



HAL
open science

Effet du stress osmotique sur la croissance racinaire du peuplier : approche par génomique fonctionnelle à l'échelle de la zone de croissance

Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, Aude Hummel, Sébastien Duplessis,
Annegret Kohler

► To cite this version:

Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, Aude Hummel, Sébastien Duplessis, Annegret Kohler. Effet du stress osmotique sur la croissance racinaire du peuplier : approche par génomique fonctionnelle à l'échelle de la zone de croissance. IFR 110, Nov 2006, Nancy, France. 17 p. hal-02812516

HAL Id: hal-02812516

<https://hal.inrae.fr/hal-02812516>

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.

Effet du stress osmotique sur la croissance racinaire du peuplier : approche par génomique fonctionnelle à l'échelle de la zone de croissance

*Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, Aude Hummel
Sébastien Duplessis, Annegret Kohler*

Introduction

Tolérance à la sécheresse :

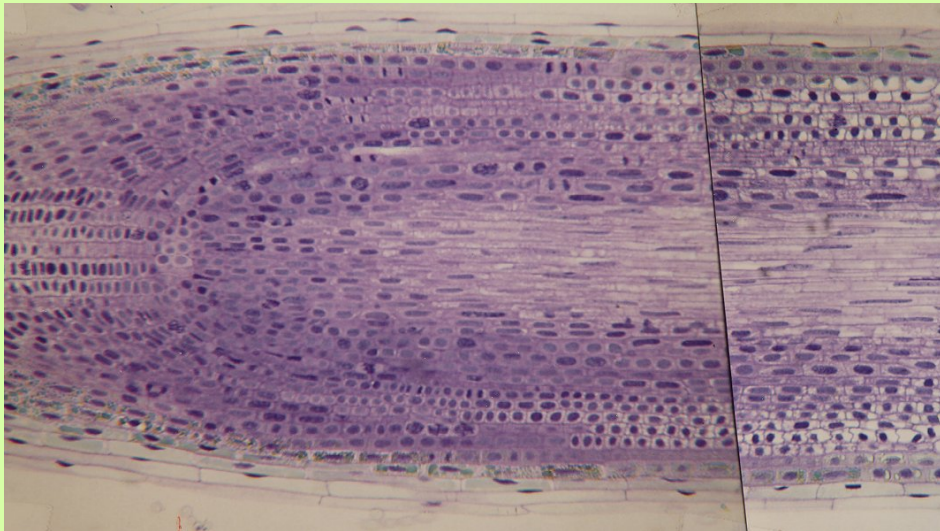
- maintenir son **statut hydrique** (potentiel hydrique) de façon à :
 - maintenir de la croissance
 - éviter de passer en dessous d'un potentiel critique (cavitation)
 - survivre

- ↪ Maintenir un ratio gains/pertes d'eau le moins défavorable (absorption/évaporation)
 - limiter les pertes par la fermeture stomatique
 - maximiser l'absorption par
 - maintien du potentiel d'absorption
 - ↪ maintien/augmentation du volume de sol exploité par les racines : **maintien de la croissance racinaire** (au moins tant que le déficit hydrique n'est pas trop fort)

