition de P (Ma *et al.*, 2001; Haling *et al.*, 2013). Si l'approche utilisée dans ce travail ne questionne pas l'accès au calcul d'efficience d'acquisition et d'utilisation du P, la caractérisation incomplète du système fonctionnel d'acquisition a pu occulter l'importance de certains traits dans cette efficience.

Enfin, les résultats ont été obtenus dans un substrat qui n'est pas structuré en horizon et où la répartition du P dans le volume n'a pas été évaluée. Afin de généraliser les résultats obtenus, il conviendrait de diversifier les environnements d'étude, en particulier dans des sols cultivés, dans lesquels l'acquisition des variables mesurées ici est beaucoup plus difficile.

II.2. Perspectives agronomiques

La variabilité d'efficience vis-à-vis du P mise en évidence dans cette étude questionne sur la pertinence agronomique de sa valorisation. On peut utiliser les valeurs obtenues pour étudier les économies possibles en fertilisants phosphatés en conditions de production agricole. Pour cela, on considérera des laitues de 400 g de matière fraîche (24 tonnes de matière fraîche par hectare avec une densité de 140000 plantes/ha). Sur cette base de biomasse et en considérant les extrêmes des valeurs mesurées (en tunnel) et estimées (en serre) de PUE, en condition non limitante de P, les quantités à appliquer varieraient de 10 à 150 kg P/ha pour l'ensemble des génotypes et de 15 à 150 kg P/ha pour les seules variétés cultivées. De manière plus théorique, car en cas de limitation en P les niveaux de rendements utilisés pour le calcul ne seraient pas atteints, les PUE mesurées à faible P conduiraient à un apport de 5 à 50 kg P/ha pour l'ensemble des génotypes, et de 8 à 30 kg P/ha pour les variétés cultivées. Ces écarts de besoins d'un facteur

variable suivant les conditions mais toujours supérieur à 5 montrent que l'utilisation de variétés efficaces pourrait permettre des économies très significatives de fertilisants. Comme chez d'autres familles végétales, chez *Lactuca* l'efficacité vis-à-vis du P a probablement un contrôle polygénique et du fait de compromis à trouver avec d'autres caractères, seule une partie de l'efficacité des génotypes sauvage pourrait être transmise aux variétés cultivées modernes. D'autre part ces valeurs, obtenues dans un substrat inerte où le sol ne fournit pas de P, devraient être vérifiées dans un sol agricole où la phase solide réapprovisionne en permanence la solution. Néanmoins, on peut noter que les outils agronomiques modernes de réflexion de la fertilisation en P basés sur les extractions chimiques permettent des économies en P comparables à celles estimées ici en utilisant des génotypes efficaces. C'est donc bien par la combinaison de techniques évaluant la biodisponibilité dans le sol et l'utilisation de variétés efficaces que des économies importantes de phosphore, ressource minière limitée et polluante à l'échelle des écosystèmes, pourront être réalisées.

D'autres approches complémentaires sont possibles. Des études suggèrent l'utilisation d'autres formes chimiques de P, moins susceptibles d'être adsorbées sur les particules du sol ou de former des complexes insolubles afin de minimiser la rétention du P sur la phase solide du sol. Récemment, une nouvelle technologie a été développée en se basant sur l'ingénierie métabolique permettant aux plantes de métaboliser le phosphite (Phi ; une forme réduite de P) (Heuer *et al.*, 2017). La majorité des organismes vivants ne sont pas capables d'utiliser le phosphite. Néanmoins, quelques bactéries qui possèdent le gène *ptxD* sont capables de transformer le phosphite en phosphate. Ce gène a été transféré dans des plantes qui sont devenues aptes à assimiler le phosphite (López-Arredondo *et al.*, 2014). Et bien entendu, l'intensification écologique des agrosystèmes cultivés apportera une partie de la réponse. En particulier, à mesure que les apports de fertilisants seront restreints, les plantes mobiliseront davantage les interactions symbiotiques avec les mycorhizes, dont on sait qu'elles sont actuellement d'efficacité limitée du fait de leur coût en carbone important pour la plante quand la biodisponibilité en P est forte, en conséquence d'un excès de fertilisation (Richardson and Simpson, 2011).

L'utilisation des variétés efficaces doit donc être accompagnée par une baisse de la fertilisation phosphatée, par l'utilisation de produits qui sont capables de modifier l'interaction entre la phase solide et liquide et de favoriser l'interaction entre plante et micro-organismes.

Références bibliographiques

- Abdolzadeh, A., Wang, X., Veneklaas, E. J., and Lambers, H. (2010). Effects of phosphorus supply on growth, phosphate concentration and cluster-root formation in three *Lupinus* species. *Ann. Bot.* 105, 365–374. doi:10.1093/aob/mcp297.
- Agreste (2019). Infos rapides. *Agreste Infos rapides*, 2–5. Available at: <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/conjinfoleg201311toma.pdf>.
- Agreste (2021). Crise conjoncturelle pour la laitue d’hiver en décembre 2020. n°2021 - 007. Available at: <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>.
- Ahmad, Z., Gill, M. A., and Qureshi, R. H. (2001). Genotypic variations of phosphorus utilization efficiency of crops. *J. Plant Nutr.* 24, 1149–1171. doi:10.1081/PLN-100106973.
- Akhtar, M. S., Oki, Y., and Adachi, T. (2008). Genetic variability in phosphorus acquisition and utilization efficiency from sparingly soluble P-sources by *Brassica* cultivars under P-stress environment. *J. Agron. Crop Sci.* 194, 380–392. doi:10.1111/j.1439-037X.2008.00326.x.
- Aziz, P. T., Maqsood, M., and Mansoor, T. (2005). Differences in phosphorus absorption, transport and utilization by twenty rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Pak. J. Agri. Sci* 42, 8–15.
- Balemi, T. (2010). Effect of phosphorus nutrition on growth of potato genotypes with contrasting phosphorus efficiency. *African Crop Sci. J.* 17, 199–212. doi:10.4314/acsj.v17i4.54304.
- Balemi, T., and Negisho, K. (2012). Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: A review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 547–561. doi:10.4067/s0718-95162012005000015.
- Barrière, V., Lecompte, F., Nicot, P. C., Maisonneuve, B., Tchamitchian, M., and Lescourret, F. (2014). Lettuce cropping with less pesticides. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 175–198. doi:10.1007/s13593-013-0158-5.
- Beebe, S. E., Rojas-Pierce, M., Yan, X., Blair, M. W., Pedraza, F., Muñoz, F., et al. (2006). Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean. *Crop Sci.* 46, 413–423. doi:10.2135/cropsci2005.0226.
- Beebe, S., Lynch, J., Galwey, N., Tohme, J., and Ochoa, I. (1997). A geographical approach to identify phosphorus-efficient genotypes among landraces and wild ancestors of common bean. *Euphytica* 95, 325–338. doi:10.1023/A:1003008617829.
- Bilal, H. M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Farooq, M., and Yan, G. (2018). Categorization of wheat genotypes for phosphorus efficiency. *PLoS One* 13, e0205471. doi:10.1371/journal.pone.0205471.

- Bolland, M. D. A., and Brennan, R. F. (2005). Critical phosphorus concentrations for oats, barley, triticale, and narrow-leaf lupin. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 36, 1177–1186. doi:10.1081/CSS-200056891.
- Bonser, A. M., Lynch, J., and Snapp, S. (1996). Effect of phosphorus deficiency on growth angle of basal roots in *Phaseolus vulgaris*. *New Phytol.* 132, 281–288. doi:10.1111/j.1469-8137.1996.tb01847.x.
- Borch, K., Bouma, T. J., Lynch, J. P., and Brown, K. M. (1999). Ethylene: A regulator of root architectural responses to soil phosphorus availability. *Plant, Cell Environ.* 22, 425–431. doi:10.1046/j.1365-3040.1999.00405.x.
- Broadley, M. R., Bowen, H. C., Cotterill, H. L., Hammond, J. P., Meacham, M. C., Mead, A., et al., (2004). Phylogenetic variation in the shoot mineral concentration of angiosperms. *J. Exp. Bot.* 55, 321–336. doi:10.1093/jxb/erh002.
- Brown, L. K., George, T. S., Thompson, J. A., Wright, G., Lyon, J., Dupuy, L., et al. (2012). What are the implications of variation in root hair length on tolerance to phosphorus deficiency in combination with water stress in barley (*Hordeum vulgare*)? *Ann. Bot.* 110, 319–328. doi:10.1093/aob/mcs085.
- Bui, H. H., Serra, V., and Pagès, L. (2015). Root system development and architecture in various genotypes of the solanaceae family. *Botany* 93, 465–474. doi:10.1139/cjb-2015-0008.
- Buso, G. S. C., and Bliss, F. A. (1988). Variability among lettuce cultivars grown at two levels of available phosphorus. *Plant Soil* 111, 67–73. doi:10.1007/BF02182038.
- Cahn, M. D., Zobel, R. W., and Bouldin, D. R. (1989). Relationship between root elongation rate and diameter and duration of growth of lateral roots of maize. *Plant Soil* 119, 271–279. doi:10.1007/BF02370419.
- Campos, P., Borie, F., Cornejo, P., López-Ráez, J. A., López-García, Á., and Seguel, A. (2018). Phosphorus acquisition efficiency related to root traits: Is mycorrhizal symbiosis a key factor to wheat and barley cropping? *Front. Plant Sci.* 9, 1–21.
- Carpenter, S. R., Caraco, N. F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A. N., and Smith, V. H. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol. Appl.* 8, 559–568.
- Cecílio Filho, A. B., Silverio da Silva, G., and Mendoza Cortez, J. W. (2013). Phosphorus fertilization of “Fuyutoyo” cabbages in phosphorus-rich eutrustox soil. *Chil. J. Agric. Res.* 73, 288–292. doi:10.4067/S0718-58392013000300012.

- Chagas, W. F. T., Guelfi, D. R., Emrich, E. B., Silveira, M. T. de P., Caputo, A. L. C., Andrade, A. B., et al. (2017). Agronomic characteristics of lettuce grown with monoammonium phosphate in sandy soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 48, 1520–1527. doi:10.1080/00103624.2017.1373793.
- Chaudhary, M. I., Adu-Gyamfi, J. J., Saneoka, H., Nguyen, N. T., Suwa, R., Kanai, S., et al. (2008). The effect of phosphorus deficiency on nutrient uptake, nitrogen fixation and photosynthetic rate in mashbean, mungbean and soybean. *Acta Physiol. Plant.* 30, 537–544. doi:10.1007/s11738-008-0152-8.
- Chiera, J., Thomas, J., and Rufty, T. (2002). Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. *J. Exp. Bot.* 53, 473–481. doi:10.1093/jexbot/53.368.473.
- Chiou, T.-J., and Lin, S.-I. (2011). Signaling network in sensing phosphate availability in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 185–206. doi:10.1146/annurev-arplant-042110-103849.
- Ciereszko, I., Janonis, A., and Kociakowska, M. (2002). Growth and metabolism of cucumber in phosphate-deficient conditions. *J. Plant Nutr.* 25, 1. doi:10.1081/pln-120003943.
- Cock, W. R. S., Teixeira do Amaral Júnior, A., Bressan-Smith, R. E., and Monnerat, P. H. (2002). Biometrical analysis of phosphorus use efficiency in lettuce cultivars adapted to high temperatures. *Euphytica* 126, 299–308. doi:10.1023/A:1019949528214.
- Cogliatti, D. H., and Clarkson, D. T. (1983). Physiological changes in, and phosphate uptake by potato plants during development of, and recovery from phosphate deficiency. *Physiol. Plant.* 58, 287–294. doi:10.1111/j.1399-3054.1983.tb04183.x.
- COMIFER (1995) Aide au diagnostic et à la prescription de la fertilisation phosphatée et potassique des grandes cultures. COMIFER, Paris, p 28
- Cordell, D., Drangert, J. O., and White, S. (2009). The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Glob. Environ. Chang.* 19, 292–305. doi:10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009.
- Da Silva, A., Bruno, I. P., Franzini, V. I., Marcante, N. C., Benitiz, L., and Muraoka, T. (2016). Phosphorus uptake efficiency, root morphology and architecture in Brazilian wheat cultivars. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 307, 1055–1063. doi:10.1007/s10967-015-4282-3.
- Da Silveira, G., Costa, P. M. d. A., Kist, V., de Almeida, C. F., Baffa, D. C. F., and Barbosa, M. H. P. (2014). Genetic variation affecting agronomic traits in sugarcane in response to high and low phosphorus availability. *Agron. J.* 106, 2296–2304.
- De Souza Campos, P. M., Cornejo, P., Rial, C., Borie, F., Varela, R. M., Seguel, A., et al., (2019). Phosphate acquisition efficiency in wheat is related to root:shoot ratio, strigolactone levels, and PHO2 regulation. *J. Exp. Bot.* 70, 5631–5642. doi:10.1093/jxb/erz349.

- Dechassa, N., Schenk, M. K., Claassen, N., and Steingrobe, B. (2003). Phosphorus efficiency of cabbage (*Brassica oleraceae* L. vat. capitata), carrot (*Daucus carota* L.), and potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Soil* 250, 215–224. doi:10.1023/A:1022804112388.
- Deng, Y., Teng, W., Tong, Y. P., Chen, X. P., and Zou, C. Q. (2018). Phosphorus efficiency mechanisms of two wheat cultivars as affected by a range of phosphorus levels in the field. *Front. Plant Sci.* 871, 1–12. doi:10.3389/fpls.2018.01614.
- Diggle A.J (1988). R O O T M A P - a model in three-dimensional coordinates of the growth and structure of fibrous root systems. *Plant Soil* 105, 169–178.
- Doussan, C., Pagès, L., and Vercambre, G. (1998). Modelling of the hydraulic architecture of root systems: An integrated approach to water absorption - Model description. *Ann. Bot.* 81, 213–223. doi:10.1006/anbo.1997.0540.
- Dunbabin, V. M., Postma, J. A., Schnepf, A., Pagès, L., Javaux, M., Wu, L., *et al.*, (2013). Modelling root-soil interactions using three-dimensional models of root growth, architecture and function. *Plant Soil* 372, 93–124. doi:10.1007/s11104-013-1769-y.
- Duru, M., Cransac, Y., Dalmière, A., Rosière, M., Marion, P., and Roussel, R. (1992). Diagnostic de la nutrition minérale de prairies permanentes au printemps. II. Validation de références. *Agronomie* 12, 345–357. doi:10.1051/agro:19920501.
- FAOSTAT (Statistical of Food and Agriculture Organization), 2018: Data from the FAOSTAT Statistical data. Available from www.fao.org.
- FAOSTAT (Statistical of Food and Agriculture Organization), 2019: Data from the FAOSTAT Statistical data. Available from www.fao.org.
- Fernandes, A. M., Soratto, R. P., and Gonsales, J. R. (2014). Root morphology and phosphorus uptake by potato cultivars grown under deficient and sufficient phosphorus supply. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 180, 190–198. doi:10.1016/j.scienta.2014.10.035.
- Fernández, M. C., Belinque, H., Gutierrez Boem, F. H., Boem, G., and Rubio, G. (2009). Compared phosphorus efficiency in soybean, sunflower and maize. *J. Plant Nutr.* 32, 2027–2043. doi:10.1080/01904160903308135.
- Fita, A., Nuez, F., and Picó, B. (2011). Diversity in root architecture and response to P deficiency in seedlings of *Cucumis melo* L. *Euphytica* 181, 323–339. doi:10.1007/s10681-011-0432-z.
- Frossard, E., Julien, P., and Neyroud, J.-A. (2004). Le phosphore dans les sols. État de la situation en Suisse. *Cah. l'environnement n 368* 368, 180p.

