



## Identification, cibles et diversité de régulateurs expressionnels majeurs impliqués dans la production de biomasse chez le peuplier

Véronique V. Jorge, Jean-Charles Leplé, Vincent Segura, Marie-Claude Lesage Descauses, Redouane El Malki, Pascale Ferrigno, Vanina Guérin, Nathalie Boizot, Wassim Lakhali, Odile Rogier, et al.

### ► To cite this version:

Véronique V. Jorge, Jean-Charles Leplé, Vincent Segura, Marie-Claude Lesage Descauses, Redouane El Malki, et al.. Identification, cibles et diversité de régulateurs expressionnels majeurs impliqués dans la production de biomasse chez le peuplier. Séminaire AIP Bio-ressources, Feb 2013, Paris, France. 2013, 10.13140/RG.2.1.3449.0403 . hal-02807304

HAL Id: hal-02807304

<https://hal.inrae.fr/hal-02807304>

Submitted on 6 Jun 2020

**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.

# Identification, cibles et diversité de régulateurs expressionnels majeurs impliqués dans la production de biomasse chez le peuplier

Jorge V.<sup>1</sup>, Leplé J.C.<sup>1</sup>, Segura V.<sup>1</sup>, Lesage-Descausses M.C.<sup>1</sup>, El Malki R.<sup>1</sup>, Ferrigno P.<sup>1</sup>, Guérin V.<sup>1</sup>, Boizot N.<sup>1</sup>, Lakhali W.<sup>1</sup>, Rogier O.<sup>1</sup>, Faivre-Rampant P.<sup>2</sup>, Le Paslier M.C.<sup>3</sup>, Pilate G., Bastien C., Déjardin A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA UR 0588 AGPF, Centre INRA Val de Loire, 2163 avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 – Ardon 45075 Orléans; <sup>2</sup> INRA UMR 1165 URGV, 2 rue Gaston Crémieux, 91057 Evry; <sup>3</sup> INRA US 1279 EPGV/CEA/CNG, 2 rue Gaston Crémieux, 91057 Evry.

## Introduction

Le projet REGEX est une approche intégrée de génétique inverse (Fig. 1), conduisant à la production de nouvelles ressources biologiques visant à comprendre l'élaboration de la biomasse ligno-cellulosique chez les peupliers (*Populus* spp.). Il a pour objectifs : (1) de déchiffrer les réseaux de régulation génique sous-tendant la formation du bois en identifiant de façon dynamique différents régulateurs moléculaires (facteurs de transcription – FT, miRNA) et leurs cibles ADN ou ARNm, au niveau du tissu de bois ; et (2) de coupler des approches de génétique d'association permettant d'explorer la diversité présente au sein des populations naturelles de peuplier noir avec des approches de cartographie génétique en familles multiples permettant de valider les associations positives détectées.