Introduction

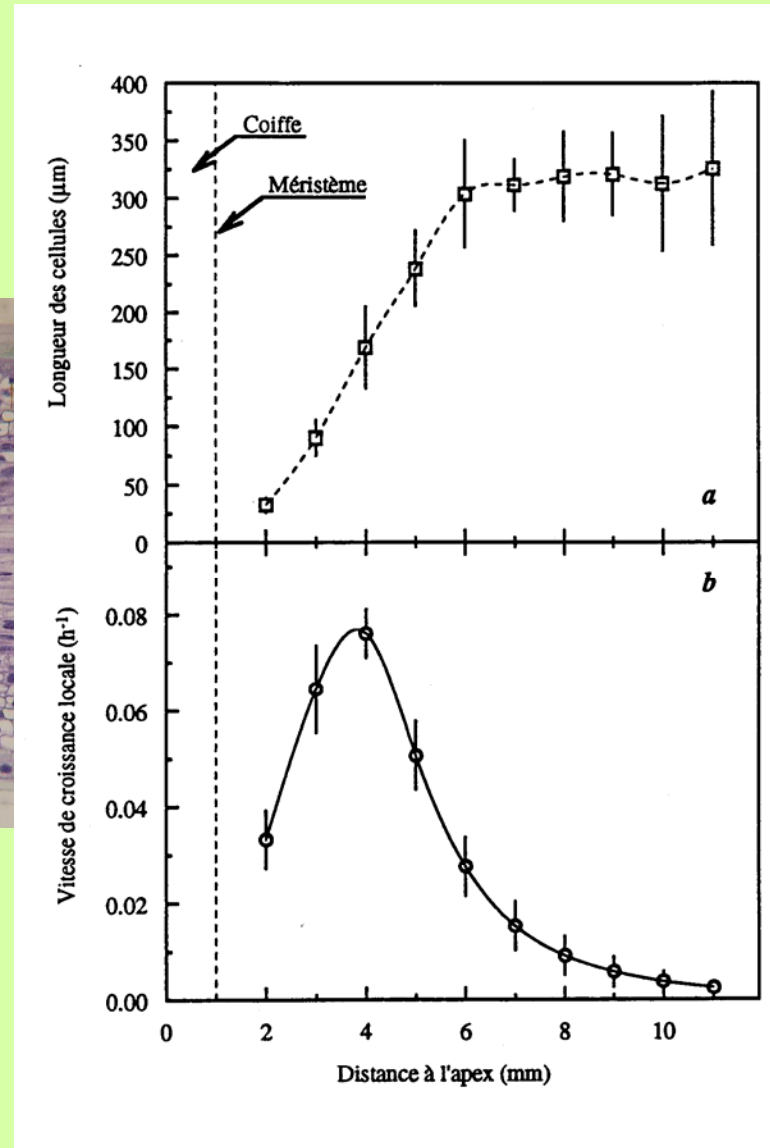
➤ L'élongation racinaire

- dans l'apex
- = divisions + élongation cellulaire
- CL d'apex de racine : zone d'élongation



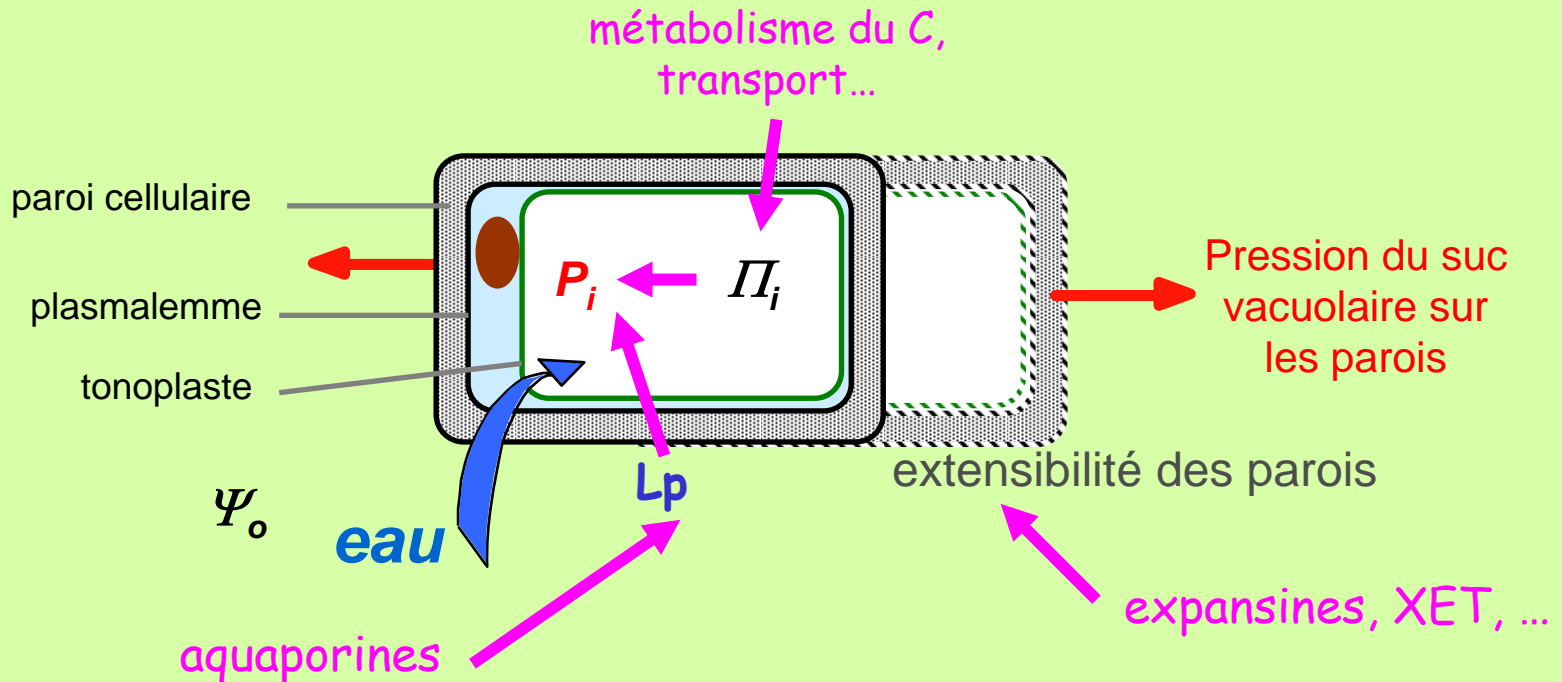
➤ Etude cinématique :