- Fujita, K., Okada, M., Lei, K., Ito, J., Ohkura, K., Adu-Gyamfi, J. J., et al. (2003). Effect of P-deficiency on photoassimilate partitioning and rhythmic changes in fruit and stem diameter of tomato (*Lycopersicon esculentum*) during fruit growth. *J. Exp. Bot.* 54, 2519–2528. doi:10.1093/jxb/erg273.
- Gahoonia, T. S., and Nielsen, N. E. (2004). Barley genotypes with long root hairs sustain high grain yields in low-P field. *Plant Soil* 262, 55–62.
- Gallardo, M., Snyder, R. L., Schulbach, K., and Jackson, L. E. (1996). Crop growth and water use model for lettuce. *J. Irrig. Drain. Eng.* 122, 354–358. doi:10.1061/(asce)0733-9437(1996)122:6(354).
- Gallet, A., Flisch, R., Ryser, J. P., Frossard, E., and Sinaj, S. (2003). Effect of phosphate fertilization on crop yield and soil phosphorus status. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166, 568–578. doi:10.1002/jpln.200321081.
- Gamuyao, R., Chin, J. H., Pariasca-Tanaka, J., Pesaresi, P., Catausan, S., Dalid, C., et al., (2012). The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature* 488, 535–539. doi:10.1038/nature11346.
- Ganie, A. H., Ahmad, A., Pandey, R., Aref, I. M., Yousuf, P. Y., Ahmad, S., et al. (2015). Metabolite profiling of low-P tolerant and low-P sensitive maize genotypes under phosphorus starvation and restoration conditions. *PLoS One* 10, 1–25. doi:10.1371/journal.pone.0129520.
- Gay, F. (2002). These - Elaboration d'une methode d'evaluation des risques de pollution nitrique et de pertes de rendement en parcelles agricoles. 240 p.
- Ge, Z., Rubio, G., and Lynch, J. P. (2000). The importance of root gravitropism for inter-root competition and phosphorus acquisition efficiency: Results from a geometric simulation model. *Plant Soil* 218, 159–171. doi:10.1023/a:1014987710937.
- Gemenet, D. C., Hash, C. T., Sanogo, M. D., Sy, O., Zangre, R. G., Leiser, W. L., et al., (2015). Phosphorus uptake and utilization efficiency in West African pearl millet inbred lines. *F. Crop. Res.* 171, 54–66. doi:10.1016/j.fcr.2014.11.001.
- Gerke, J. (2015). The acquisition of phosphate by higher plants: Effect of carboxylate release by the roots. A critical review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 178, 351–364. doi:10.1002/jpln.201400590.
- Golroudbary, S. R., El Wali, M., and Kraslawski, A. (2019). Environmental sustainability of phosphorus recycling from wastewater, manure and solid wastes. *Sci. Total Environ.* 672, 515–524. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.03.439.

- Gourley, C. J. P., Allan, D. L., and Russelle, M. P. (1994). Plant nutrient efficiency: A comparison of definitions and suggested improvement. *Plant Soil* 158, 29–37. doi:10.1007/BF00007914.
- Gu, R., Chen, F., Long, L., Cai, H., Liu, Z., Yang, J., *et al.*, (2016). Enhancing phosphorus uptake efficiency through QTL-based selection for root system architecture in maize. *J. Genet. Genomics* 43, 663–672. doi:10.1016/j.jgg.2016.11.002.
- Guo, C., Zhao, X., Liu, X., Zhang, L., Gu, J., Li, X., *et al.*, (2013). Function of wheat phosphate transporter gene TaPHT2;1 in Pi translocation and plant growth regulation under replete and limited Pi supply conditions. *Planta* 237, 1163–1178. doi:10.1007/s00425-012-1836-2.
- Haling, R. E., Brown, L. K., Bengough, A. G., Young, I. M., Hallett, P. D., White, P. J., *et al.*, (2013). Root hairs improve root penetration, root-soil contact, and phosphorus acquisition in soils of different strength. *J. Exp. Bot.* 64, 3711–3721. doi:10.1093/jxb/ert200.
- Hammond, J. P., Broadley, M. R., White, P. J., King, G. J., Bowen, H. C., Hayden, R., *et al.* (2009). Shoot yield drives phosphorus use efficiency in *Brassica oleracea* and correlates with root architecture traits. *J. Exp. Bot.* 60, 1953–1968. doi:10.1093/jxb/erp083.
- Hammond, J. P., and White, P. J. (2007). Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. *J. Exp. Bot.* 59, 93–109. doi:10.1093/jxb/erm221.
- Hammond, J. P., and White, P. J. (2011). Sugar signaling in root responses to low phosphorus availability. *Plant Physiol.* 156, 1033–1040. doi:10.1104/pp.111.175380.
- Hari-Gowthem, G., Kaur, S., Sekhon, B. S., Sharma, P., and Chhuneja, P. (2019). Genetic variation for phosphorus-use efficiency in diverse wheat germplasm. *J. Crop Improv.* 33, 536–550. doi:10.1080/15427528.2019.1627633.
- Hernández, G., Ramírez, M., Valdés-López, O., Tesfaye, M., Graham, M. A., Czechowski, T., *et al.* (2007). Phosphorus stress in common bean: Root transcript and metabolic responses. *Plant Physiol.* 144, 752–767. doi:10.1104/pp.107.096958.
- Heuer, S., Gaxiola, R., Schilling, R., Herrera-Estrella, L., López-Arredondo, D., Wissuwa, M., *et al.*, (2017). Improving phosphorus use efficiency: a complex trait with emerging opportunities. *Plant J.* 90, 868–885. doi:10.1111/tpj.13423.
- Heydari, M. M., Brook, R. M., and Jones, D. L. (2019). The role of phosphorus sources on root diameter, root length and root dry matter of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Plant Nutr.* 42, 1–15. doi:10.1080/01904167.2018.1509996.
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237 173–195, 2001 237, 173–195. doi:10.1023/A:1013351617532.

- Hinsinger, P., Jaillard, B., Le Cadre, É., and Plassard, C. (2007). Spéciation et biodisponibilité du phosphore dans la rhizosphère. *Oceanis* 33, 37–50.
- Ho, M. D., Rosas, J. C., Brown, K. M., and Lynch, J. P. (2005). Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Funct. Plant Biol.* 32, 737–748. doi:10.1071/FP05043.
- Honvault, N., Houben, D., Nobile, C., Firmin, S., Lambers, H., and Faucon, M. P. (2020). Tradeoffs among phosphorus-acquisition root traits of crop species for agroecological intensification. *Plant Soil*. doi:10.1007/s11104-020-04584-3.
- Hoque, M. M., Ajwa, H., Othman, M., Smith, R., and Cahn, M. (2010). Yield and postharvest quality of Lettuce in response to nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers. *HortScience* 45, 1539–1544. doi:10.21273/HORTSCI.45.10.1539.
- Iqbal, A., Gui, H., Zhang, H., Wang, X., Pang, N., Dong, Q., et al. (2019). Genotypic variation in cotton genotypes for phosphorus-use efficiency. *Agronomy* 9. doi:10.3390/agronomy9110689.
- Irfan, M., Abbas, M., Shah, J. A., Akram, M. A., Depar, N., and Memon, M. Y. (2019). Biomass and phosphorus accumulation, partitioning and remobilization during grain development in wheat under phosphorus deficiency. *Int. J. Agric. Biol.* 21, 351–358. doi:10.17957/IJAB/15.0901.
- Irfan, M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Bilal, H. M., Khan, W. ud D., and Rasheed, N. (2019). Differential performance of lowland rice cultivars for phosphorus uptake and utilization efficiency under hydroponic and soil conditions. *Int. J. Agric. Biol.* 21, 703–710. doi:10.17957/IJAB/15.0947.
- Jackson, L. E. (1995). Root architecture in cultivated and wild lettuce (*Lactuca* spp.). *Plant. Cell Environ.* 18, 885–894. doi:10.1111/j.1365-3040.1995.tb00597.x.
- Jenner, G. A., Longerich, H. P., Jackson, S. E., and Fryer, B. J. (1990). ICP-MS - A powerful tool for high-precision trace-element analysis in Earth sciences: Evidence from analysis of selected U.S.G.S. reference samples. *Chem. Geol.* 83, 133–148. doi:10.1016/0009-2541(90)90145-W.
- Jia, Y., Gray, V. M., and Straker, C. J. (2004). The Influence of rhizobium and arbuscular mycorrhizal fungi on nitrogen and phosphorus accumulation by *Vicia faba*. *Ann. Bot.* 94, 251–258. doi:10.1093/aob/mch135.
- Kerbiriou, P. J. (2014). *Physiology and genetics of root growth, resource capture and resource use efficiency in lettuce (Lactuca sativa L.)*. Available at: <http://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/313677>.

- Kerbiriou, P. J., Maliepaard, C. A., Stomph, T. J., Koper, M., Froissart, D., Roobeek, I., et al. (2016). Genetic control of water and nitrate capture and their use efficiency in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Front. Plant Sci.* 7, 1–14. doi:10.3389/fpls.2016.00343.
- Kerbiriou, P. J., Stomph, T. J., Van Der Putten, P. E. L., Lammerts Van Bueren, E. T., and Struik, P. C. (2013). Shoot growth, root growth and resource capture under limiting water and N supply for two cultivars of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Soil* 371, 281–297. doi:10.1007/s11104-013-1672-6.
- Kvakić, M., Pellerin, S., Ciais, P., Achat, D. L., Augusto, L., Denoroy, P., et al., (2018). Quantifying the limitation to world cereal production due to soil phosphorus status. *Global Biogeochem. Cycles* 32, 143–157. doi:10.1002/2017GB005754.
- Lambers, H., Shane, M. W., Cramer, M. D., Pearse, S. J., and Veneklaas, E. J. (2006). Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching morphological and physiological traits. *Ann. Bot.* 98, 693–713. doi:10.1093/aob/mcl114.
- Lecompte, F., Abro, M. A., and Nicot, P. C. (2013). Can plant sugars mediate the effect of nitrogen fertilization on lettuce susceptibility to two necrotrophic pathogens: *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*? *Plant Soil* 369, 387–401. doi:10.1007/s11104-012-1577-9.
- Lecompte, F., Goillon, C., Gard, B., Raynal, C., Vaud, E., Maisonneuve, B., et al., (2019). Limitation de l'usage des pesticides sur des cultures de laitue d'abri : bilan du projet DEPHY EXPE LILLA. *Innovations Agronomiques* 76, 35-50
- Lecompte, F., Ozier-Lafontaine, H., and Pagès, L. (2001). The relationships between static and dynamic variables in the description of root growth. Consequences for field interpretation of rooting variability. *Plant Soil* 236, 19–31. doi:10.1023/A:1011924529885.
- Lemaire, G., Jeuffroy, M. H., and Gastal, F. (2008). Diagnosis tool for plant and crop N status in vegetative stage. Theory and practices for crop N management. *Eur. J. Agron.* 28, 614–624. doi:10.1016/j.eja.2008.01.005.
- Li, Q., Li, X., Tang, B., and Gu, M. (2018b). Growth responses and root characteristics of lettuce grown in Aeroponics, Hydroponics, and Substrate Culture. *Horticulturae* 4. doi:10.3390/horticulturae4040035.
- Li, Y., Luo, an-cheng, Muhammad Jaffar, H., and Wei Xing-hua (2006). Effect of phosphorus deficiency on leaf photosynthesis and carbohydrates partitioning in two rice genotypes with contrasting low phosphorus susceptibility. 13, 283–290.
- Liao, H., Rubio, G., Yan, X., Cao, A., Brown, K. M., and Lynch, J. P. (2001). Effect of phosphorus availability on basal root shallowness in common bean. *Plant Soil* 232, 69–79. doi:10.1023/A:1010381919003.

- Liu, Y., Mi, G., Chen, F., Zhang, J., and Zhang, F. (2004). Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. *Plant Sci.* 167, 217–223. doi:10.1016/j.plantsci.2004.02.026.
- López-Arredondo, D. L., Leyva-González, M. A., González-Morales, S. I., López-Bucio, J., and Herrera-Estrella, L. (2014). Phosphate nutrition: Improving low-phosphate tolerance in crops. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65, 95–123. doi:10.1146/annurev-arplant-050213-035949.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., and Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 280–287. doi:10.1016/S1369-5266(03)00035-9.
- López-Bucio, J., Hernández-Abreu, E., Sánchez-Calderón, L., Nieto-Jacobo, M. F., Simpson, J., and Herrera-Estrella, L. (2002). Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiol.* 129, 244–256. doi:10.1104/pp.010934.
- Lynch, J., Läuchli, A., and Epstein, E. (1991). Vegetative growth of the common bean in response to phosphorus nutrition. *Crop Sci.* 31, 380. doi:10.2135/cropsci1991.0011183X003100020031x.
- Lynch, J. P. (2007). Roots of the second green revolution. *Aust. J. Bot.* 55, 493–512. doi:10.1071/BT06118.
- Lynch, J. P. (2011). Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: Tools for future crops. *Plant Physiol.* 156, 1041–1049. doi:10.1104/pp.111.175414.
- Lynch, J. P., and Brown, K. M. (2008). “Root strategies for phosphorus acquisition,” in *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*, eds. P. J. White and J. P. Hammond (Dordrecht: Springer Netherlands), 83–116. doi:10.1007/978-1-4020-8435-5_5.
- Lynch, J. P., Nielsen, K. L., Davis, R. D., and Jabllokow, A. G. (1997). SimRoot: Modelling and visualization of root systems. *Plant Soil* 188, 139–151. doi:10.1023/A:1004276724310.
- Ma, Z., Bielenberg, D. G., Brown, K. M., and Lynch, J. P. (2001). Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell Environ.* 24, 459–467. doi:10.1046/j.1365-3040.2001.00695.x.
- MacDonald, G. K., Bennett, E. M., Potter, P. A., and Ramankutty, N. (2011). Agronomic phosphorus imbalances across the world’s croplands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 3086–3091. doi:10.1073/pnas.1010808108.
- McDonald, G., Bovill, W., Taylor, J., and Wheeler, R. (2015). Responses to phosphorus among wheat genotypes. *Crop Pasture Sci.* 66, 430–444. doi:10.1071/CP14191.

- Manske, G. G. B., Ortiz-Monasterio, J. I., van Ginkel, M., González, R. M., Fischer, R. A., Rajaram, S., *et al.*, (2001). Importance of P uptake efficiency versus P utilization for wheat yield in acid and calcareous soils in Mexico. *Eur. J. Agron.* 14, 261–274.
- Marques, A. C. R., de Oliveira, L. B., Brunetto, G., da Silva Tavares, M., de Quadros, F. L. F., and Nicoloso, F. T. (2020). Interaction between growth strategies and phosphorus use efficiency in grasses from South America natural grasslands. *Rev. Ceres* 67, 062–069. doi:10.1590/0034-737X202067010009.
- Martins, B. N. M., Candian, J. S., de Lima, P. N., Corrêa, C. V., Gouveia, A. M. de S., da Silva, J. O., *et al.* (2017). Effect of phosphorus (P) doses on tomato seedlings production in poor nutrients substrates and its importance on fruit yield. *Aust. J. Crop Sci.* 11, 567–572. doi:10.21475/ajcs.17.11.05.p379.
- Miguel, M. A., Postma, J. A., and Lynch, J. P. (2015). Phene synergism between root hair length and basal root growth angle for phosphorus Acquisition. *Plant Physiol.* 167, 1430–1439. doi:10.1104/pp.15.00145.
- Minemba, D., Gleeson, D. B., Veneklaas, E., and Ryan, M. H. (2019). Variation in morphological and physiological root traits and organic acid exudation of three sweet potato (*Ipomoea batatas*) cultivars under seven phosphorus levels. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 256, 108572. doi:10.1016/j.scienta.2019.108572.
- Mollier, A., Denoroy, P., Morel, C., Mollier, A., Denoroy, P., Morel, C., *et al.*, (2019). Évaluation de la disponibilité et la gestion du phosphore dans les agrosystèmes : avancées scientifiques et techniques. *Agron. Environ. Sociétés, Assoc. Française d'Agronomie* 9, 87–98.
- Mollier, A., and Pellerin, S. (1999). Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. *J. Exp. Bot.* 50, 487–497. doi:10.1093/jxb/50.333.487.
- Moreau, D., Abiven, F., Busset, H., Matejicek, A., and Pagès, L. (2017). Effects of species and soil-nitrogen availability on root system architecture traits – study on a set of weed and crop species. *Ann. Appl. Biol.* 171, 103–116. doi:10.1111/aab.12355.
- Morel, C., Butler, F., Castillon, P., Champolivier, L., Denoroy, P., Duval, R., *et al.*, (2011). Gestion à long terme de la dynamique du phosphore dans les sols cultivés. COMIFER-GEMAS, Reims, 23-24 novembre 2011.
- Mori, A., Fukuda, T., Vejchasarn, P., Nestler, J., Pariasca-Tanaka, J., and Wissuwa, M. (2016). The role of root size versus root efficiency in phosphorus acquisition in rice. *J. Exp. Bot.* 67, 1179–1189. doi:10.1093/jxb/erv557.
- Nacry, P., Canivenc, G., Muller, B., Azmi, A., Van Onckelen, H., Rossignol, M., *et al.*, (2005). A role for auxin redistribution in the responses of the root system architecture to phosphate starvation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 138, 2061–2074. doi:10.1104/pp.105.060061.