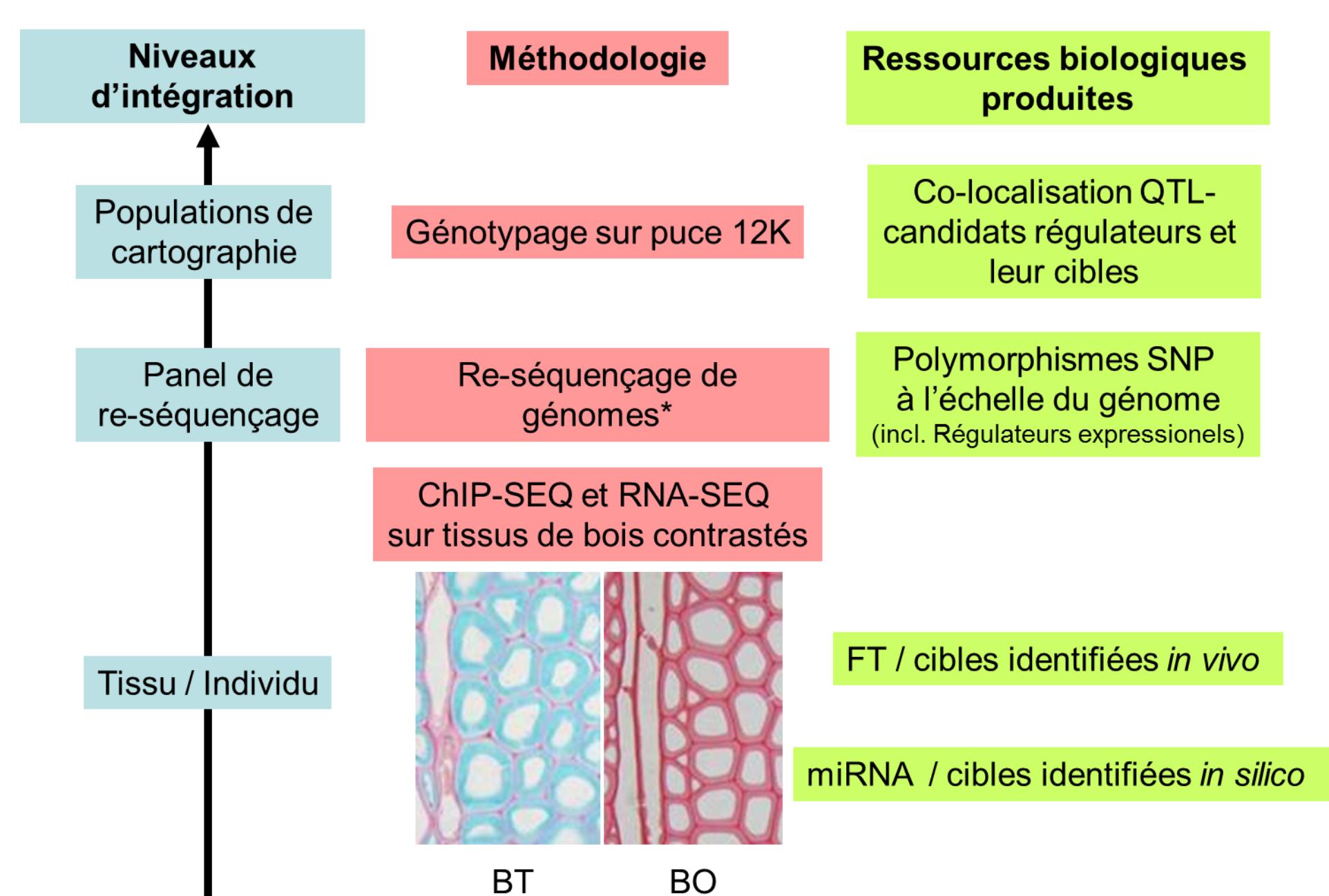