- taille de zone de croissance
- Vitesse de croissance locale (VCL): diffère le long de cette zone de croissance



Introduction

- modèle biophysique de l'élongation cellulaire : 3 paramètres
 - moteur : pression de turgescence
 - contrôle : extensibilité des parois & conductance hydraulique membranaire



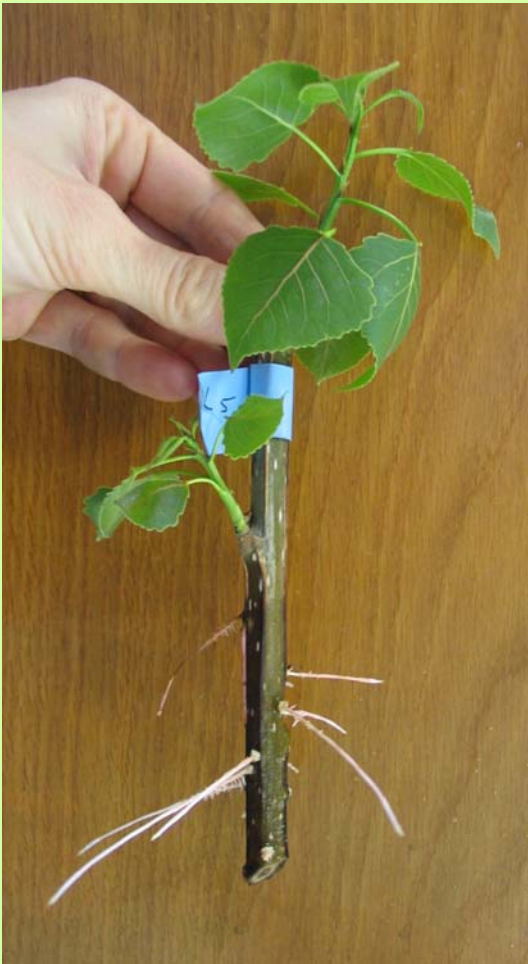
- effets du déficit hydrique sur ces paramètres via une régulation génique ?

Questions

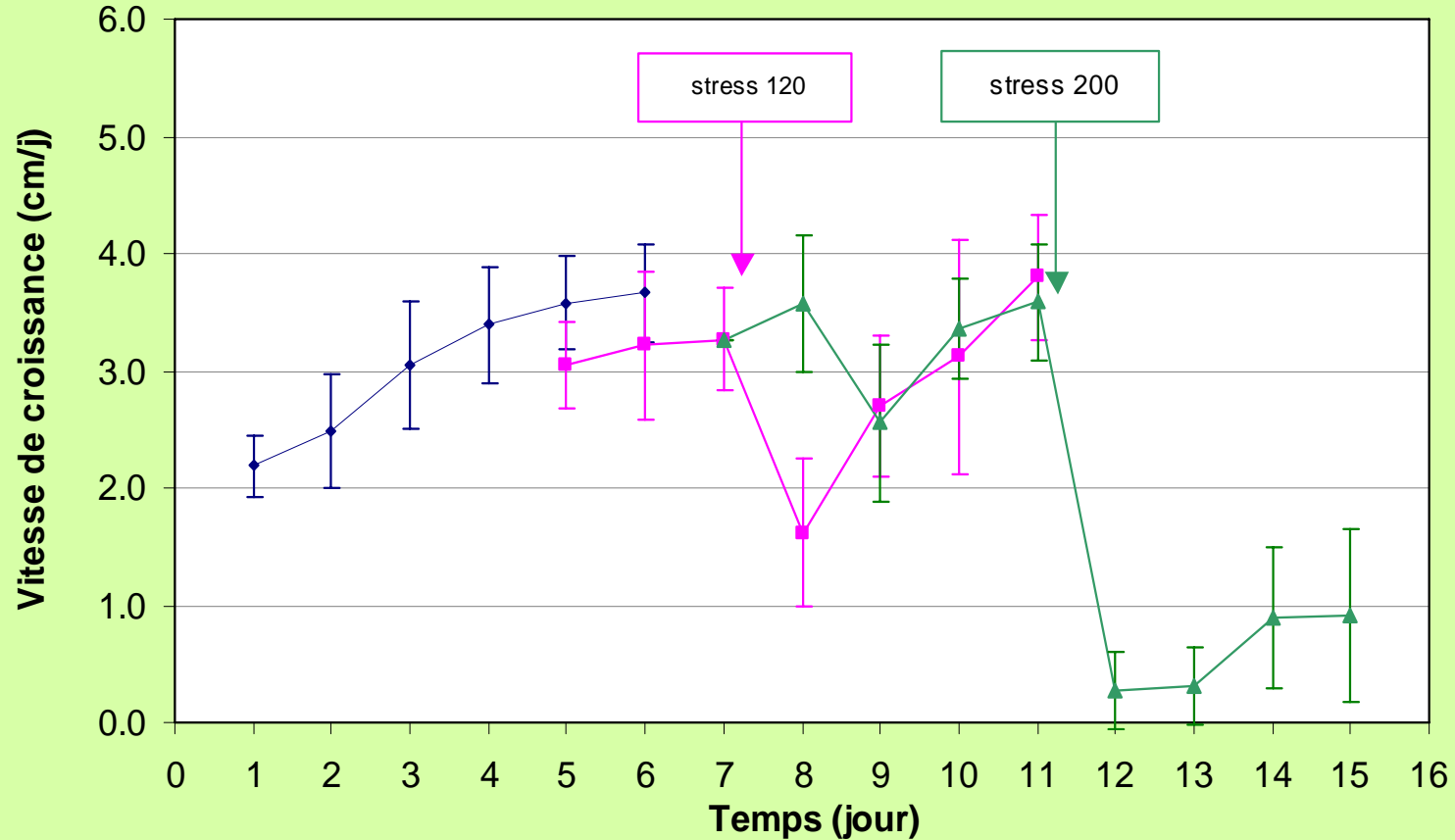
- Quel est l'impact de différents niveaux de stress osmotique sur croissance racinaire de peuplier?
- Est-il possible de faire des analyses de l'expression du génome à une échelle *infra* zone de croissance?
- Quels sont les gènes dont l'expression est affectée par le stress osmotique ?
 - identification de régulons
 - sélection de gènes d'intérêt
 - différence d'expression selon la position dans la zone de croissance