- Nagata, R. T., Sanchez, C. A., and Coale, F. J. (1992). Crisphead lettuce cultivar response to fertilizer phosphorus. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 117, 721–724.
- Neocleous, D., and Savvas, D. (2019). The effects of phosphorus supply limitation on photosynthesis, biomass production, nutritional quality, and mineral nutrition in lettuce grown in a recirculating nutrient solution. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 252, 379–387. doi:10.1016/j.scienta.2019.04.007.
- Neto, A. P., Favarin, J. L., Hammond, J. P., Tezotto, T., and Couto, H. T. Z. (2016). Analysis of phosphorus use efficiency traits in *Coffea* genotypes reveals *Coffea arabica* and *Coffea canephora* have contrasting phosphorus uptake and utilization efficiencies. *Front. Plant Sci.* 7, 1–10. doi:10.3389/fpls.2016.00408.
- Nielsen, K. L., Eshel, A., and Lynch, J. P. (2001). The effect of phosphorus availability on the carbon economy of contrasting common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *J. Exp. Bot.* 52, 329–339. doi:10.1093/jexbot/52.355.329.
- Niu, Y. F., Chai, R. S., Jin, G. L., Wang, H., Tang, C. X., and Zhang, Y. S. (2013). Responses of root architecture development to low phosphorus availability: A review. *Ann. Bot.* 112, 391–408. doi:10.1093/aob/mcs285.
- Nyiraneza, J., Bélanger, G., Benjannet, R., Ziadi, N., Cambouris, A., Fuller, K., *et al.*, (2021). Critical phosphorus dilution curve and the phosphorus-nitrogen relationship in potato. *Eur. J. Agron.* 123. doi:10.1016/j.eja.2020.126205.
- Ochoa, I. E., Blair, M. W., and Lynch, J. P. (2006). QTL analysis of adventitious root formation in common bean under contrasting phosphorus availability. *Crop Sci.* 46, 1609–1621. doi:10.2135/cropsci2005.12-0446.
- Pagès, L. (2011). Links between root developmental traits and foraging performance. *Plant. Cell Environ.* 34, 1749–1760. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02371.x.
- Pagès, L. (2014). Branching patterns of root systems: Quantitative analysis of the diversity among dicotyledonous species. *Ann. Bot.* 114, 591–598. doi:10.1093/aob/mcu145.
- Pagès, L., Bécel, C., Boukcim, H., Moreau, D., Nguyen, C., and Voisin, A. S. (2014). Calibration and evaluation of ArchiSimple, a simple model of root system architecture. *Ecol. Modell.* 290, 76–84. doi:10.1016/j.ecolmodel.2013.11.014.
- Pagès, L., Jordan, M. O., and Picard, D. (1989). A simulation model of the three-dimensional architecture of the maize root system. *Plant Soil* 119, 147–154. doi:10.1007/BF02370279.
- Pagès, L., and Kervella, J. (2018). Seeking stable traits to characterize the root system architecture. Study on 60 species located at two sites in natura. *Ann. Bot.* 122, 107–115. doi:10.1093/aob/mcy061.

- Pagès, L., and Picon-Cochard, C. (2014). Modelling the root system architecture of Poaceae. Can we simulate integrated traits from morphological parameters of growth and branching? *New Phytol.* 204, 149–158. doi:10.1111/nph.12904.
- Pan, X. wen, LI, W. bin, ZHANG, Q. ying, LI, Y. hua, and LIU, M. shan (2008). Assessment on phosphorus efficiency characteristics of soybean genotypes in phosphorus-deficient soils. *Agric. Sci. China* 7, 958–969. doi:10.1016/S1671-2927(08)60135-2.
- Pang, J., Zhao, H., Bansal, R., Bohuon, E., Lambers, H., Ryan, M. H., et al. (2018). Leaf transpiration plays a role in phosphorus acquisition among a large set of chickpea genotypes. *Plant Cell Environ.* 41, 2069–2079. doi:10.1111/pce.13139.
- Parentoni, S. N., and De Souza Júnior, C. L. (2008). Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 43, 893–901. doi:10.1590/S0100-204X2008000700014.
- Pellerin, S., and Nesme, T. (2012). La maîtrise de la fertilité phosphatée: du raisonnement de la fertilisation à la gestion durable d’une ressource qui se raréfie. *Innov. Agron.* 21, 71–83.
- Péret, B., Clément, M., Nussaume, L., and Desnos, T. (2011). Root developmental adaptation to phosphate starvation: Better safe than sorry. *Trends Plant Sci.* 16, 442–450. doi:10.1016/j.tplants.2011.05.006.
- Péret, B., Desnos, T., Jost, R., Kanno, S., Berkowitz, O., and Nussaume, L. (2014). Root architecture responses: In search of phosphate. *Plant Physiol.* 166, 1713–1723. doi:10.1104/pp.114.244541.
- Plénet, D., Etchebest, S., Mollier, A., and Pellerin, S. (2000). Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency: I. Leaf growth. *Plant Soil* 223, 117–130. doi:10.1023/A:1004877111238.
- Postma, J. A., Jülich, F., Postma, J. A., Jülich, F., and Black, C. K. (2021). Advances in root architectural modeling. Chapter taken from: Gregory, P. (ed.), Understanding and improving crop root function. Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK. 29p.
- Postma, J. A., Kuppe, C., Owen, M. R., Mellor, N., Griffiths, M., Bennett, M. J., et al., (2017). OpenSimRoot: widening the scope and application of root architectural models. *New Phytol.* 215, 1274–1286. doi:10.1111/nph.14641.
- Postma, J. A., and Lynch, J. P. (2012). Complementarity in root architecture for nutrient uptake in ancient maize/bean and maize/bean/squash polycultures. *Ann. Bot.* 110, 521–534. doi:10.1093/aob/mcs082.
- Ramaekers, L., Remans, R., Rao, I. M., Blair, M. W., and Vanderleyden, J. (2010). Strategies for improving phosphorus acquisition efficiency of crop plants. *F. Crop. Res.* 117, 169–176. doi:10.1016/j.fcr.2010.03.001.

- Rausch, C., and Bucher, M. (2002). Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta* 216, 23–37. doi:10.1007/s00425-002-0921-3.
- Raut, P. (2017). Determining a critical phosphorus dilution curve for spring wheat. doi:10.13140/RG.2.2.24469.73443.
- Reddy, V. R. P., Aski Muraleedhar S., Mishra, G. P., Dikshit, H. K., Singh Akanksha, Pandey, R., *et al.*, (2020). Genetic variation for root architectural traits in response to phosphorus deficiency in mungbean at the seedling stage. *PLoS One* 15, e0221008. doi:10.1371/journal.pone.0221008.
- Reddy, V. R. P., Dikshit, H. K., Mishra, G. P., Aski, M., and Pandey, R. (2020). Unravelling the phosphorus use efficiency associated traits in mungbean (*Vigna radiata* L.) under low phosphorus condition. *Indian J. Genet.*, 80(4) 412-418. doi:10.31742/IJGPB.80.4.6.
- Reidinger, S., Ramsey, M. H., and Hartley, S. E. (2012). Rapid and accurate analyses of silicon and phosphorus in plants using a portable X-ray fluorescence spectrometer. *New Phytol.* 195, 699–706. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04179.x.
- Reymond, M., Svistoonoff, S., Loudet, O., Nussaume, L., and Desnos, T. (2006). Identification of QTL controlling root growth response to phosphate starvation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell Environ.* 29, 115–125. doi:10.1111/j.1365-3040.2005.01405.x.
- Richardson, A. E., and Simpson, R. J. (2011). Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiol.* 156, 989–996. doi:10.1104/pp.111.175448.
- Rodríguez, D., Keltjens, W. G., and Goudriaan, J. (1998). Plant leaf area expansion and assimilate production in wheat (*Triticum aestivum* L.) growing under low phosphorus conditions. *Plant Soil* 200, 227–240. doi:10.1023/A:1004310217694.
- Rose, T. J., Rose, M. T., Pariasca-Tanaka, J., Heuer, S., and Wissuwa, M. (2011). The frustration with utilization: Why have improvements in internal phosphorus utilization efficiency in crops remained so elusive? *Front. Plant Sci.* 2, 1–5. doi:10.3389/fpls.2011.00073.
- Rose, T. J., and Wissuwa, M. (2012). Rethinking internal phosphorus utilization efficiency. A new approach is needed to improve PUE in grain crops. 1st ed. Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-394277-7.00005-1.
- Rubæk, G. H., Kristensen, K., Olesen, S. E., Østergaard, H. S., and Heckrath, G. (2013). Phosphorus accumulation and spatial distribution in agricultural soils in Denmark. *Geoderma* 209–210, 241–250. doi:10.1016/j.geoderma.2013.06.022.

- Saleh, S. A., Glala, A. A., Ezzo, M. I., and Ghoname, A. A. (2010). An attempt for reducing mineral fertilization in lettuce production by using bio-organic farming system. *Acta Hort.* 852, 311–318. doi:10.17660/ActaHortic.2010.852.39.
- Salinier, J., Daunay, M., Talmot, V., Lecarpentier, C., Pagès, L., Bardel, A., et al. (2019). Root Architectural Trait Diversity in Aubergine (*Solanum melongena* L.) and related species and correlations with plant biomass. *Crop Breeding, Genet. Genomics*, 1–23. doi:10.20900/cbgg20190011.
- Samadder, M., Nath, U., and Malek, M. (2018). Journal of agricultural science and genetic study for selection and characterization of phosphorus efficient soybean genotypes. *J Agri Sci Food Res* 9.
- Sandaña, P. (2016). Phosphorus uptake and utilization efficiency in response to potato genotype and phosphorus availability. *Eur. J. Agron.* 76, 95–106. doi:10.1016/j.eja.2016.02.003.
- Sarker, B., and Karmoker, J. . (2009). Effects of phosphorus deficiency on the root growth of lentil seedlings (*Lens culinaris* medik) grown in rhizobox. *Bangladesh J. Bot.* 38(2): 215–218.
- Sattari, S. Z., Bouwman, A. F., Martinez Rodríguez, R., Beusen, A. H. W., and Van Ittersum, M. K. (2016). Negative global phosphorus budgets challenge sustainable intensification of grasslands. *Nat. Commun.* 7. doi:10.1038/ncomms10696.
- Schachtman, D. P., Reid, R. J., and Ayling, S. M. (1998). Phosphorus uptake by plants: From soil to cell. *Plant Physiol.* 116, 447–453. doi:10.1104/pp.116.2.447.
- Senthilkumar, K., Nesme, T., Mollier, A., and Pellerin, S. (2012). Conceptual design and quantification of phosphorus flows and balances at the country scale: The case of France. *Global Biogeochem. Cycles* 26. doi:10.1029/2011GB004102.
- Shabnam, R., Tarek, M. H., and Iqbal, M. T. (2018). Understanding phosphorus dynamics in wheat plant and growth response in a split-root system in acidic soil. *Agric. Nat. Resour.* 52, 259–265. doi:10.1016/j.anres.2018.09.006.
- Sharpley, A. N., McDowell, R. W., and Kleinman, P. J. A. (2001). Phosphorus loss from land to water: Integrating agricultural and environmental management. *Plant Soil* 237, 287–307. doi:10.1023/A:1013335814593.
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., et al. (2011). Phosphorus dynamics: From soil to plant. *Plant Physiol.* 156, 997–1005. doi:10.1104/pp.111.175232.
- Smethurst, P. J. (2000). Soil solution and other soil analyses as indicators of nutrient supply: A review. *For. Ecol. Manage.* 138, 397–411. doi:10.1016/S0378-1127(00)00426-6.
- Soratto, R. P., Sandaña, P., Fernandes, A. M., Martins, J. D. L., and Job, A. L. G. (2020). Testing critical phosphorus dilution curves for potato cropped in tropical Oxisols of southeastern

- Brazil. *Eur. J. Agron.* 115, 126020. doi:10.1016/j.eja.2020.126020.
- Steingrobe, B. (2001). Root renewal of sugar beet as a mechanism of P uptake efficiency. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164, 533–539.
- Steingrobe, B., Schmid, H., and Claassen, N. (2001). Root production and root mortality of winter barley and its implication with regard to phosphate acquisition. *Plant Soil* 237, 239–248. doi:10.1023/A:1013345718414.
- Sun, B., Gao, Y., and Lynch, J. P. (2018). Large crown root number improves topsoil foraging and phosphorus acquisition. *Plant Physiol.* 177, 90–104. doi:10.1104/pp.18.00234.
- Thuynsma, R., Kleinert, A., Kossmann, J., Valentine, A. J., and Hills, P. N. (2016). The effects of limiting phosphate on photosynthesis and growth of *Lotus japonicus*. *South African J. Bot.* 104, 244–248. doi:10.1016/j.sajb.2016.03.001.
- Tiziani, R., Pii, Y., Celletti, S., Cesco, S., and Mimmo, T. (2020). Phosphorus deficiency changes carbon isotope fractionation and triggers exudate reacquisition in tomato plants. *Sci. Rep.* 10, 1–12. doi:10.1038/s41598-020-72904-9.
- Van de Wiel, C. C. M., van der Linden, C. G., and Scholten, O. E. (2016). Improving phosphorus use efficiency in agriculture: opportunities for breeding. *Euphytica* 207, 1–22. doi:10.1007/s10681-015-1572-3.
- Vance, C. P., Uhde-Stone, C., and Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol.* 157, 423–447. doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x.
- Vejchasarn, P., Lynch, J. P., and Brown, K. M. (2016). Genetic variability in phosphorus responses of rice root phenotypes. *Rice* 9. doi:10.1186/s12284-016-0102-9.
- Veneklaas, E. J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P. M., Lovelock, C. E., Plaxton, W. C., et al. (2012). Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New Phytol.* 195, 306–320. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04190.x.
- Wacker-Fester, K., Uptmoor, R., Pfahler, V., Dehmer, K. J., Bachmann-Pfabe, S., and Kavka, M. (2019). Genotype-specific differences in phosphorus efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Front. Plant Sci.* 10, 1–14. doi:10.3389/fpls.2019.01029.
- Walk, T. C., Jaramillo, R., and Lynch, J. P. (2006). Architectural tradeoffs between adventitious and basal roots for phosphorus acquisition. *Plant Soil* 279, 347–366. doi:10.1007/s11104-005-0389-6.
- Wang, X., Shen, J., and Liao, H. (2010). Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops? *Plant Sci.* 179, 302–306. doi:10.1016/j.plantsci.2010.06.007.