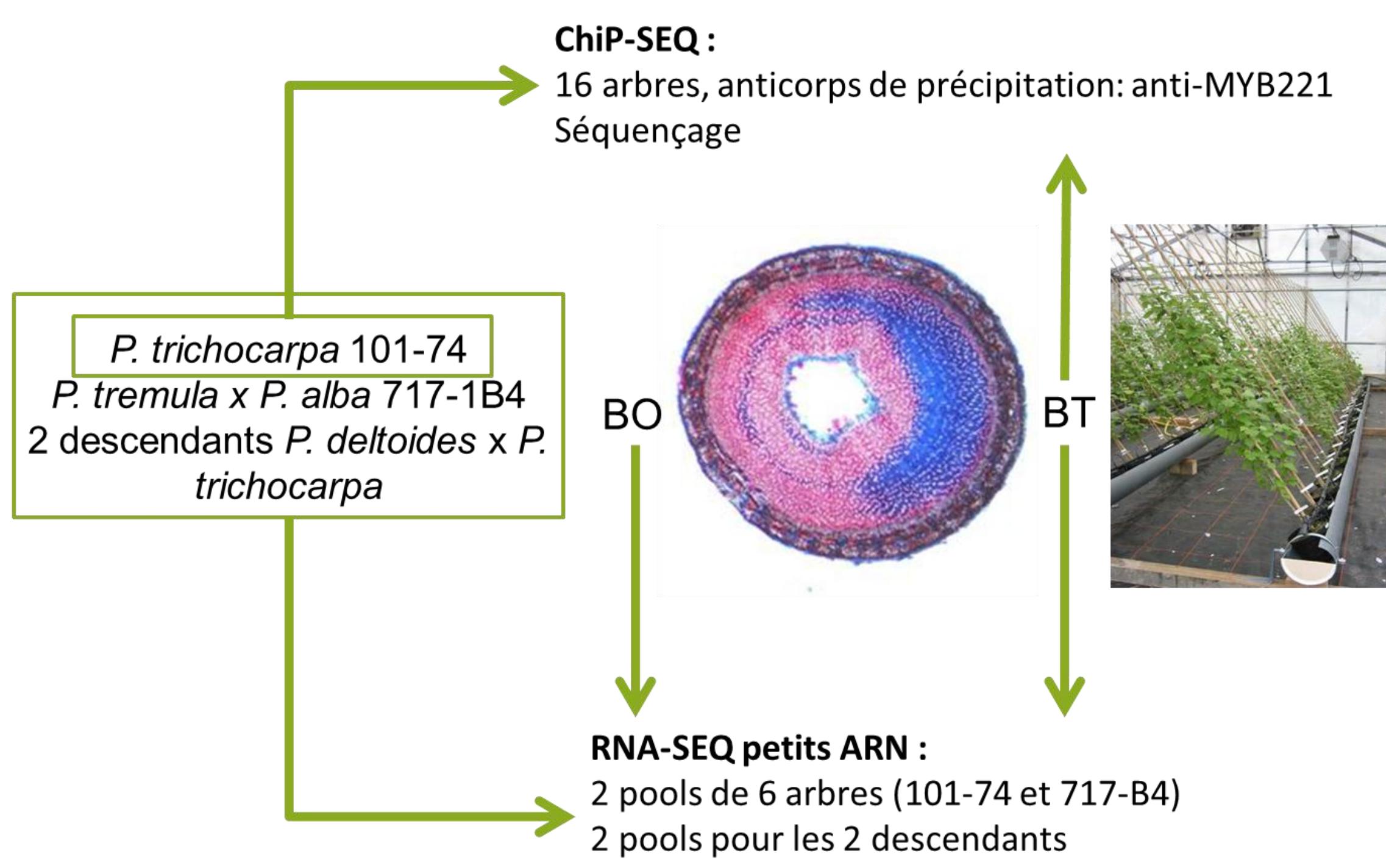