Matériel et méthodes

- *Populus deltooides x nigra* cv Lambro
- culture hydroponique
- bouture de 3 semaines
- racines âgées de 5-15 jours
- stress osmotique à base de PEG 3350, 2 niveaux:
 - 120 g/l : ~ -2.5 bar
 - 200 g/l : ~ -6.5 bar
- mesure quotidienne de la longueur des racines avec un réglet
- récolte d'échantillons pour analyse de VCL, qPCR et réseaux d'ADNc

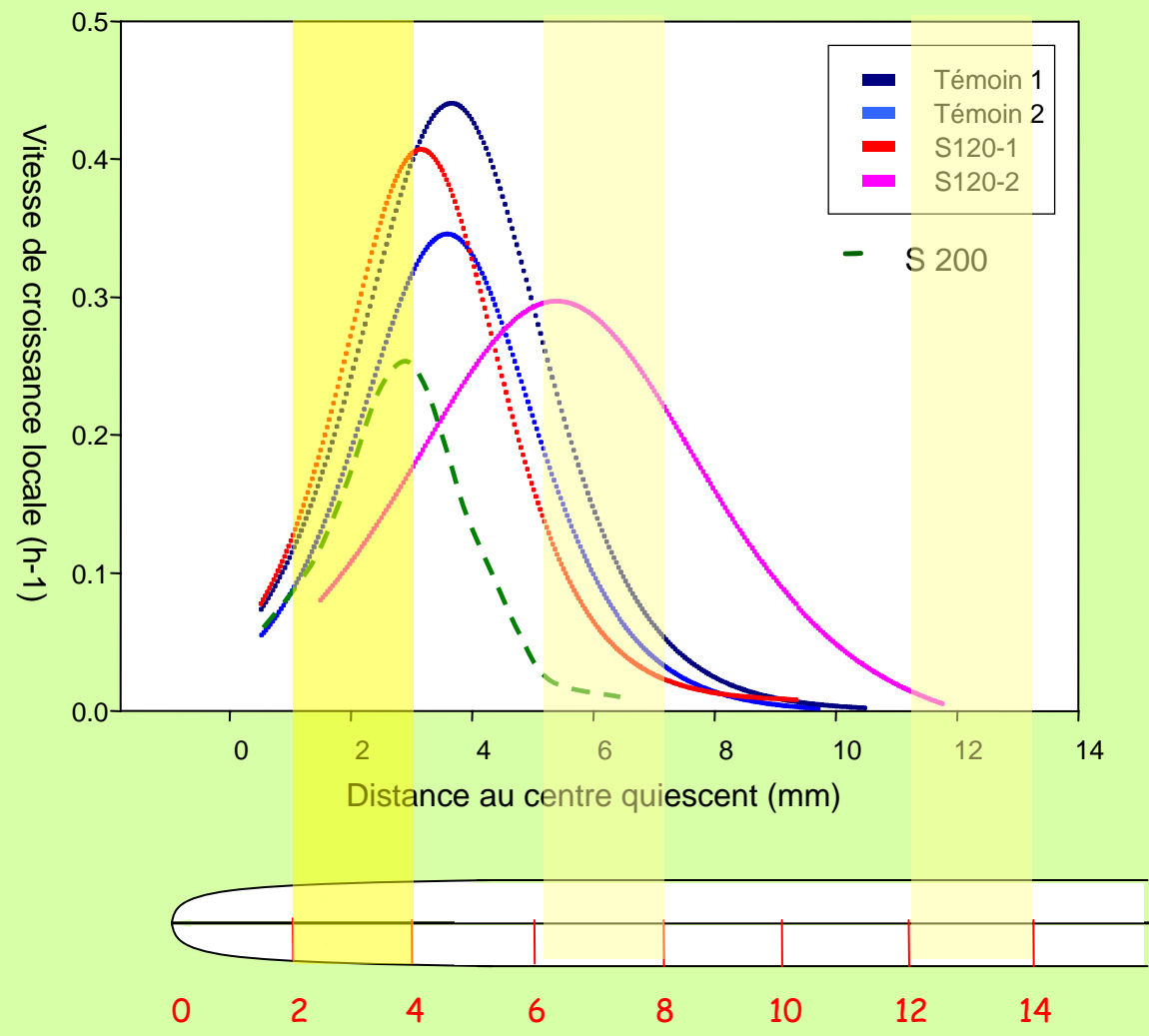


Vitesse de croissance de la racine



- ➡ 120g/l PEG : chute puis récupération complète après 4 jours
- ➡ 200g/l PEG : chute plus forte et récupération très partielle

Profil de vitesse de croissance relative

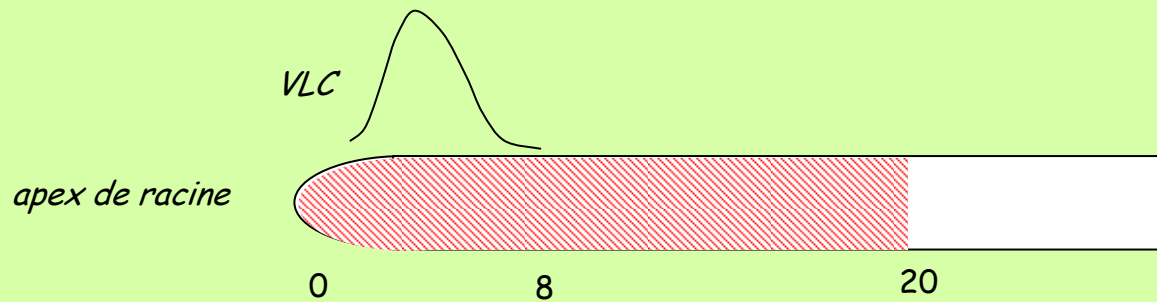


Démarche

OBJECTIF : analyse du transcriptome (via réseaux d'ADNc) sur des petits échantillons (d'1 mg à un contenu cellulaire (!))

- tester l'extraction et dosage des ARN sur des mini-échantillons
 - qPCR sur 5 gènes choisis (fortement exprimés dans la racine principale et régulés pendant le développement racinaire; Kohler et Martin, non publié)
 - Specific Tissue Protein
 - Acide Phosphatase
 - Protéine BURP
 - Aquaporine TIP
 - Major Latex-Like Protein
 - établir le niveau d'expression dans un échantillon de taille 'classique'
 - apex entier : 20 mm long x 3 = 90 mg MF
 - tester l'extraction ARN sur mini-échantillons et mesurer le niveau d'expression dans ces 'mini' échantillons
 - 1/2 cylindre de 1 mm diamètre, 2 mm long : 1 à 2mg MF
 - comparer expression de ces 5 gènes sur ces 2 types d'échantillons
 - si OK:
- extraire ARN de mini-échantillons, amplification et analyse de l'expression des gènes sur réseaux d'ADNc.