- Wang, X., Yi, K., Tao, Y., Wang, F., Wu, Z., Jiang, D., et al. (2006). Cytokinin represses phosphate-starvation response through increasing of intracellular phosphate level. *Plant, Cell Environ.* 29, 1924–1935. doi:10.1111/j.1365-3040.2006.01568.x.
- Wang, Y.-L., Almvik, M., Clarke, N., Eich-Greatorex, S., Øgaard, A. F., Krogstad, T., et al. (2015). Contrasting responses of root morphology and root-exuded organic acids to low phosphorus availability in three important food crops with divergent root traits. *AoB Plants* 7, plv097. doi:10.1093/aobpla/plv097.
- Wen, Z., Li, H., Shen, Q., Tang, X., Xiong, C., Li, H., et al. (2019). Tradeoffs among root morphology, exudation and mycorrhizal symbioses for phosphorus-acquisition strategies of 16 crop species. *New Phytol.* 223, 882–895. doi:10.1111/nph.15833.
- Williams, R. F. (1948). The effects of phosphorus supply on the rates of intake of phosphorus and nitrogen and upon certain aspects of phosphorus metabolism in gramineous plants. *Aust. J. Biol. Sci.* 1, 333–361. doi:10.1071/BI9480333.
- Williamson, L. C., Ribrioux, S. P. C. P., Fitter, A. H., and Leyser, H. M. O. (2001). Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126, 875–882. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC111176/>.
- Wissuwa, M., and Ae, N. (2001). Genotypic variation for tolerance to phosphorus deficiency in rice and the potential for its exploitation in rice improvement. *Plant Breed.* 120, 43–48. doi:10.1046/j.1439-0523.2001.00561.x.
- Wissuwa, M., Gamat, G., and Ismail, A. M. (2005). Is root growth under phosphorus deficiency affected by source or sink limitations? *J. Exp. Bot.* 56, 1943–1950. doi:10.1093/jxb/eri189.
- Wu, P., Shou, H., Xu, G., and Lian, X. (2013). Improvement of phosphorus efficiency in rice on the basis of understanding phosphate signaling and homeostasis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16, 205–212. doi:10.1016/j.pbi.2013.03.002.
- Wu, Q., Pagès, L., and Wu, J. (2016). Relationships between root diameter, root length and root branching along lateral roots in adult, field-grown maize. *Ann. Bot.* 117, 379–390. doi:10.1093/aob/mcv185.
- Wuenschel, R., Unterfrauner, H., Peticzka, R., and Zehetner, F. (2015). A comparison of 14 soil phosphorus extraction methods applied to 50 agricultural soils from Central Europe. *Plant, Soil Environ.* 61, 86–96. doi:10.17221/932/2014-PSE.
- Yan, X., Liao, H., Beebe, S. E., Blair, M. W., and Lynch, J. P. (2004). QTL mapping of root hair and acid exudation traits and their relationship to phosphorus uptake in common bean. *Plant Soil* 265, 17–29. doi:10.1007/s11104-005-0693-1.
- Yang, S. Y., Huang, T. K., Kuo, H. F., and Chiou, T. J. (2017). Role of vacuoles in phosphorus storage and remobilization. *J. Exp. Bot.* 68, 3045–3055. doi:10.1093/jxb/erw481.

- Yaseen, M., and Malhi, S. S. (2009). Differential growth response of wheat genotypes to ammonium phosphate and rock phosphate phosphorus sources. *J. Plant Nutr.* 32, 410–432. doi:10.1080/01904160802660735.
- Zebrowska, E., Milewska, M., and Ciereszko, I. (2017). Mechanisms of oat (*Avena sativa* L.) acclimation to phosphate deficiency. *PeerJ* 2017, 1–29. doi:10.7717/peerj.3989.
- Zhang, F. Z., Wagstaff, C., Rae, A. M., Sihota, A. K., Keevil, C. W., Rothwell, S. D., *et al.*, (2007). QTLs for shelf life in lettuce co-locate with those for leaf biophysical properties but not with those for leaf developmental traits. *J. Exp. Bot.* 58, 1433–1449. doi:10.1093/jxb/erm006.
- Zhang, H., Huang, Y., Ye, X., Shi, L., and Xu, F. (2009). Genotypic differences in phosphorus acquisition and the rhizosphere properties of *Brassica napus* in response to low phosphorus stress. *Plant Soil* 320, 91–102. doi:10.1007/s11104-008-9873-0.
- Zhou, K., Yamagishi, M., Osaki, M., and Masuda, K. (2008). Sugar signalling mediates cluster root formation and phosphorus starvation-induced gene expression in white lupin. *J. Exp. Bot.* 59, 2749–2756. doi:10.1093/jxb/ern130.
- Zhou, T., Du, Y., Ahmed, S., Liu, T., Ren, M., Liu, W., *et al.*, (2016). Genotypic differences in phosphorus efficiency and the performance of physiological characteristics in response to low phosphorus stress of soybean in Southwest of China. *Front. Plant Sci.* 7. doi:10.3389/fpls.2016.01776.
- Zhu, J., and Lynch, J. P. (2004). The contribution of lateral rooting to phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays*) seedlings. *Funct. Plant Biol.* 31, 949–958. doi:10.1071/FP04046.
- Ziadi, N., Bélanger, G., Cambouris, A. N., Tremblay, N., Nolin, M. C., and Claessens, A. (2008). Relationship between phosphorus and nitrogen concentrations in spring wheat. *J.* 100, 470. doi:10.2134/agronj2007.0119er.

Annexes



Genetic Variation in Root Architectural Traits in *Lactuca* and Their Roles in Increasing Phosphorus-Use-Efficiency in Response to Low Phosphorus Availability

OPEN ACCESS

Amira Beroueg^{1*}, François Lecompte¹, Alain Mollier² and Loïc Pagès¹

Edited by:

Stefano Cesco,
Free University of Bozen-Bolzano, Italy

Reviewed by:

Agostino Sorgona,
Mediterranea University of Reggio
Calabria, Italy
Antonio Lupini,
Mediterranea University of Reggio
Calabria, Italy
Youry Pii,
Free University of Bozen-Bolzano, Italy

*Correspondence:

Amira Beroueg
amira.beroueg@inrae.fr

Specialty section:

This article was submitted to
Plant Nutrition,
a section of the journal
Frontiers in Plant Science

Received: 25 January 2021

Accepted: 29 March 2021

Published: 03 May 2021

Citation:

Beroueg A, Lecompte F, Mollier A
and Pagès L (2021) Genetic Variation
in Root Architectural Traits in *Lactuca*
and Their Roles in Increasing
Phosphorus-Use-Efficiency
in Response to Low Phosphorus
Availability.
Front. Plant Sci. 12:658321.
doi: 10.3389/fpls.2021.658321

¹ PSH Unit, INRAE, F-84914, Avignon, France, ² ISPA Unit, Bordeaux Sciences Agro, INRAE, Villenave d'Ornon, France

Low phosphorus (P) bioavailability in the soil and concerns over global P reserves have emphasized the need to cultivate plants that acquire and use P efficiently. Root architecture adaptation to low P can be variable depending on species or even genotypes. To assess the genetic variability of root architectural traits and their responses to low P in the *Lactuca* genus, we examined fourteen genotypes including wild species, ancient and commercial lettuce cultivars at low (LP, 0.1 mmol. L⁻¹) and high P (HP, 1 mmol. L⁻¹). Plants were grown in cylindrical pots adapted for the excavation and observation of root systems, with an inert substrate. We identified substantial genetic variation in all the investigated root traits, as well as an effect of P availability on these traits, except on the diameter of thinner roots. At low P, the main responses were a decrease in taproot diameter, an increase in taproot dominance over its laterals and an increase in the inter-branch distance. Although the genotype x P treatment effect was limited to root depth, we identified a tradeoff between the capacity to maintain a thick taproot at low P and the dominance of the taproot over its laterals. Regardless of the P level, the phosphorus-use-efficiency (PUE) varied among lettuce genotypes and was significantly correlated with total root biomass regardless of the P level. As taproot depth and maximum apical diameter were the principal determinants of total root biomass, the relative increase in PUE at low P was observed in genotypes that showed the thickest apical diameters and/or those whose maximal apical diameter was not severely decreased at low P availability. This pre-eminence of the taproot in the adaptation of *Lactuca* genotypes to low P contrasts with other species which rely more on lateral roots to adapt to P stress.

Keywords: *Lactuca*, phosphorus, Root architectural traits, phosphorus-use-efficiency, maximum apical diameter, root biomass, genotypes variations

INTRODUCTION

Phosphorus (P) is an important plant macronutrient and a component in various molecules such as ATP, nucleic acid, phospholipids and phosphoproteins. Phosphorus also plays an important role in an array of processes, including photosynthesis, energy generation, enzyme activation and inactivation (Vance et al., 2003). Plants absorb P through their roots mainly as orthophosphate ions H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} , which can be tightly adsorbed into soil particles, form insoluble complexes with cations, and have poor mobility in the soil solution (Shen et al., 2011). As a consequence, P availability can be limited, which leads to the use of high amounts of mineral P fertilizers by farmers to overcome this limitation and sustain high crop yields. However, P fertilizer recovery is usually low, and an excess of P application following runoff or erosion can foster environmental damage such as water eutrophication (Shen et al., 2011; Sattari et al., 2016). Moreover, P fertilizers mostly derived from phosphate rocks and P is considered a non-renewable resource whose global reserve may be depleted in the future (Cordell et al., 2009). A more careful exploitation of P is required and one strategy is to increase P efficiency and recovery using plants, including varieties that are able to produce high yields with low P availability (Singh Gahoonia and Nielsen, 2004; Hammond et al., 2009; van de Wiel et al., 2016). Lettuce, *Lactuca sativa* L., is an important leafy vegetable, that is primarily consumed fresh in salads. As a cash crop that requires intensive labor at planting and harvest, lettuce is mostly cultivated in conventional systems that maximize yield and quality by supplying abundant water and nutrients, including P (Gallardo et al., 1996; Hoque et al., 2010; Kerbiriou et al., 2013). Phosphorus-use-efficiency (PUE) is generally defined as the amount of biomass or yield per unit of applied P (g dry mass/g applied P). PUE can be separated into the product of uptake efficiency (PU_pE) (g P/g applied P) and utilization efficiency (PU_tE) (g dry mass/g P). PU_pE is based on the ratio of P uptake in plants to the amount of P applied, and PU_tE represents the production of plant biomass per unit P accumulated in the plant (Gourley et al., 1994).

The intensity of plant responses to low P availability varies among and within species (Abdolzadeh et al., 2010; Balemi, 2010; Rose and Wissuwa, 2012). Intraspecific variations of PUE and its components have been observed in many species such as rice (Vejchasarn et al., 2016), wheat (Bilal et al., 2018), barley (Wang et al., 2015), maize (Parentoni and De Souza Júnior, 2008), potato (Wacker-Fester et al., 2019) and the common bean (da Silva et al., 2014). A common pattern is an increase in PUE and its components (PU_pE and PU_tE) under P deficiency, which is made possible by several adaptive mechanisms. Plants can adapt to low P via several physiological mechanisms, and higher exudation of organic acids and enzymes, such as phosphatases and phytases, is commonly observed to facilitate the solubilization of P complexes and organic P in the rhizosphere (Balemi and Negisho, 2012; Minemba et al., 2019).

Plants can also improve P uptake through symbiotic associations with mycorrhizal fungi, whose hyphae increase the soil volume that can be explored (Campos et al., 2018). Plants may also improve P utilization by recycling internal P,

remobilizing P from mature to young developing organs and reprioritizing metabolic P utilization in plants (Veneklaas et al., 2012; Irfan et al., 2020).

In response to low P, plants also adapt their function, such as carbon assimilation and allocation. A common feature is the increase in the root/shoot ratio under P deficiency and then an increased allocation of carbohydrates to the root system (Zhou et al., 2016; De Souza Campos et al., 2019). For example, tomato plants are able to recapture the carbon lost from root exudates, such as citrate and malate, to increase the translocation of carbon to shoots (Tiziani et al., 2020).

Plants with larger root systems have access to a greater soil volume and may recover more P (Lynch and Brown, 2008). Increased P acquisition can also be achieved by altering root morphology and architecture. The root system architecture, as the length, direction and spatial distribution of roots, is highly plastic and varies according to the genotype and environmental conditions (Lynch and Brown, 2008).

In many soils, P tends to be more available in the topsoil; therefore, in cases of P deficiency plants prefer a shallow root system that grows outward rather than downward. This “topsoil foraging” strategy is well observed in common bean (Ramaekers et al., 2010). The architectural traits associated with this topsoil exploration are the growth angle of basal roots, the dispersion of basal root lateral branching and the production of adventitious roots (Bonser et al., 1996; Lynch, 2007; Niu et al., 2013). Another widespread adaptation to low P is the modification of root hair length and density (Gahoonia and Nielsen, 1998; Brown et al., 2012).

In *Arabidopsis*, low P availability induced a highly branched root system with reduced primary root growth (López-Bucio et al., 2003). In lentils, P deficiency caused a significant increase in total root length and lateral root number (Sarker and Karmoker, 2009). However, such responses are not universal and the lateral root density has been shown to decrease under low P availability in several plant species such as rice (Vejchasarn et al., 2016) and the common bean (Borch et al., 1999). Such apparent discrepancies among root trait responses to low P could be explained by the phenotyping method, the intensity of P stress and other environmental conditions and/or the genetic material used.

Global, cumulative, or average root traits, such as total root length, root number, or average diameter, are not well suited to study the developmental path by which a plant adapts to nutrient deficiency. In addition, complex variables, such as specific root length, which aggregates information on the length, diameter, and density of a root, are also parameters not easy to interpret. Traits directly related to developmental processes should preferably be registered. If contrasting root architectural responses can be observed between different genera, less information is available regarding intraspecific or intragenus variability. In lettuce, although data on PUE are available (Buso and Bliss, 1988; Neocleous and Savvas, 2019), information on genetic variability is scarce, and to our knowledge, no information has been published regarding the plasticity of lettuce root system architecture in response to P nutrition and its impact on P acquisition.

This study aimed to characterize the intragenus variability of root system adaptation to variable P availability in *Lactuca*. We examined a panel of 14 *Lactuca* genotypes belonging to old and modern cultivars as well as wild-associated species. Traits reflecting the developmental process of the root system, including root elongation, root diameter and branching density, were observed. Six root traits were considered, and Pagès and Kervella (2018) indicated that they summarize the essential root architecture traits connected to the exploration and exploitation capacities of the root system.

The specific aims of this work were to (1) assess the genetic variability of root trait architecture under low- and high-P conditions, (2) investigate the range of plasticity of each trait and (3) evaluate their contribution to the PUE and its components.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material

Fourteen *Lactuca* genotypes were selected to represent diverse geographic origins and aerial phenotypes, which will likely present variability in the root system architecture. Wild species and ancient and modern genotypes of different lettuce types were selected (Table 1).

Experimental Design

The experiment was carried out under a plastic tunnel at the national research institute for agriculture, food and the environment (INRAE) in Avignon, France, from October to November 2018. Seeds were sown in a rock wool cell placed in a growth chamber at 20/17°C day/night and 85% relative humidity. Ten days after seeding, uniform plantlets were transplanted in the tunnel into cylindrical PVC tubes (1 m in height and 10 cm diameter) in a grid that allowed drainage at the bottom. The substrate was a P-inert 1:1(V/V) mixture of vermiculite and river sand. A total of 84 tubes, each containing one plant, were set

up, thus corresponding to three biological replications for each variety and two P treatments.