Figure 1 REGEX, un projet intégrateur visant à comprendre l'élaboration de la biomasse ligno-cellulosique chez les peupliers. \* Ressources acquises dans des projets connexes utilisées dans le projet REGEX.

## Matériel et méthodes

### • Chip-SEQ et RNA-SEQ petits ARN (sRNA)



## Résultats et discussion

### • ChiP-SEQ

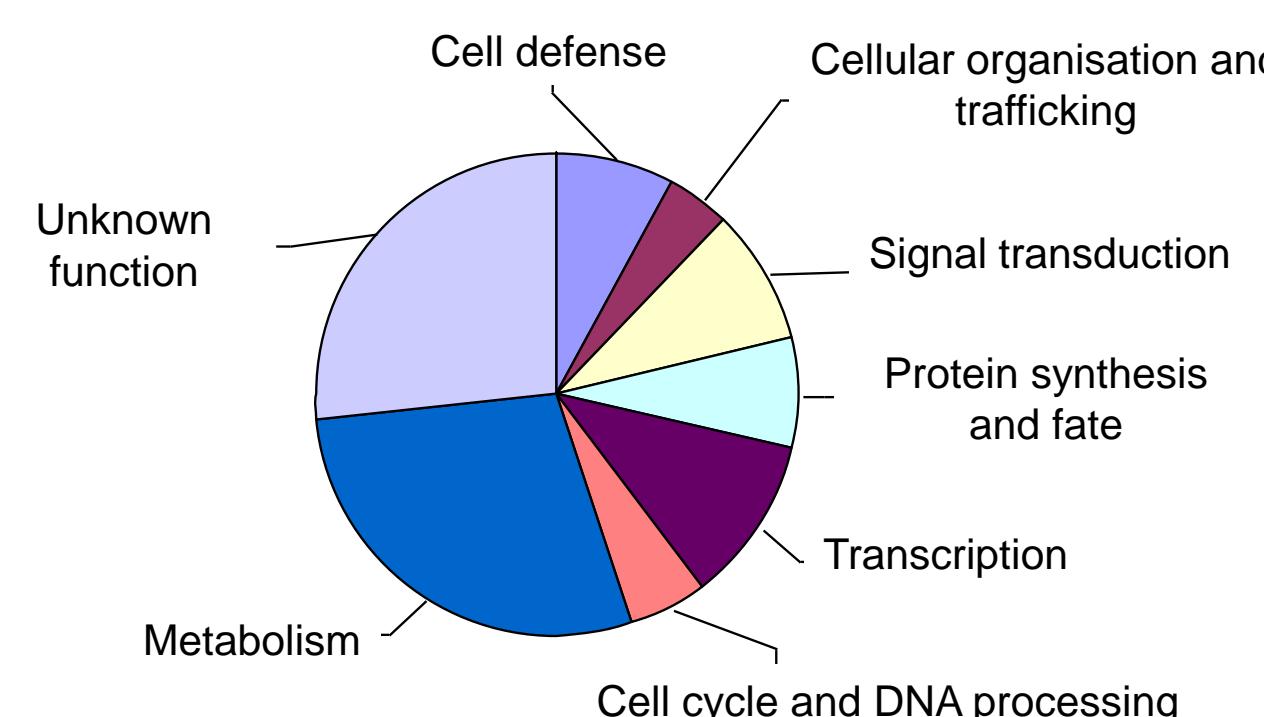


Figure 2 Classification fonctionnelle des 98 gènes-cibles potentiels de MYB221 – ces gènes sont positionnés à moins d'1 kb d'un pic d'enrichissement ChIP-SEQ.

### • RNA-SEQ sRNA

- ✓ Dans l'échantillon ChIP-SEQ anti-MYB221, par rapport au témoin négatif, 725 pics ont été détectés sur le génome de référence *P. trichocarpa*, se trouvant respectivement à proximité de 488, 284, 98 et 60 modèles de gène dans un intervalle de 5, 3, 1 et 0,5 kb.
- ✓ Les 98 gènes-cibles potentiels positionnés à moins d'1 kb d'un pic ChIP-SEQ ont été classés selon leur fonction cellulaire (Fig. 2). Plus d'un quart correspondent à des gènes du métabolisme (notamment un gène CAD et un gène de laccase). Six FT sont également des cibles potentielles, dont MYB221 lui-même suggérant qu'il est régulateur de sa propre expression. Un quart des modèles de gènes correspondent à des protéines de fonction inconnue.

- ✓ Nous avons identifié par NGS les micro ARN et autres petits ARN (sRNA) présents dans le bois de tension et le bois opposé de trois génotypes différents de peuplier.

- ✓ 1708 miRNA et leur pré-miRNA sont prédits sur le génome de référence et se retrouvent dans les tailles attendues (Fig. 3B).

- ✓ Certains miRNA présentent des accumulations différentes en fonction du tissu (bois opposé ou tendu) ou du génotype considéré (Fig. 3C).

Figure 3 Identification de miRNA après séquençage NGS. A) un exemple de structure en boucle d'un pre-miRNA identifié (le miRNA coloré en rouge); B) les 1708 miRNA prédits présentent des tailles entre 20 et 22 nucléotides. C) clustering hiérarchique de l'accumulation de quelques miRNA identifiés dans les 4 banques de bois opposé (#9 et #11) et bois tendu (#10 et #12) du clone 717-1B4.