Récolte d'échantillons dit 'macro'

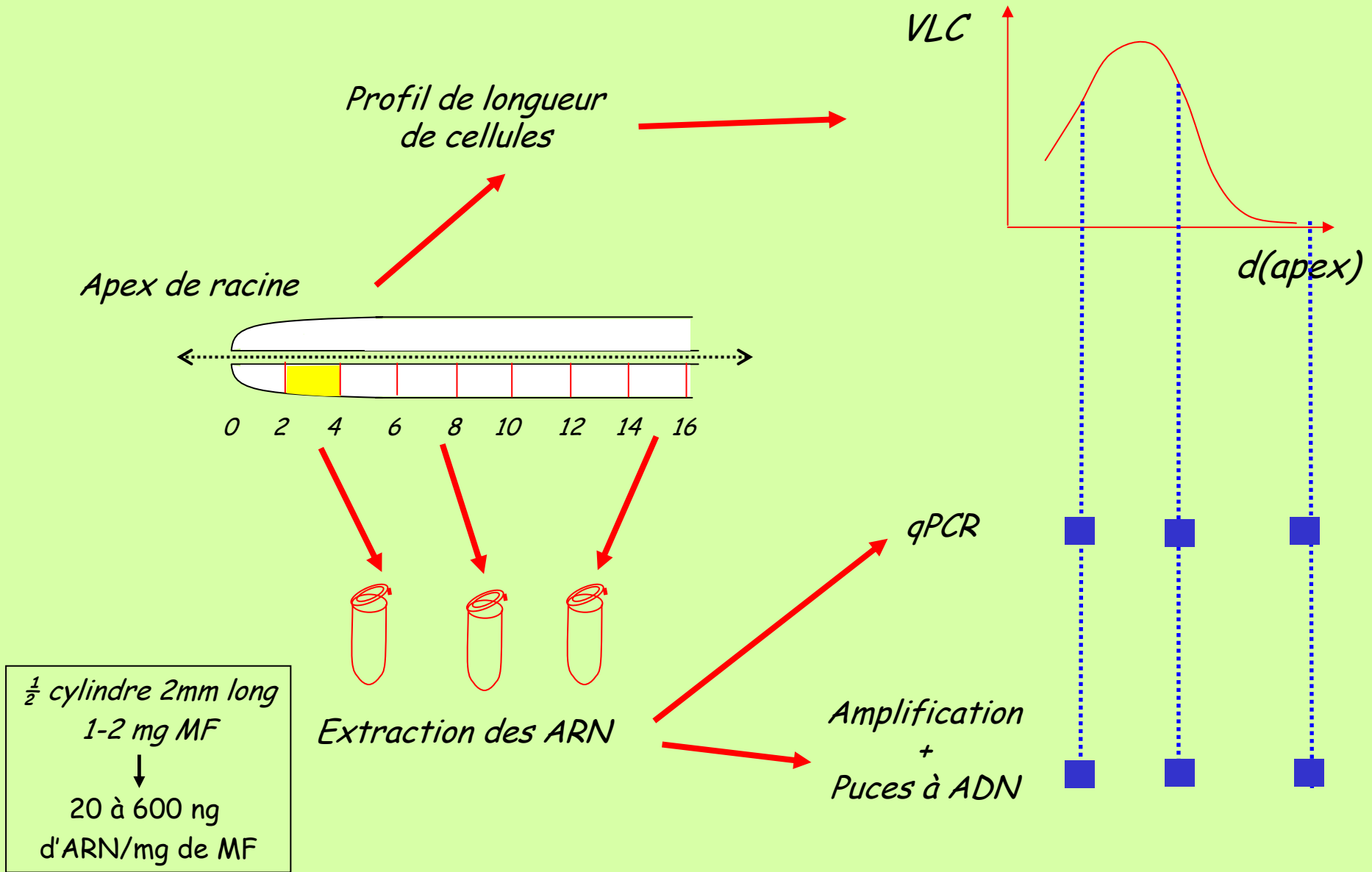


1 échantillon 'macro' = 3 apex de 20 mm de long
 $3 \times 25-30 \text{ mg} = 70-90 \text{ mg MF}$