Water and fertilizers were supplied using a drip system controlled by a programmer. The substrate water content was controlled using soil moisture sensors (EC-5 Decagon, three per block placed in randomly selected tubes) and maintained close to field capacity throughout the experiment.

During the first week, all the plants were fertirrigated with a nutrient solution at a low P concentration (0.1 mmol. L⁻¹ of P supplied with KH₂PO₄⁻). After 1 week, the P-treatments started with half of the tubes supplied with a low P nutrient solution (LP, 0.1 mmol. L⁻¹ of KH₂PO₄⁻) and the other half with a high P nutrient solution (HP, 1 mmol. L⁻¹ of KH₂PO₄⁻).

In LP, KNO₃, NH₄NO₃, and KH₂PO₄ concentrations of 10.9 mmol. L⁻¹, 0.1 mmol. L⁻¹ and 0.1 mmol. L⁻¹ were applied, respectively, and in the HP treatment, KNO₃, NH₄NO₃ and KH₂PO₄ concentrations of 10 mmol. L⁻¹, 1 mmol. L⁻¹, and 1 mmol. L⁻¹ were applied, respectively. The slight increase in the NH₄⁺ concentration under HP should not have affected plant development and only had a marginal impact on solution Ec; NO₃⁻-N was not limiting at a concentration of 11 mmol.L⁻¹ in both treatments (Lecompte et al., 2013), and the NO₃⁻/NH₄⁺ ratio of 110 and 11 in the LP and HP treatments, respectively, was well above the levels at which the plant might show sensitivity to NH₄⁺ as a source of N. Other macronutrients were kept constant in the two nutrients solutions, i.e., 3.5 Mg²⁺; 3.25 Ca²⁺ and 2.5 SO₄²⁻ (in mmol. L⁻¹), and micronutrients were also kept constant, i.e., 0.5 B, 0.02 Cu²⁺, 8.2 Fe²⁺, 0.5 Mn²⁺, 0.01 MoO₄²⁻ and 0.1 Zn²⁺ (in μmol. L⁻¹).

Plants were grown for 3 weeks with these different nutrient solutions. All the plants, regardless of the genotype and P treatment, received the same amount of water required to maintain substrate water content during growth. Thus, total P supply was the product of P concentration in the nutrient solutions by the amount of irrigation water, and at harvest, the plants had received 43 mg and 4.3 mg of P in the HP and LP treatments, respectively.

Root Extraction

At the end of the third week after the onset of P treatments, the taproot had almost reached the bottom of the tube and the plants were harvested. Each plant was carefully removed, first by submerging the tube in water-filled containers and then by gently tapping the tube, which was held at a 45° angle. The roots were separated from the substrate by washing above a sieve to prevent fine root loss. The nature of the substrate made it possible to separate the root system without causing damage. The aerial part of the plants was separated from the root systems and then weighed. Root and shoot sub-samples were dried in an oven at 75°C during 72 h to calculate their dry mass.

Root Sampling and Scanning

Lettuce and wild-associated species have a root system organized around a taproot that grows downward. At harvest, older lateral roots may reach similar diameters and lengths to those of the taproot. Two regions of the root system were sampled to assess the different root traits (Figure 1): the lower part of the

TABLE 1 | Species, type, genotype name and origin of the lettuce used in this study.

No.	species	Type	Name of cultivar	Origin
1	<i>L. serriola</i>	Wild	LS367	Public domain
2	<i>L. saligna</i>	Wild	CR17	Public domain
3	<i>L. sativa</i>	Wild	PI251245	Public domain
4	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Nenufar	Seed company (Vilmorin)
5	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Bourguignonne	Public domain
6	<i>L. sativa</i>	Loose-leaf	Kilervi	Seed company (Rijk Zwaan)
7	<i>L. sativa</i>	Loose-leaf	Feuille de chêne blonde	Public domain
8	<i>L. sativa</i>	Romaine	Blonde lente à monter	Public domain
9	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Green Mignonette	Public domain
10	<i>L. sativa</i>	Crisphead	De Pierre Bénite	Public domain
11	<i>L. sativa</i>	Crisphead	Ferega	Seed company (Enza Zaden)
12	<i>L. sativa</i>	Butterhead	Joviale	Seed company (Gautier)
13	<i>L. sativa</i>	Romaine	Socca	Seed company (Gautier)
14	<i>L. sativa</i>	Stem lettuce	Red Orient	Public domain

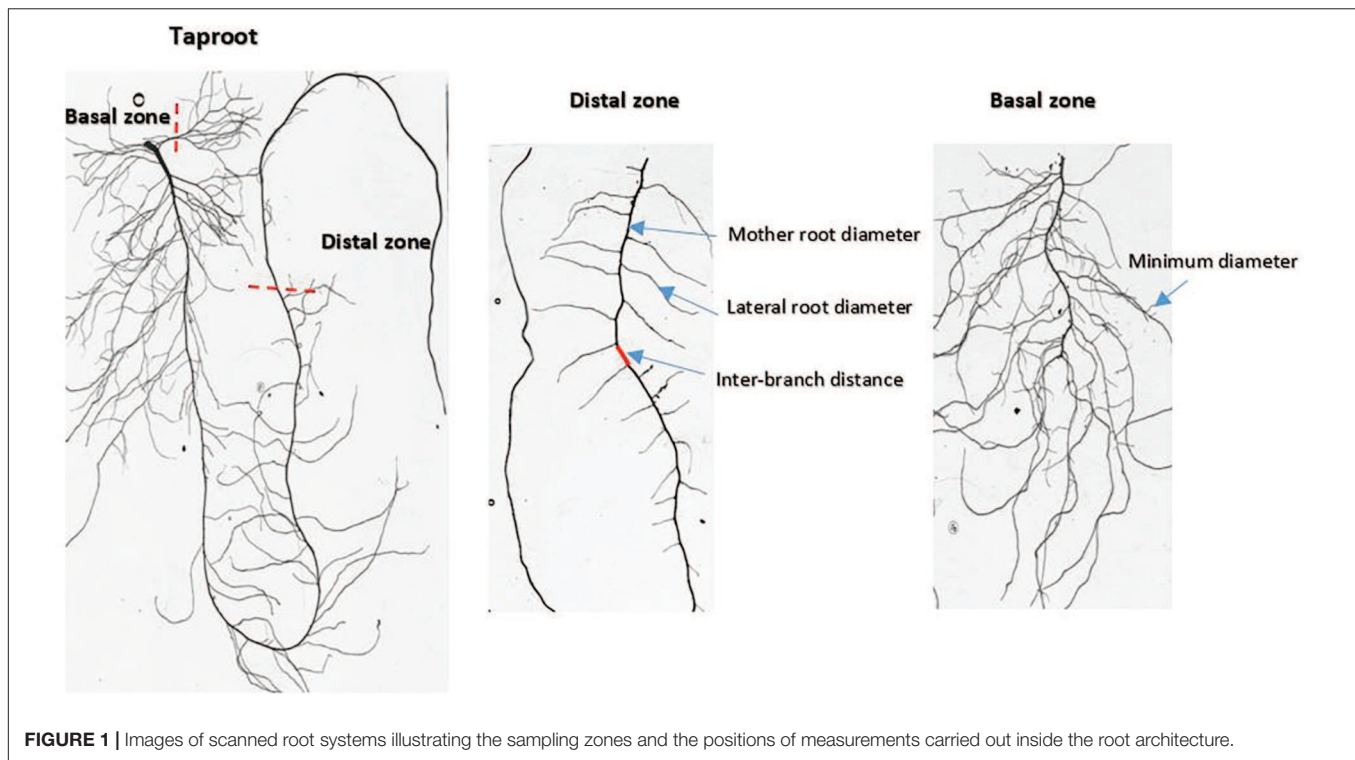


FIGURE 1 | Images of scanned root systems illustrating the sampling zones and the positions of measurements carried out inside the root architecture.

taproot in the distal zone and the basal zone, which provides information on fine roots. Fine roots are lateral roots of the highest branching order (usually 4th). Individual root samples of each plant were collected (total: 168 root samples) and scanned at 3,200 dpi (EPSON V750) in transparent mode. Scanned images were analyzed later with ImageJ software¹ to measure the root architectural traits.

Root Trait Measurements

At harvest, taproot depth (depth) was measured directly on the root using a ruler. This trait represents the maximum length reached by the taproot. The other root traits were measured on the images of the scanned samples using the measuring tools provided by the ImageJ software. Interbranch distance (ibd) was calculated as the average of forty-five measurements along the taproot in the distal zone starting from the first distal lateral root (**Figure 1**). The minimal diameter (dmin) was calculated as the average of thirty measurements performed on higher order lateral roots in the basal zone. The diameter is known to vary along the root axis (Wu et al., 2016). The maximal apical diameter (dmax) was computed as the 90th quantile in a distribution of diameters along the taproot in the distal zone. One value per plant was calculated.

The slope of the linear regression of lateral root diameters by their mother root (taproot) diameter (DIDm) was calculated for each plant based on forty-five measurements of diameters made of the mother root in the distal zone and its daughter roots, which are the first-order lateral roots. The line was forced

to pass through the point of coordinates (dmin, dmin). A low DIDm reveals a high dominance of the taproot on the first-order laterals. Elongation activity (elong) provides information on the actual depth reached by a root of a given diameter during the experiment, and it is calculated for each plant as the ratio of depth by dmax and by the number of days since transplantation. Traits were calculated for each plant in the two treatments. Means for each genotype in the two P treatments were used to compute a relative response for assessing the phenotypical plasticity of the different traits:

$$R_{\text{trait}}(\%) = 100 * [(\text{trait value under LP}) - (\text{trait value under HP}) / (\text{trait value under HP})].$$

P Content and Efficiency

Dried plant tissues were ground into fine powder to measure the P concentration in the shoots and roots with a portable X-ray fluorescence spectrometer (XRF, S1 TITAN, Bruker Germany). This analyzer determines elemental concentrations by measuring the secondary fluorescent X-ray emitted by the collection upon excitation (Reidinger et al., 2012). XRF analysis calibrations were performed by comparison using the inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICLPMs) method as a reference (Jenner et al., 1990). This calibration was carried out during a preliminary test and conducted on 25 collections in total, i.e., 15 leaf samples and 10 root collections. Although the correlation between the XRF and ICP measurements was satisfactory ($p < 0.001$, $R^2 = 0.93$), the slope differed from 1. Therefore, a correction of the XRF dosage was uniformly applied to the whole data set presented here according to the linear adjustment.

¹<http://rsbweb.nih.gov/ij/>

PUE and its components were defined as:

$$\text{PUPE} = \text{P absorbed (mg)} / \text{P applied (mg)}.$$

$$\text{PUtE} = \text{total dry mass (mg)} / \text{P absorbed (mg)}.$$

PUE was calculated as $\text{PUPE} \times \text{PUtE}$ (mg total dry mass/mg P applied).

Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using R software². Two-way analyses of variance (ANOVA) were performed to analyze the effects of the genotype (G), P level and their interactions (G $\times$ P) on the root traits. Means for each genotype were compared with Tukey's test. The coefficient of variation (CV) is provided to describe the genetic variability for each trait in the LP and HP treatments. To provide additional information about the impacts of the treatments for each genotype, values in the HP and LP treatments were compared with a Wilcoxon-Mann-Whitney non-parametric test at a significance threshold of $p = 0.01$ because of the limited number of biological replicates.

To summarize the information regarding the response to low P and evaluate the association between traits, a principal component analysis (PCA) was performed, with the relative traits as variables. Correlations among the different variables were obtained by the r Pearson correlation coefficient. A second group of PCAs was performed to link root traits to PUE and its components under HP and LP.

RESULTS

Genetic Variation of the Response of Traits to P Availability

Two-way ANOVAs was carried out for each trait, and revealed an effect of genotype and P treatment on all the traits except *dmin*, which was not affected by P stress. Moreover, the genotype $\times$ P treatment interaction were not significant except for depth (Figure 2A). The results of Wilcoxon tests for the P effect on each individual genotype are given in Figure 2. Taproot depth at the time of excavation varied between 72 and 98 cm under HP (CV = 9.04%) and 58 and 100 cm under LP (CV = 16%). Depth was reduced by 8% on average under LP compared to HP; however, a strong genotype $\times$ P interaction was observed. Genotypes G9 (old butterhead cultivar), G11 (modern crisphead cultivar) and G12 (old crisphead cultivar) showed the strongest reduction in depth under LP (−28%, −15%, −25% respectively), while for the other genotypes, the root depth was more moderately reduced (G4, G5, G6, G7, G8) or did not change significantly (G1, G2, G3, G10, G13, G14) (Figure 2A).

Dmax ranged between 0.83 and 1.15 mm under HP (CV 10.77%) and between 0.66 and 1.01 mm under LP (CV 12.28%) (Figure 2B). Stem lettuce (G14) and wild *L. sativa* (G3) produced the thickest taproots, while genotypes G2 (*L. saligna*) and G9 (old butterhead cultivar) had the thinnest taproots. Dmax

was reduced by 13% on average under LP compared to HP, although the Wilcoxon test for P treatment was not significant for the four genotypes.

For elong, regardless of the P treatment, the wild genotypes G1 and G2 showed the highest elongation potential and genotypes G12 and G13 showed the lowest elongation potential (Figure 2C). Elong increased slightly under LP by 5% compared to HP ($p = 0.04$), with the same range of variability among genotypes (CV of 14% under LP and 13% under HP).

Dmin was the trait that showed the least variation between genotypes (CV of 4.21% in HP and 3.69% in LP). Only two genotypes, G11 and G13, showed a significant increase or decrease in *dmin* under LP, respectively (Figure 2D).

DIDm was reduced under LP by 45% on average, indicating a stronger dominance of the taproot under LP (Figure 2E). The decrease in *dmax* was lower than that of DIDm, which also indicates that for most of the genotypes, the diameter of first-order lateral roots showed a strong decrease. Genotypic variation in DIDm was approximately twice as high under LP as under HP (27.44% vs 14.90%).

Ibd ranged from 3.85 to 7.55 mm under LP (CV 35%), and from 3 to 5.41 mm under HP (CV 23.47%) (Figure 2F). Genotype G2 (*L. serriola*) showed a higher ibd than the other genotypes. Ibd increased by 23% on average under LP compared to HP, although this increase was significant in only 9 genotypes out of the 14 studied.

Relationship Between Root Architecture Traits in Response to Low P

The two principal components (PCs) extracted by the PCA accounted for 76.8% of the variance (Figure 3), and the third component accounted for 11% and is not shown. Relative taproot depth (Rdepth) was strongly associated with component 1, while relative taproot dominance (Rdldm) and relative minimum diameter (Rdmin) were associated with component 2. Relative taproot elongation activity (Relong), Relative maximum diameter (*dmax*) and Relative inter-branch distance (Ribd) were associated with both components.

Correlations among relative responses of root traits to low P are given in Supplementary Table 1. Relong was positively correlated with Rdepth ($r = 0.91$, $p < 0.001$) (Supplementary Table 1), which is due to the calculation method of elong as the ratio of depth/(*dmax* × time).

A positive correlation was also observed between Rdmax and Rdepth ($r = 0.57$, $p < 0.01$). Dmax and depth were correlated under LP ($r = 0.52$, Supplementary Figure 1) but not under HP ($r = 0.19$). Genotypes that showed the highest reduction in *dmax* at low P availability also showed strong reductions on their depth.

Depth and ibd were positively correlated in the HP group ($r = 0.35$, $p < 0.05$) but not in the LP group ($r = -0.03$). The PCA plot showed that Rdepth and Ribd were opposite in both component 1 and component 2 (Figure 3) and thus were negatively correlated ($r = -0.52$, $p < 0.01$, Supplementary Table 1).