### • Génotypage

- ✓ Sur les 10 500 SNP génotypés, 88% sont lisibles, 7 611 se sont avérés polymorphes dans une population d'association et 75% à 93% d'entre eux ségrègent dans les populations de cartographie.
- ✓ Parmi les gènes candidats sélectionnés pour la conception de la puce, 1231 gènes et séquences candidates correspondent à des candidats pour la qualité du bois (Fig. 4). Toutefois, les contraintes techniques de génotypage n'ont permis de génotyper que 546 SNP dans 336 de ces gènes.
- ✓ Une première analyse de ségrégation sur une colonne du plan de croisement factoriel a permis de construire une carte génétique (Fig. 5). L'ordre des marqueurs est relativement bien conservé par rapport à la séquence du génome.

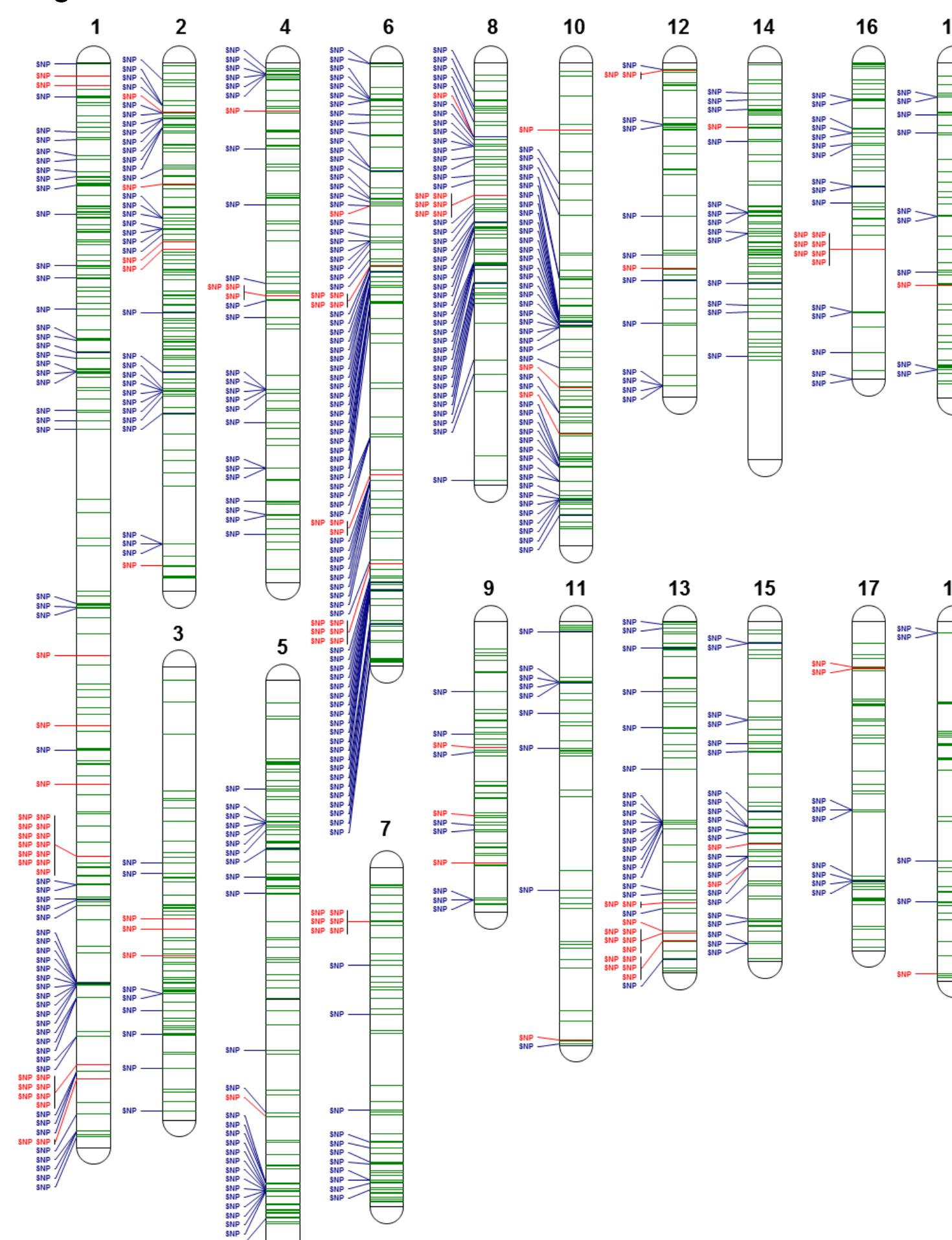


Figure 4 Distribution sur le génome de référence *P. trichocarpa* : (i) des 1231 gènes et séquences candidates liés aux propriétés du bois (lignes vertes); (ii) des SNP génotypés dans ces gènes et séquences (546 SNP; en bleu, les SNP issus de séquençage NGS; en rouge, les SNP issus de séquençage Sanger). Les chromosomes 6, 8 et 10 comportent plus de SNP car ce sont des régions candidates pour le contrôle de la variation des propriétés du bois (QTL; Yin et al. 2010; Novaes et al. 2009).