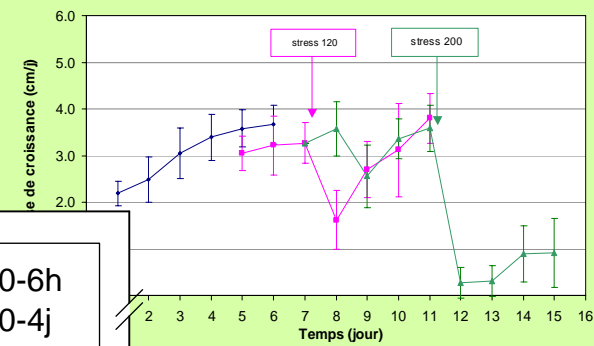
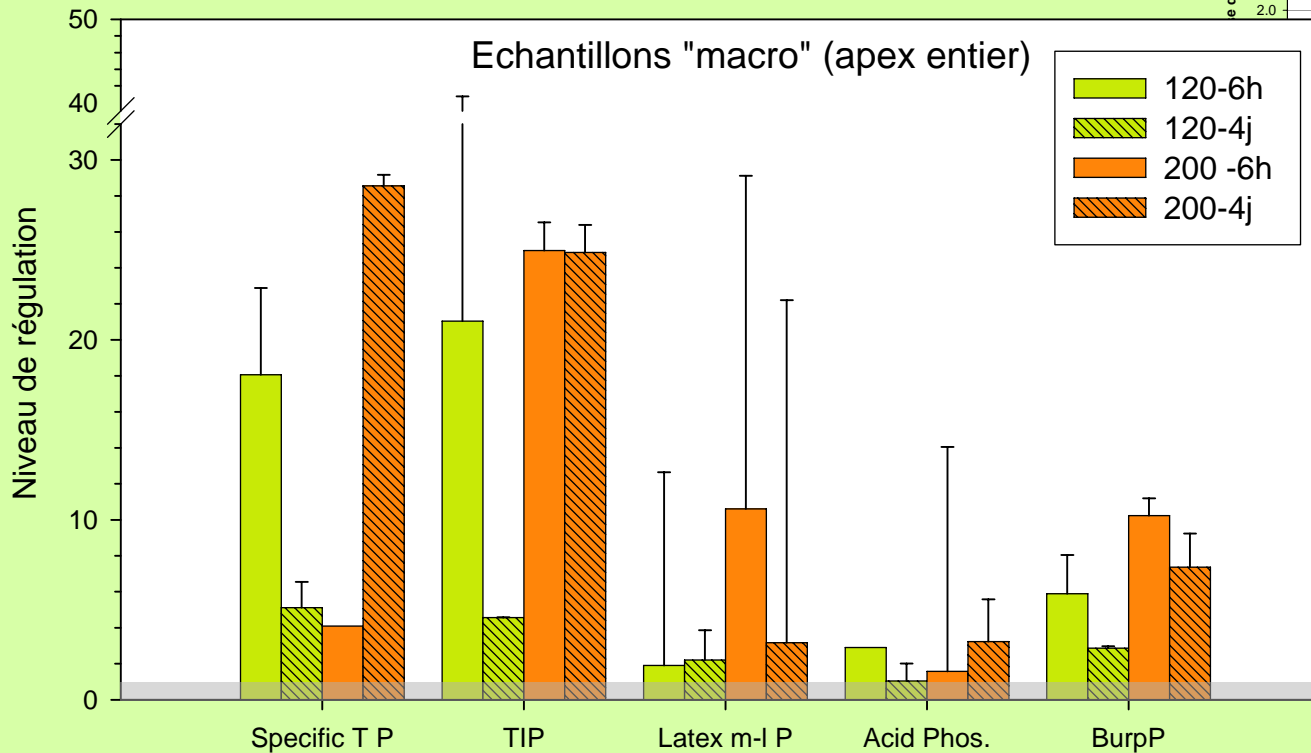
Extraction

↓
100 à 1000 ng d'ARN / mg MF

Récolte d'échantillons dit 'mini'