²<https://www.R-project.org/>

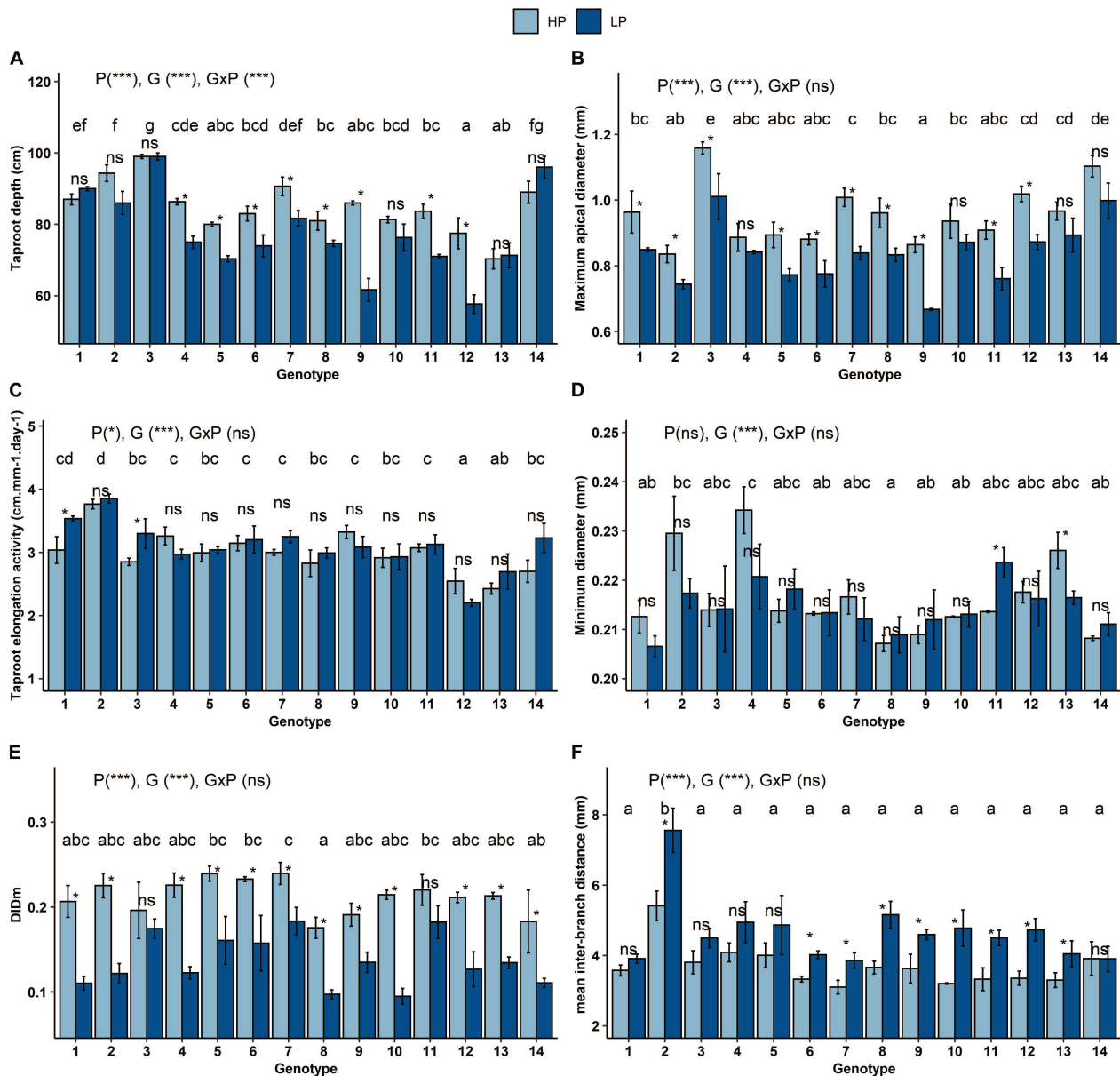


FIGURE 2 | Mean ($\pm$ standard error) value of the root architecture traits for 14 *Lactuca* genotypes grown at sufficient (HP) and limiting (LP) P availability: taproot depth (A), maximum apical diameter (B), taproot elongation activity (C), minimum diameter (D), linear regression slope of lateral root diameters by mother root diameter (DIDm) (E), and inter-branch distance (F). Each bar is the mean of three replications (corresponding to three plant per genotype). The significance of the p -value for each factor P, genotype, and genotype $\times$ P interaction is indicated for each trait (* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$; ns: not significant). Different letters are used to indicate means that differ significantly (Tukey's HSD, $p = 0.05$). Asterisk (*) indicates a significant difference between P conditions in the same cultivar using a Wilcoxon test (* $p < 0.1$; ns: not significant).

This finding indicates that in response to low P, some genotypes maintained the depth of their main roots and did not greatly increase the distance between their lateral roots (G1, G3, G13, G14) while others (e.g., G10, G12) tended to decrease the elongation of their main roots while at the same time increasing the distance between lateral roots (Supplementary Figure 1A). We also observed a negative correlation between the relative DIDm (RDIDm) and Rdmax ($r = -0.56$, $p < 0.05$): the genotypes

for which dmax responded weakly to low P, such as G4, G10, G13, and G14, showed a strong decrease in DIDm, and vice versa (Supplementary Figure 1B).

Root Traits Associated With PUE

The PUE value ranged from 16.27 gDM/gP to 69.92 gDM/gP under HP and 61.24 gDM/gP to 455.04 gDM/gP under LP (Supplementary Table 2). In both treatments, genotypes G3

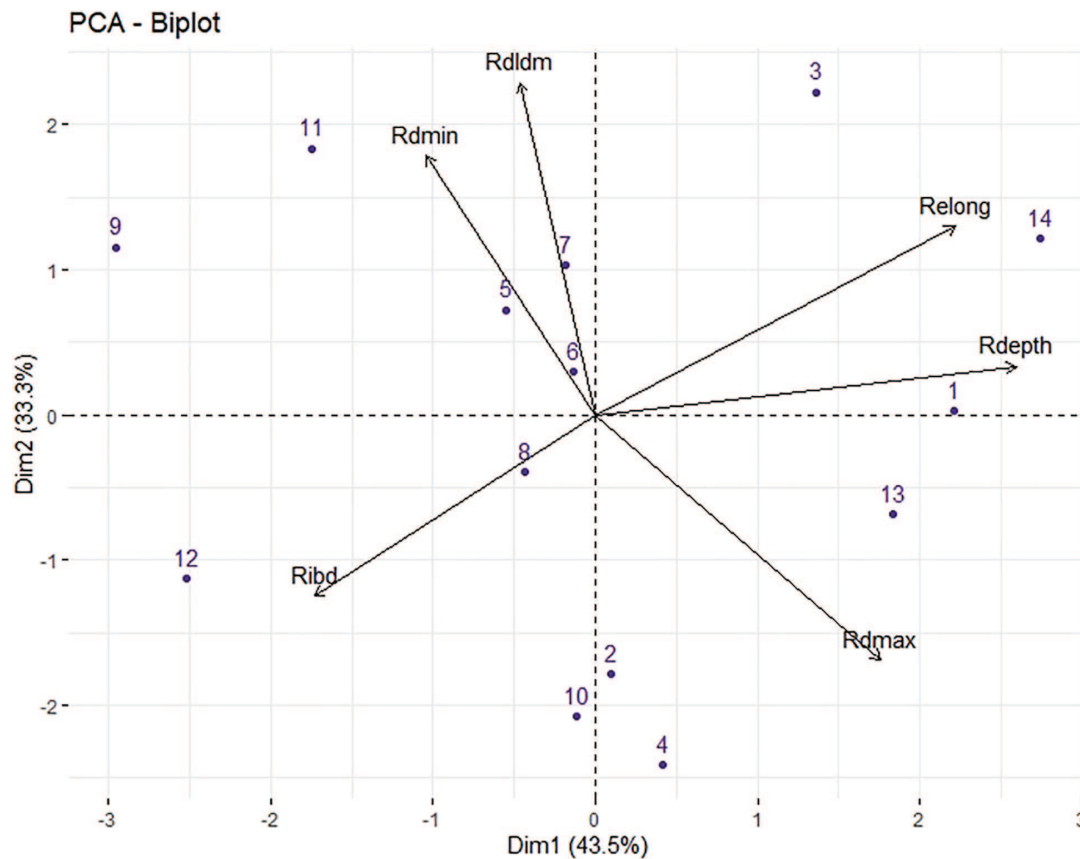


FIGURE 3 | Principal component analysis (PCA) of six root traits for 14 *Lactuca* genotypes in response to low P: Rdepth, relative taproot depth; Rdmax, relative maximum apical diameter; Rdmin, relative minimum diameter; Rdldm, relative dominance between the mother and lateral root diameters; Relong, relative taproot elongation activity. Values are the means of the relative response calculated using the mean for each genotype in the two P treatments. The fourteen genotypes were identified by their numbers, as given in **Table 1**.

(wild *L. sativa*) (455.03 gDM/gP and 68.83 gDM/gP under LP and HP, respectively) and G14 (stem lettuce) (454.26 gDM/gP and 69.92 gDM/gP under LP and HP, respectively) were the most efficient. To assess which traits were the most important determinants of PUE, a PCA was conducted on both treatments. Three components accounted for 82% of the variability in both cases (**Figure 4**). Similar to the LP treatment, PUE was very strongly associated with root dry mass along the first component in the HP treatment (**Figure 4**). This finding was confirmed by very high coefficients of correlation between the two variables: $r = 0.93$, $p < 0.001$ under HP and $r = 0.98$, $p < 0.001$ under LP. PUE was also strongly associated with PUE, while PUE was only correlated with PUE under LP. Two root traits, depth and dmax, were also associated with PUE, PUE and root dry mass along the first component. In contrast, traits describing taproot dominance (DIDm), branching density (ibd) or thin root diameters (dmin) were not associated with PUE in either treatment.

The relative increase in PUE under LP compared to HP (RPUE) showed large variations between genotypes and ranged from 222% (G2, *L. saligna*) to 747% (G13, a modern Romaine lettuce), and RPUE was linearly associated with dmax under LP

(**Figure 5**). Indeed, the highest values of RPUE were observed in genotypes with very large taproots (G3, G14), or in genotypes for which the decrease in dmax under LP was limited (G13). Accordingly, the lowest RPUE values were observed in genotypes with thin taproots and/or genotypes for which dmax was strongly reduced under LP (G2, G7, and G9) (**Figure 5**). This result emphasizes the importance of the maintenance of thick roots in *Lactuca* genotypes at low P availability to sustain root biomass and increase PUE.

DISCUSSION

The response of root system architectures to P deficiency may show differences beyond general tendencies and manifest variation between genera and species, or even within species. In this study, we investigated common patterns and specificities among a range of genotypes of *Lactuca* to identify the main architectural traits related to phosphorus-use-efficiency. Although the number of genotypes examined was limited to fourteen, this collection was sufficient to show substantial genetic variability for each trait and made it possible to estimate the range

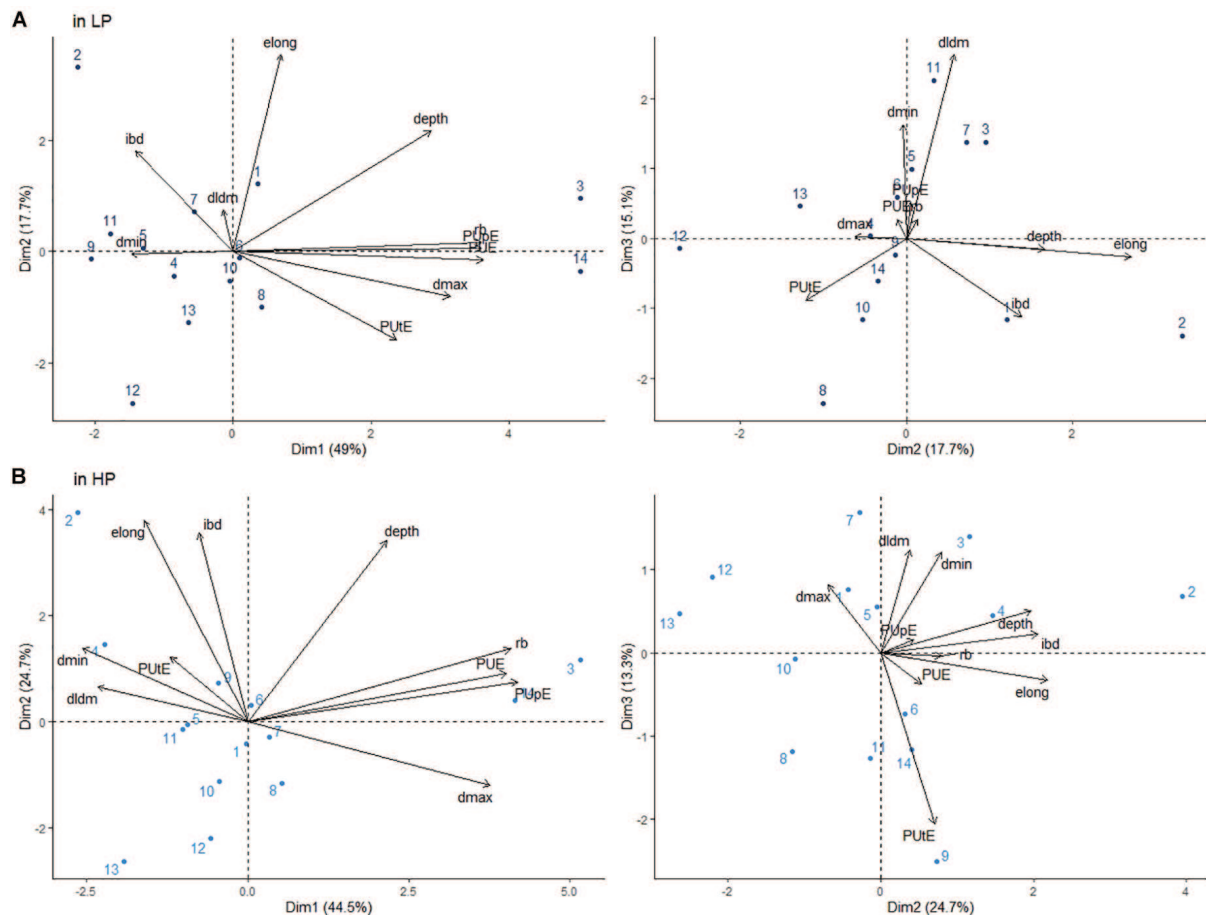


FIGURE 4 | Principal component analysis (PCA) of root traits for 14 *Lactuca* genotypes located on the plane by components 1, 2, and 3 under LP (A) and HP (B): rb: root biomass; depth, taproot depth; dmax, maximum apical diameter; dmin, minimum diameter; DIDm, dominance between the mother and lateral root diameters; elong, taproot elongation activity; and ibd: interbranch distance. Values shown represent the mean of three replicates in both the LP and HP treatments. See Table 1 for the genotype names.

of responses to low P availability for each of these traits. The results emphasize the role of thick roots in the root system in such an adaptation and the increase in PUE at low P.

Genetic Variation of the Root Architecture Traits in *Lactuca*

Six root traits were investigated: depth, dmax, elong, dmin, DIDm and ibd. These traits form useful descriptors of the root system architecture and its variability and they can summarize the developmental processes (e.g., elongation and branching) as well as the developmental characteristics (e.g., distribution of the root diameters) of roots, as previously shown in other studies that focus on intra- and interspecific root diversity (Pagès, 2014; Pagès and Picon-Cochard, 2014; Bui et al., 2015; Moreau et al., 2017; Salinier et al., 2019). These variables can also be used in modeling approaches such as the one proposed in the Archisimple model, which was elaborated by (Pagès et al., 2014).