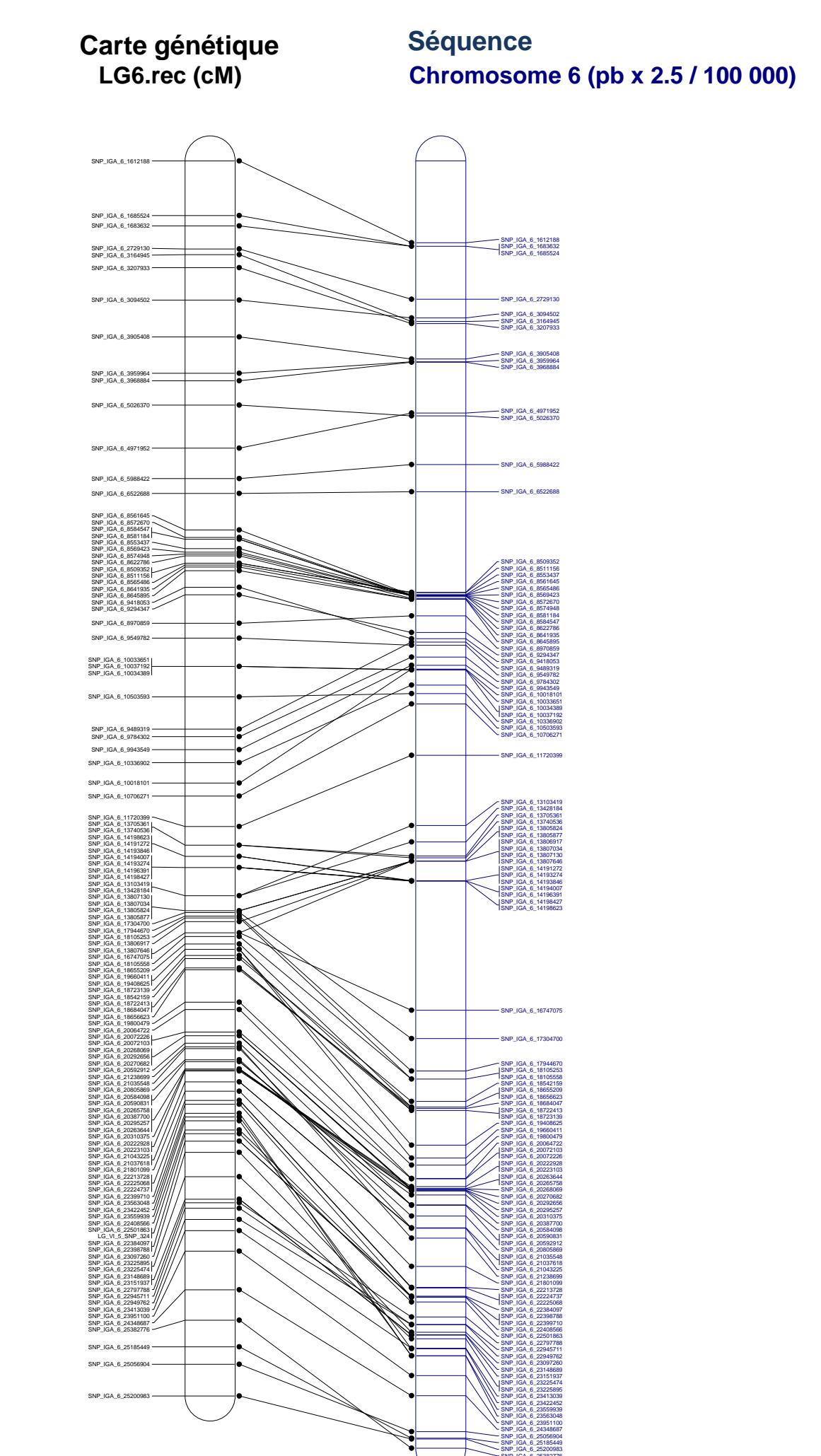


Figure 5 Carte génétique du chromosome 6 (à gauche) et position des marqueurs SNP utilisés sur la séquence (à droite).

## Références

- Faivre Rampant P., Zaina G., Scalabrin S., Jorge V., Segura V., Guérin V., Paulsthenraj P., Giacometti S., Bitton F., Alouane C., Le Paslier MC., Brunel D., Viger M., Payne A., Bastien C., Taylor G., Morgante M. (2012) Development and validation of a 12K SNP chip genotyping array for association genetics in *Populus nigra* using genome-wide resequencing data. Poster at the Final Conference NovelTree, Tree Breeding, Genomics and Evolutionary Biology: New synergies to tackle the impact of climate change in the 21 st century, 16-17 October 2012, Helsinki, Finland.
- Novaes E., Osorio L., Drost D.R., Miles B.L., Boaventura-Novaes C.R.D., Benedict C., Dervinis C., Yu Q., Sykes R., Davis M., Martin T.A., Peter G.F., Kirst M. (2009) Quantitative genetic analysis of biomass and wood chemistry of *Populus* under different nitrogen levels. *New Phytologist* 182:878-890.
- Yin T.Y., Zhang X.Y., Gunter L., Priya R., Sykes R., Davis M., Wullschleger S.D., Tuskan G.A. (2010) Differential detection of genetic loci underlying stem and root lignin content in *Populus*. *Plos One* 5.

## Remerciements

- Les résultats présentés ont été financés par l'INRA (AIP Bioressources 2011) et la Communauté Européenne dans le 7ème programme cadre (FP7/ 2007-2013, projets n° 211868 – NOVELTREE et n° 211917 - ENERGYPOLAR), l'ANR (TreeForJoules n°2010-KBBE-00702) et la Région Centre (Projet 2008-2012 AMC2B).

## Conclusions et perspectives

Le projet REGEX a permis la mise au point de la technique ChIP-SEQ sur des cellules de jeune xylème de peuplier et d'identifier plus de 500 cibles de régulation potentielles. Il a permis également de mettre en évidence des différences d'accumulation de micro ARN entre bois de tension et bois opposé ainsi que des micro ARN non encore identifiés et/ou spécifiques d'un génotype donné. Enfin, il a permis d'acquérir des données de génotypage qui permettront d'établir des cartes génétiques denses et représentatives afin de cartographier des QTL non seulement pour les propriétés chimiques du bois mais aussi pour d'autres caractères d'intérêt. Cet ensemble de données permettra d'identifier les gènes et les réseaux de régulation impliqués dans la variation des propriétés du bois.