Significant genetic variations were observed for all the different traits, and the magnitude of variations differed across the root traits. The genetic variability of depth and elong,

which are correlated by construction, was not very important, although wild genotypes (G1, G2, and G3) to show a slightly greater depth and taproot elongation activity than the other *L. sativa* genotypes.

In a range of 45 species of dicots, Pagès (2014) observed a 4 to 5-fold variation of dmax ranging between 0.29 and 1.30 mm, and dmin ranging between 0.063 and 0.33 mm, depending on the species. According to Li et al. (2018), the average diameter in lettuce was approximately 0.5 mm. In our study, we characterized the variation in diameter by Dmax and Dmin. The values observed at high P availability, which ranged from 0.86 mm to 1.15 mm for dmax and 0.2 mm to 0.24 mm for dmin, fell within these limits. For dmax, the stem lettuce (G14) and the wild *L. sativa* (G3) produced thick taproots. For Dmin, low genetic variability was observed and the thinnest lateral roots occurred for either the wild, old or modern genotypes.

The values of ibd reported in this work are within the range of values observed for 60 species, including some belonging to the Asteraceae family (Pagès and Kervella, 2018). In another study on lettuce, the interbranch distance varied between

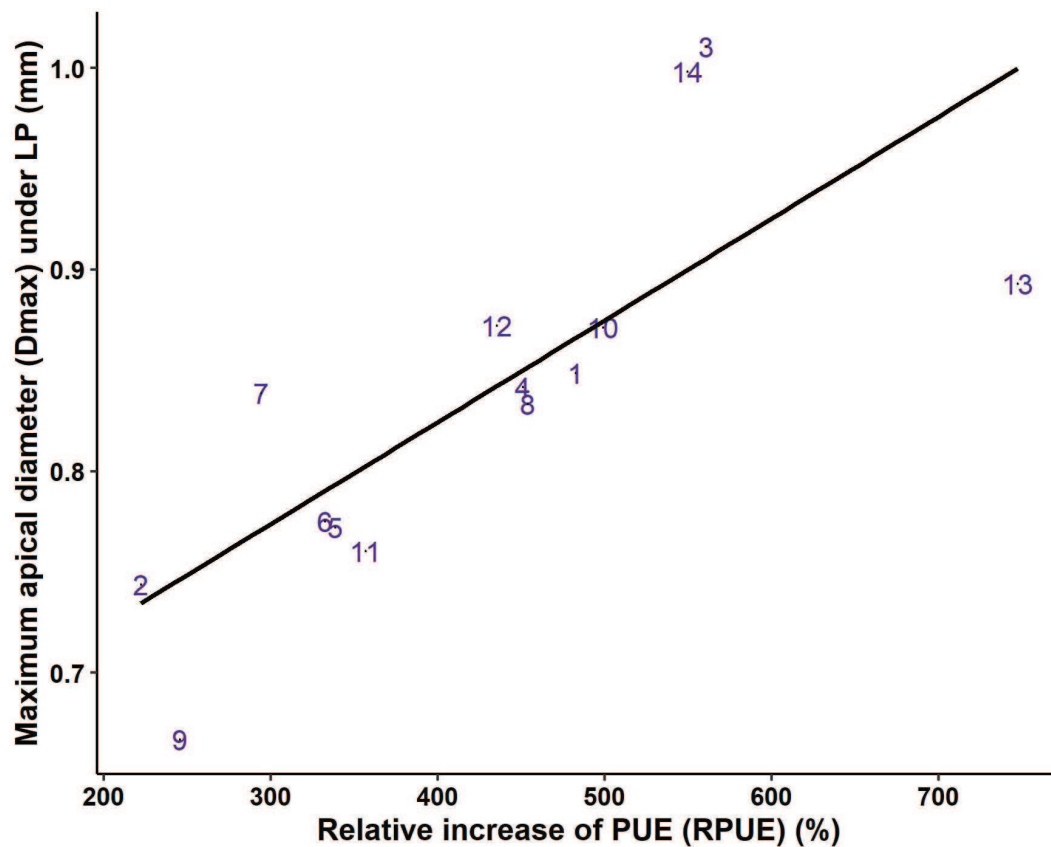


FIGURE 5 | Relationship between the relative increase in P-use efficiency (RPUE) and maximum apical diameter (dmax) under low P availability ($r = 0.76$, $p < 0.01$). Values are the means of the relative response calculated using the mean for each genotype in the two P treatments. The fourteen genotypes are identified by their numbers, as given in **Table 1**.

2.5 mm and 4 mm in *L. sativa* and *L. serriola* (Jackson, 1995), which corresponded to the values observed here. There was no significant difference among genotypes for ibd except for *L. saligna* (G2), which showed the highest ibd, i.e., the lowest branching density.

Describing taproot dominance defines the rate of diameter transition from the mother root to its laterals. A low value of DIDm denotes a high dominance of the taproot on first-order lateral roots. The values reported in this work correspond to those observed in the study of Pagès and Kervella (2018). The ancient romaine cultivar (G8) showed a low value of DIDm, i.e., a high dominance of the taproot.

Overall, a systematic pattern that could hierarchize the genotypes according to their varietal type or origin (ancient or modern) was not observed. However, wild genotypes sometimes showed some particularities, such as in depth, elong, dmax, and ibd.

Effect of P Treatment on Root Architectural Traits

The analysis of the response of roots revealed a significant effect of P availability on all traits except dmin. General trends in

response to P deficiency can be deduced from the absence of significant $G \times P$ interaction, except for depth.

P stress reduced the taproot depth, but the extent of reduction varied among genotypes (ranging from -11 to -55%). Butterhead cultivars (G4, G5, 9, and G12) showed the most pronounced reductions. In contrast, the root depths of wild species (G1, G2, and G3) were not significantly affected by low P. Whether or not this reveals a trend for wild species in natural soils to adapt to a large range of P availability requires further investigation. In a large collection of mungbean genotypes (153 genotypes), Reddy et al. (2020a) showed an increase in primary root length under low P. Sarker and Karmoker (2009) showed the same result in lentils and observed that increased root meristem volume was associated with an increase in root length under P-deficient conditions.

In this study, low P availability resulted in a reduction in dmax but did not affect dmin, indicating a reduction in the diameter range within the root system, and a shift toward lower diameters. Similarly, P deficiency decreased the average root diameter in beans (Beebe et al., 2006) and in oat (Zebrowska et al., 2017). Many papers have shown an increase in specific root length (SRL, the root length per unit mass) under P deficiency (Zhu and Lynch, 2004; Lynch and Brown, 2008), and it was associated

with a decrease in root diameter (Lambers et al., 2006). However, contradictory observations were made on *Arabidopsis thaliana* L. (Heynh) where larger root diameters measured in the third apical segment were observed under low P (Ma et al., 2001).

Phenotypic plasticity was more pronounced for the traits relative to that of the branching pattern and dominance of the taproot, and ibd and DIDm were the most affected variables. DIDm was the most sensitive trait in response to P shortage and decreased by 45% in LP as compared to HP. Since dmax was reduced by only 13% on average, the lateral root diameters were more strongly affected than the taproot diameters. Lateral roots play an important role in P acquisition by increasing soil exploration and exploitation. As previously stated, the effects of P on the proliferation and growth of lateral roots seem to depend on the species (Borch et al., 1999; Mollier and Pellerin, 1999; Williamson et al., 2001; López-Bucio et al., 2002; Reymond et al., 2006). To our knowledge, no information has been previously published about the effect of P stress on lateral root density in lettuce. Here we measured an increase in ibd in lettuce under LP, i.e., a decrease in lateral root density. Similar results were observed in rice (Vejchasarn et al., 2016) and common bean (Borch et al., 1999).

In a previous study, we showed that the P deficiency imposed in this experimental set-up limited maximum photosynthesis and leaf area and thus the availability of carbon (C) for growth. Accordingly, the root biomass under LP was reduced in comparison to that under HP. The construction of fewer and thinner lateral roots, as observed in this study in response to low P, requires lower C. Since the growth and diameter of the taproot are less affected, it can be hypothesized that the reduction in C demand of the lateral root system allows the allocation of more of the remaining carbohydrates to the taproot. These results suggest that under P deficiency, lettuce genotypes maintain the extension of the taproot as much as possible to the detriment of the lateral root system. This adaptation was observed in a more or less pronounced way in all the genotypes studied. However, despite the absence of the genotype $\times$ P interaction, in the overall analysis of variance, we observed some genetic variability.

We observed a correlation between RDIDm and Rdmax (Supplementary Figure 1B), which indicates a trade-off between the maintenance of a thick taproot and taproot dominance in response to low P. Some genotypes maintained a thick taproot associated with increased taproot dominance, while for other genotypes, reductions in diameter were more homogeneous across root orders. Samadder et al. (2018) showed in soybean that the increase in the taproot length and taproot diameter leads to an expansion of the root absorptive surface and soil volume explored by the roots in soybean. As a result, plants can uptake more P.

A negative correlation was observed between the relative responses of ibd and depth (Figure 3 and Supplementary Table 1). This simultaneous evolution of depth and branching density at low P, which showed strong reductions for some genotypes and limited changes for others, is not a trade-off describing compensatory phenomena because some genotypes had structurally weakened root systems in terms of both elongation and branching. In particular, butterhead cultivars

G9 and G12 either showed noticeably reduced root depth or increased ibd.

A range of other tradeoffs were observed among root functional traits across species (Ma et al., 2001; Walk et al., 2006; Wen et al., 2019; Honvault et al., 2020). According to Wen et al. (2019), root diameter is a good predictor of the root functional trait variation among species when P is limited. They showed that species with thinner roots relied on more branched lateral roots and higher specific root length to exploit more P in the soil. However, species with thicker roots were dependent on symbiotic mycorrhizal fungi for increasing P acquisition. In our study, the root diameter and lateral root density were investigated in the *Lactuca* genus under LP and HP; however, significant correlation were not observed between DIDm and ibd at either P level. This finding suggests that root system adaptations to low P vary depending on the species or families. Differences in root strategies are more important when several species are represented.

Root Traits Contribute to the PUE

We observed that PUE was determined to a greater extent by PUE than by PUE, whether under LP or HP. PUE was highly correlated with root biomass under both LP and HP. The wild *L. sativa* genotype (G3 cv. PI251245) and the stem lettuce genotype (G14 cv. red orient) in particular showed a much higher root biomass and PUE compared to other genotypes. We explored the determinants of root biomass and their relationship with PUE at the two P levels. The two depth and dmax traits were most significantly correlated with root biomass and PUE, regardless of the P availability. PUE varied significantly among lettuce genotypes and showed important phenotypic plasticity in response to low P. The intensity of responses varied among genotypes, but we could not observe a pattern according to the origin or the type of the genotypes.

We identified that this relative variation in PUE under LP was primarily associated to dmax. Interestingly, a strong increase in PUE was observable in the genotypes that had the thickest taproots when P was not limiting as well as in the genotypes that showed the smallest decrease in dmax under low P, such as G10 and G13. Since the breeding effort should focus on genotypes that are efficient at low P availability, it might be interesting to study the genetic background that allows the maintenance of dmax under P stress.

These results are coherent with other works in which P-efficient genotypes exhibited large root systems in terms of root weight and length, which allowing these plants to explore a larger soil volume to acquire more P (Liu et al., 2004; Samadder et al., 2018). Additionally, Reddy et al. (2020b) showed that the root dry weight explained most of the variation of the PUE in mungbean and could be used as a pertinent indicator to breed P-efficient genotype.

However, PUE has been also related to other root architectural traits, such as lateral root density and lateral hair length and density. Since, the topsoil is often rich in P, the increase in root density in the upper part is an advantage for PUE (Zhu and Lynch, 2004; Hammond et al., 2009; van de Wiel et al., 2016). In addition, P-efficient genotypes in common

bean were characterized by both denser and longer root hairs (Yan et al., 2004).

Because the root traits associated with increased PUE might depend on P distribution in the soil, the findings presented in this study should be extended to a wider context, such as to soils where horizontal extension of the roots would be less constrained while vertical root growth would be more restricted. However, the experimental setup presented in this study could reasonably be representative of a range of coarse-texture media and was suitable to explore the genetic diversity and identify traits associated with improved P efficiency.

CONCLUSION

The present study showed that significant genotypic variations occurred in the root architectural traits in *Lactuca*, and they varied across root traits. DIDm and ibd had the highest genetic variation. Root trait plasticity was observed in response to low P availability, but there was no significant genotype $\times$ P interaction for most traits. Wild species had specific responses, particularly in terms of taproot depth and inter-branch distance. Overall, the lettuce genotypes showed increased primary root growth to the detriment of the branching process in response to low P. PUE was associated with root biomass under both P conditions. The maintenance of a large taproot diameter under low P appears to be the most pertinent trait for determining the relative increase in PUE in *Lactuca*. These results highlight the specific adaptations of the *Lactuca* genus under low P and provide information about the relevant traits to be conserved when selecting P-efficient varieties.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

REFERENCES

- Abdolzadeh, A., Wang, X., Veneklaas, E. J., and Lambers, H. (2010). Effects of phosphorus supply on growth, phosphate concentration and cluster-root formation in three *Lupinus* species. *Ann. Bot.* 105, 365–374. doi: 10.1093/aob/mcp297
- Balemi, T. (2010). Effect of phosphorus nutrition on growth of potato genotypes with contrasting phosphorus efficiency. *Afr. Crop Sci. J.* 17, 199–212. doi: 10.4314/acsj.v17i4.54304
- Balemi, T., and Negisho, K. (2012). Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: a review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 547–561. doi: 10.4067/s0718-95162012005000015
- Beebe, S. E., Rojas-Pierce, M., Yan, X., Blair, M. W., Pedraza, F., Muñoz, F., et al. (2006). Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean. *Crop Sci.* 46, 413–423. doi: 10.2135/cropsci2005.0226
- Bilal, H. M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Farooq, M., and Yan, G. (2018). Categorization of wheat genotypes for phosphorus efficiency. *PLoS One* 13:e0205471. doi: 10.1371/journal.pone.0205471

AUTHOR CONTRIBUTIONS

AB conducted experiment and data collection. AB, FL, and LP designed the experiment. AB, FL, AM, and LP analyzed the data. AB wrote the first draft of the manuscript. FL, AM, and LP revised the work in detail. All authors contributed to the manuscript revision and read and approved the submission version.

FUNDING

This research received financial support from the “European Agricultural Fund for Rural Development” (FEADER), Provence-Alpes-Côte d’Azur (PACA) regions and the Scientific Interest Group for Integrated Production in Vegetable Crops (GIS PIClèg). AB was supported by a grant of the Tunisian Higher Education Program.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Dr. B. Maisonneuve and other partners of the project for providing lettuce seeds. The authors thank F. De Bruyne for his expert technical assistance and V. Serra for her help in scanning the roots.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.658321/full#supplementary-material>

Supplementary Figure 1 | Correlations among the relative response to low P availability: (A) relative taproot depth (Rdepth) vs. relative inter-branch distance (Ribd) ($r = -0.52$, $p < 0.01$), (B) relative dominance between diameters of the taproot and its laterals (RDIDm) vs. relative apical diameter (Rdmax) ($r = -0.56$, $p < 0.05$). Values are the means of the relative response, calculated using the mean for each genotype in the two P treatments. The fourteen genotypes are identified by their numbers, as given in Table 1.

- Bonsler, A. M., Lynch, J., and Snapp, S. (1996). Effect of phosphorus deficiency on growth angle of basal roots in *Phaseolus vulgaris*. *New Phytol.* 132, 281–288. doi: 10.1111/j.1469-8137.1996.tb01847.x
- Borch, K., Bouma, T. J., Lynch, J. P., and Brown, K. M. (1999). Ethylene: a regulator of root architectural responses to soil phosphorus availability. *Plant Cell Environ.* 22, 425–431. doi: 10.1046/j.1365-3040.1999.00405.x
- Brown, L. K., George, T. S., Thompson, J. A., Wright, G., Lyon, J., Dupuy, L., et al. (2012). What are the implications of variation in root hair length on tolerance to phosphorus deficiency in combination with water stress in barley (*Hordeum vulgare*)? *Ann. Bot.* 110, 319–328. doi: 10.1093/aob/mcs085
- Bui, H. H., Serra, V., and Pagès, L. (2015). Root system development and architecture in various genotypes of the solanaceae family. *Botany* 93, 465–474. doi: 10.1139/cjb-2015-0008
- Buso, G. S. C., and Bliss, F. A. (1988). Variability among lettuce cultivars grown at two levels of available phosphorus. *Plant Soil* 111, 67–73. doi: 10.1007/BF02182038
- Campos, P., Borie, F., Cornejo, P., López-Ráez, J. A., López-García, Á., and Seguel, A. (2018). Phosphorus acquisition efficiency related to root traits: is mycorrhizal symbiosis a key factor to wheat and barley cropping? *Front. Plant Sci.* 9:752. doi: 10.3389/fpls.2018.00752

- Cordell, D., Drangert, J. O., and White, S. (2009). The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Glob. Environ. Chang.* 19, 292–305. doi: 10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009
- da Silva, D. A., Esteves, J. A. D. F., Messias, U., Teixeira, A., Gonçalves, J. G. R., Chiorato, A. F., et al. (2014). Efficiency in the use of phosphorus by common bean genotypes. *Sci. Agric.* 71, 232–239. doi: 10.1590/S0103-90162014000300008
- De Souza Campos, P. M., Cornejo, P., Rial, C., Borie, F., Varela, R. M., Seguel, A., et al. (2019). Phosphate acquisition efficiency in wheat is related to root:shoot ratio, strigolactone levels, and PHO2 regulation. *J. Exp. Bot.* 70, 5631–5642. doi: 10.1093/jxb/erz349
- Gahoonia, T. S., and Nielsen, N. E. (1998). Direct evidence on participation of root hairs in phosphorus (32P) uptake from soil. *Plant Soil* 198, 147–152. doi: 10.1023/A:1004346412006
- Gallardo, M., Snyder, R. L., Schulbach, K., and Jackson, L. E. (1996). Crop growth and water use model for lettuce. *J. Irrig. Drain. Eng.* 122, 354–358. doi: 10.1061/(asce)0733-94371996122:6(354)
- Gourley, C. J. P., Allan, D. L., and Russelle, M. P. (1994). Plant nutrient efficiency: a comparison of definitions and suggested improvement. *Plant Soil* 158, 29–37. doi: 10.1007/BF00007914
- Hammond, J. P., Broadley, M. R., White, P. J., King, G. J., Bowen, H. C., Hayden, R., et al. (2009). Shoot yield drives phosphorus use efficiency in *Brassica oleracea* and correlates with root architecture traits. *J. Exp. Bot.* 60, 1953–1968. doi: 10.1093/jxb/erp083
- Honvault, N., Houben, D., Nobile, C., Firmin, S., Lambers, H., and Faucon, M. P. (2020). Tradeoffs among phosphorus-acquisition root traits of crop species for agroecological intensification. *Plant Soil* doi: 10.1007/s11104-020-04584-3 [Epub ahead of print].
- Hoque, M. M., Ajwa, H., Othman, M., Smith, R., and Cahn, M. (2010). Yield and postharvest quality of lettuce in response to nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers. *HortScience* 45, 1539–1544. doi: 10.21273/HORTSCI.45.10.1539
- Irfan, M., Aziz, T., Maqsood, M. A., Bilal, H. M., Siddique, K. H. M., and Xu, M. (2020). Phosphorus (P) use efficiency in rice is linked to tissue-specific biomass and P allocation patterns. *Sci. Rep.* 10:4278. doi: 10.1038/s41598-020-61147-3
- Jackson, L. E. (1995). Root architecture in cultivated and wild lettuce (*Lactuca spp.*). *Plant Cell Environ.* 18, 885–894. doi: 10.1111/j.1365-3040.1995.tb00597.x
- Jenner, G. A., Longrich, H. P., Jackson, S. E., and Fryer, B. J. (1990). ICP-MS – a powerful tool for high-precision trace-element analysis in Earth sciences: Evidence from analysis of selected U.S.G.S. reference samples. *Chem. Geol.* 83, 133–148. doi: 10.1016/0009-2541(90)90145-W
- Kerbiriou, P. J., Stomph, T. J., Van Der Putten, P. E. L., Lammerts Van Bueren, E. T., and Struik, P. C. (2013). Shoot growth, root growth and resource capture under limiting water and N supply for two cultivars of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Soil* 371, 281–297. doi: 10.1007/s11104-013-1672-6
- Lambers, H., Shane, M. W., Cramer, M. D., Pearce, S. J., and Veneklaas, E. J. (2006). Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. *Ann. Bot.* 98, 693–713. doi: 10.1093/aob/mcl114
- Lecompte, F., Abro, M. A., and Nicot, P. C. (2013). Can plant sugars mediate the effect of nitrogen fertilization on lettuce susceptibility to two necrotrophic pathogens: *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*? *Plant Soil* 369, 387–401. doi: 10.1007/s11104-012-1577-9
- Li, Q., Li, X., Tang, B., and Gu, M. (2018). Growth responses and root characteristics of lettuce grown in aeroponics, hydroponics, and substrate culture. *Horticulturae* 4:35. doi: 10.3390/horticulturae4040035
- Liu, Y., Mi, G., Chen, F., Zhang, J., and Zhang, F. (2004). Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. *Plant Sci.* 167, 217–223. doi: 10.1016/j.plantsci.2004.02.026
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., and Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 280–287. doi: 10.1016/S1369-5266(03)00035-9
- López-Bucio, J., Hernández-Abreu, E., Sánchez-Calderón, L., Nieto-Jacobo, M. F., Simpson, J., and Herrera-Estrella, L. (2002). Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiol.* 129, 244–256. doi: 10.1104/pp.010934
- Lynch, J. P. (2007). Roots of the second green revolution. *Aust. J. Bot.* 55, 493–512. doi: 10.1071/BT06118
- Lynch, J. P., and Brown, K. M. (2008). “Root strategies for phosphorus acquisition,” in *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*, eds P. J. White and J. P. Hammond (Dordrecht: Springer), 83–116. doi: 10.1007/978-1-4020-8435-5_5
- Ma, Z., Bielenberg, D. G., Brown, K. M., and Lynch, J. P. (2001). Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 24, 459–467. doi: 10.1046/j.1365-3040.2001.00695.x
- Minemba, D., Gleeson, D. B., Veneklaas, E., and Ryan, M. H. (2019). Variation in morphological and physiological root traits and organic acid exudation of three sweet potato (*Ipomoea batatas*) cultivars under seven phosphorus levels. *Sci. Hortic. (Amsterdam)* 256:108572. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108572
- Mollier, A., and Pellerin, S. (1999). Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. *J. Exp. Bot.* 50, 487–497. doi: 10.1093/jxb/50.333.487
- Moreau, D., Abiven, F., Busset, H., Matejcek, A., and Pagès, L. (2017). Effects of species and soil-nitrogen availability on root system architecture traits – study on a set of weed and crop species. *Ann. Appl. Biol.* 171, 103–116. doi: 10.1111/aab.12355
- Neocleous, D., and Savvas, D. (2019). The effects of phosphorus supply limitation on photosynthesis, biomass production, nutritional quality, and mineral nutrition in lettuce grown in a recirculating nutrient solution. *Sci. Hortic. (Amsterdam)* 252, 379–387. doi: 10.1016/j.scienta.2019.04.007
- Niu, Y. F., Chai, R. S., Jin, G. L., Wang, H., Tang, C. X., and Zhang, Y. S. (2013). Responses of root architecture development to low phosphorus availability: a review. *Ann. Bot.* 112, 391–408. doi: 10.1093/aob/mcs285
- Pagès, L. (2014). Branching patterns of root systems: quantitative analysis of the diversity among dicotyledonous species. *Ann. Bot.* 114, 591–598. doi: 10.1093/aob/mcu145
- Pagès, L., and Kervella, J. (2018). Seeking stable traits to characterize the root system architecture. study on 60 species located at two sites in natura. *Ann. Bot.* 122, 107–115. doi: 10.1093/aob/mcy061
- Pagès, L., and Picon-Cochard, C. (2014). Modelling the root system architecture of Poaceae. Can we simulate integrated traits from morphological parameters of growth and branching? *New Phytol.* 204, 149–158. doi: 10.1111/nph.12904
- Pagès, L., Bécél, C., Boukcim, H., Moreau, D., Nguyen, C., and Voisin, A. S. (2014). Calibration and evaluation of ArchiSimple, a simple model of root system architecture. *Ecol. Modell.* 290, 76–84. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2013.11.014
- Parentoni, S. N., and De Souza Júnior, C. L. (2008). Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 43, 893–901. doi: 10.1590/S0100-204X2008000700014
- Ramaekers, L., Remans, R., Rao, I. M., Blair, M. W., and Vanderleyden, J. (2010). Strategies for improving phosphorus acquisition efficiency of crop plants. *Field Crops Res.* 117, 169–176. doi: 10.1016/j.fcr.2010.03.001
- Reddy, V. R. P., Aski, M. S., Mishra, G. P., Dikshit, H. K., Singh, A., Pandey, R., et al. (2020a). Genetic variation for root architectural traits in response to phosphorus deficiency in mungbean at the seedling stage. *PLoS One* 15:e0221008. doi: 10.1371/journal.pone.0221008
- Reddy, V. R. P., Dikshit, H. K., Mishra, G. P., Aski, M., Pandey, R., and Singh, M. P. (2020b). Unravelling the phosphorus use efficiency associated traits in mungbean (*Vigna radiata* L.) under low phosphorus condition. *Indian J. Genet.* 80, 412–418. doi: 10.31742/IJGPB.80.4.6
- Reidinger, S., Ramsey, M. H., and Hartley, S. E. (2012). Rapid and accurate analyses of silicon and phosphorus in plants using a portable X-ray fluorescence spectrometer. *New Phytol.* 195, 699–706. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04179.x
- Reymond, M., Svistoonoff, S., Loudet, O., Nussaume, L., and Desnos, T. (2006). Identification of QTL controlling root growth response to phosphate starvation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 29, 115–125. doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01405.x
- Rose, T. J., and Wissuwa, M. (2012). “Rethinking internal phosphorus utilization efficiency. A new approach is needed to improve PUE in grain crops,” in *Advances in Agronomy*, Vol. 116, ed. D. L. Sparks (Burlington, VT: Academic Press), 185–217. doi: 10.1016/b978-0-12-394277-7.00005-1
- Salinier, J., Daunay, M., Talmot, V., Lecarpentier, C., Pagès, L., Bardel, A., et al. (2019). Root architectural trait diversity in aubergine (*Solanum melongena* L.) and related species and correlations with plant biomass. *Crop Breed. Genet. Genomics* 1:e190011. doi: 10.20900/cbpg20190011

- Samadder, M., Nath, U., and Malek, M. (2018). Genetic study for selection and characterization of phosphorus efficient soybean genotypes. *J. Agric. Sci. Food Res.* 9:251.
- Sarker, B., and Karmoker, J. (2009). Effects of phosphorus deficiency on the root growth of lentil seedlings (*Lens Culinaris* Medik) grown in rhizobox. *Bangladesh J. Bot.* 38, 215–218. doi: 10.3329/bjb.v38i2.5153
- Sattari, S. Z., Bouwman, A. F., Martinez Rodriguez, R., Beusen, A. H. W., and Van Ittersum, M. K. (2016). Negative global phosphorus budgets challenge sustainable intensification of grasslands. *Nat. Commun.* 7:10696. doi: 10.1038/ncomms10696
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., et al. (2011). Phosphorus dynamics: from soil to plant. *Plant Physiol.* 156, 997–1005. doi: 10.1104/pp.111.175232
- Singh Gahoonia, T., and Nielsen, N. E. (2004). Root traits as tools for creating phosphorus efficient crop varieties. *Plant Soil* 260, 47–57. doi: 10.1023/B:PLSO.0000030168.53340.bc
- Tiziani, R., Pii, Y., Celletti, S., Cesco, S., and Mimmo, T. (2020). Phosphorus deficiency changes carbon isotope fractionation and triggers exudate reacquisition in tomato plants. *Sci. Rep.* 10:15970. doi: 10.1038/s41598-020-72904-9
- van de Wiel, C. C. M., van der Linden, C. G., and Scholten, O. E. (2016). Improving phosphorus use efficiency in agriculture: opportunities for breeding. *Euphytica* 207, 1–22. doi: 10.1007/s10681-015-1572-3
- Vance, C. P., Uhde-Stone, C., and Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol.* 157, 423–447. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x
- Vejchasarn, P., Lynch, J. P., and Brown, K. M. (2016). Genetic variability in phosphorus responses of rice root phenotypes. *Rice* 9:29. doi: 10.1186/s12284-016-0102-9
- Veneklaas, E. J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P. M., Lovelock, C. E., Plaxton, W. C., et al. (2012). Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New Phytol.* 195, 306–320. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04190.x
- Wacker-Fester, K., Uptmoor, R., Pfahler, V., Dehmer, K. J., Bachmann-Pfabe, S., and Kavka, M. (2019). Genotype-specific differences in phosphorus efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Front. Plant Sci.* 10:1029. doi: 10.3389/fpls.2019.01029
- Walk, T. C., Jaramillo, R., and Lynch, J. P. (2006). Architectural tradeoffs between adventitious and basal roots for phosphorus acquisition. *Plant Soil* 279, 347–366. doi: 10.1007/s11104-005-0389-6
- Wang, Y.-L., Almvik, M., Clarke, N., Eich-Greatorex, S., Øgaard, A. F., Krogstad, T., et al. (2015). Contrasting responses of root morphology and root-exuded organic acids to low phosphorus availability in three important food crops with divergent root traits. *AoB Plants* 7:lv097. doi: 10.1093/aobpla/plv097
- Wen, Z., Li, H., Shen, Q., Tang, X., Xiong, C., Li, H., et al. (2019). Tradeoffs among root morphology, exudation and mycorrhizal symbioses for phosphorus-acquisition strategies of 16 crop species. *New Phytol.* 223, 882–895. doi: 10.1111/nph.15833
- Williamson, L. C., Ribrioux, S. P. C. P., Fitter, A. H., and Leyser, H. M. O. (2001). Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126, 875–882. doi: 10.1104/pp.126.2.875
- Wu, Q., Pagès, L., and Wu, J. (2016). Relationships between root diameter, root length and root branching along lateral roots in adult, field-grown maize. *Ann. Bot.* 117, 379–390. doi: 10.1093/aob/mcv185
- Yan, X., Liao, H., Beebe, S. E., Blair, M. W., and Lynch, J. P. (2004). QTL mapping of root hair and acid exudation traits and their relationship to phosphorus uptake in common bean. *Plant Soil* 265, 17–29. doi: 10.1007/s11104-005-0693-1
- Zebrowska, E., Milewska, M., and Ciereszko, I. (2017). Mechanisms of oat (*Avena sativa* L.) acclimation to phosphate deficiency. *PeerJ* 5:e3989. doi: 10.7717/peerj.3989
- Zhou, T., Du, Y., Ahmed, S., Liu, T., Ren, M., Liu, W., et al. (2016). Genotypic differences in phosphorus efficiency and the performance of physiological characteristics in response to low phosphorus stress of soybean in southwest of China. *Front. Plant Sci.* 7:1776. doi: 10.3389/fpls.2016.01776
- Zhu, J., and Lynch, J. P. (2004). The contribution of lateral rooting to phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays*) seedlings. *Funct. Plant Biol.* 31, 949–958. doi: 10.1071/FP04046

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Beroueg, Lecompte, Mollier and Pagès. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.