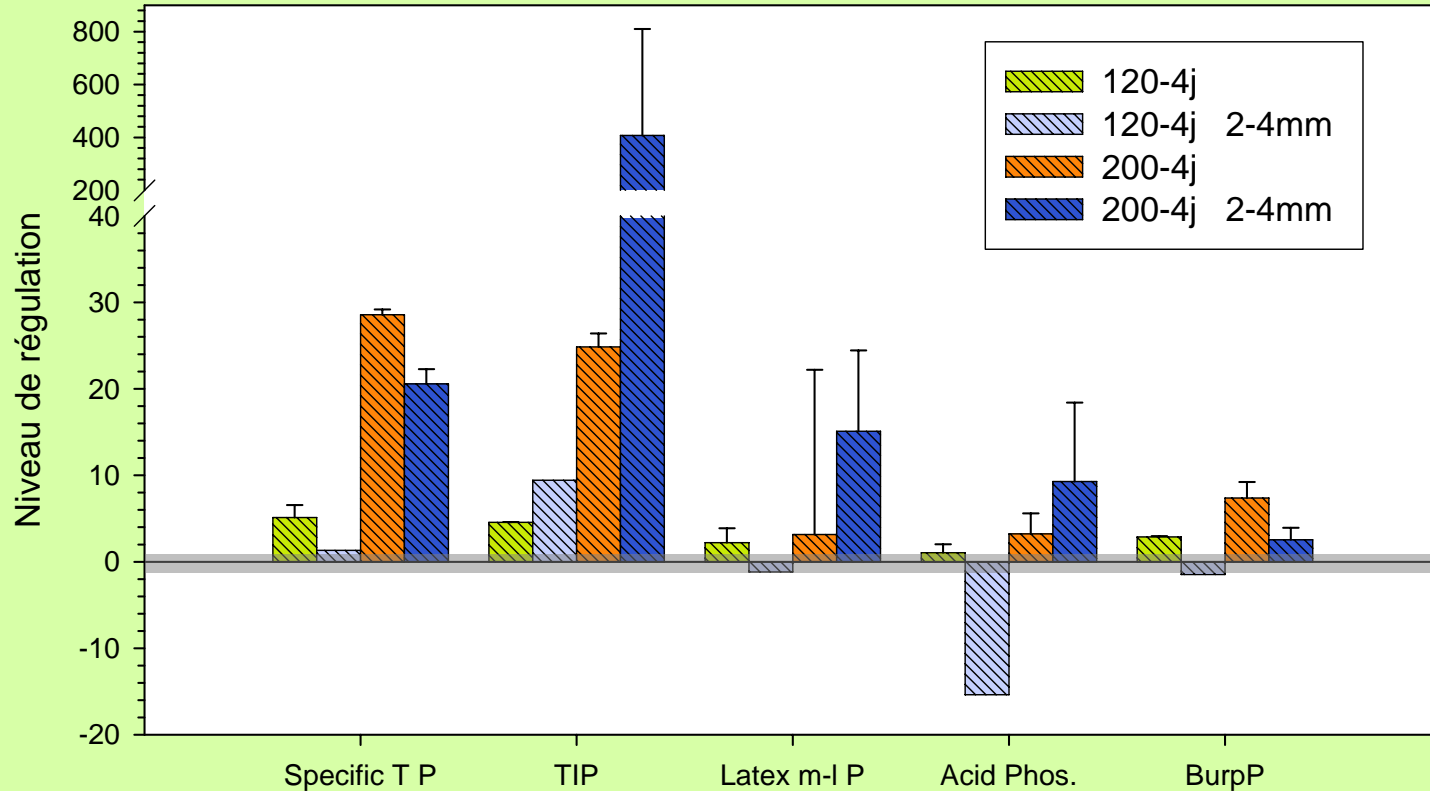
Expression dans l'apex entier (qPCR)



- ☞ stimulation de l'expression pour Spé , TIP et Burp P
- ☞ stress 120-6h, 200-6h et 200-4j : croissance fortement réduite ET forte accumulation des transcrits de Spé, TIP et Burp
- ☞ stress 120-4j : vitesse de croissance restaurée ET accumulation moins forte des transcrits

Expression dans l'apex entier / dans les 2mm apicaux

Comparaison apex entier- zone 2-4 mm

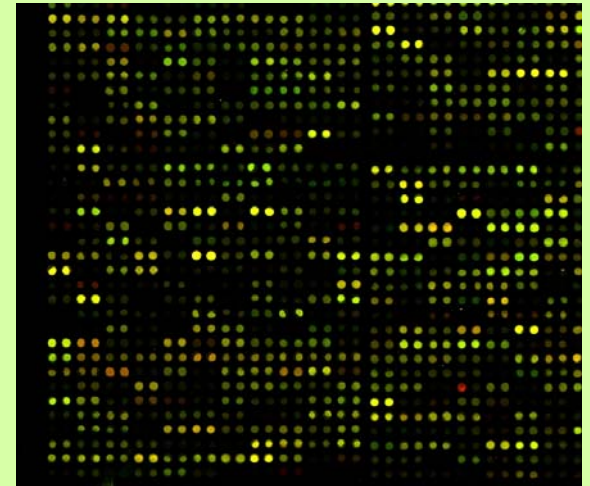


- 👉 corrélation 'macro'-'mini' non nécessaire
- 👉 mini-échantillons : problèmes fréquents avec ligne de base
 - 👉 quantité d'ARN? limite de détection?
- 👉 tests préliminaires OK

Analyse sur réseau d'ADNc

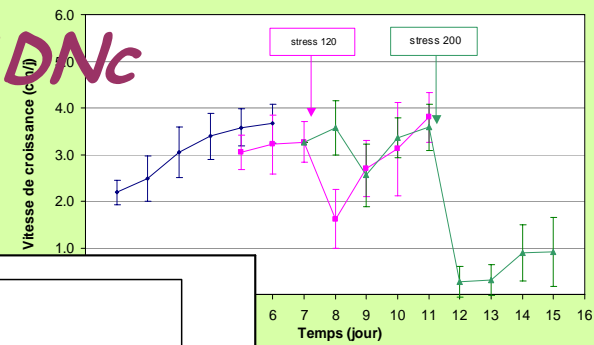
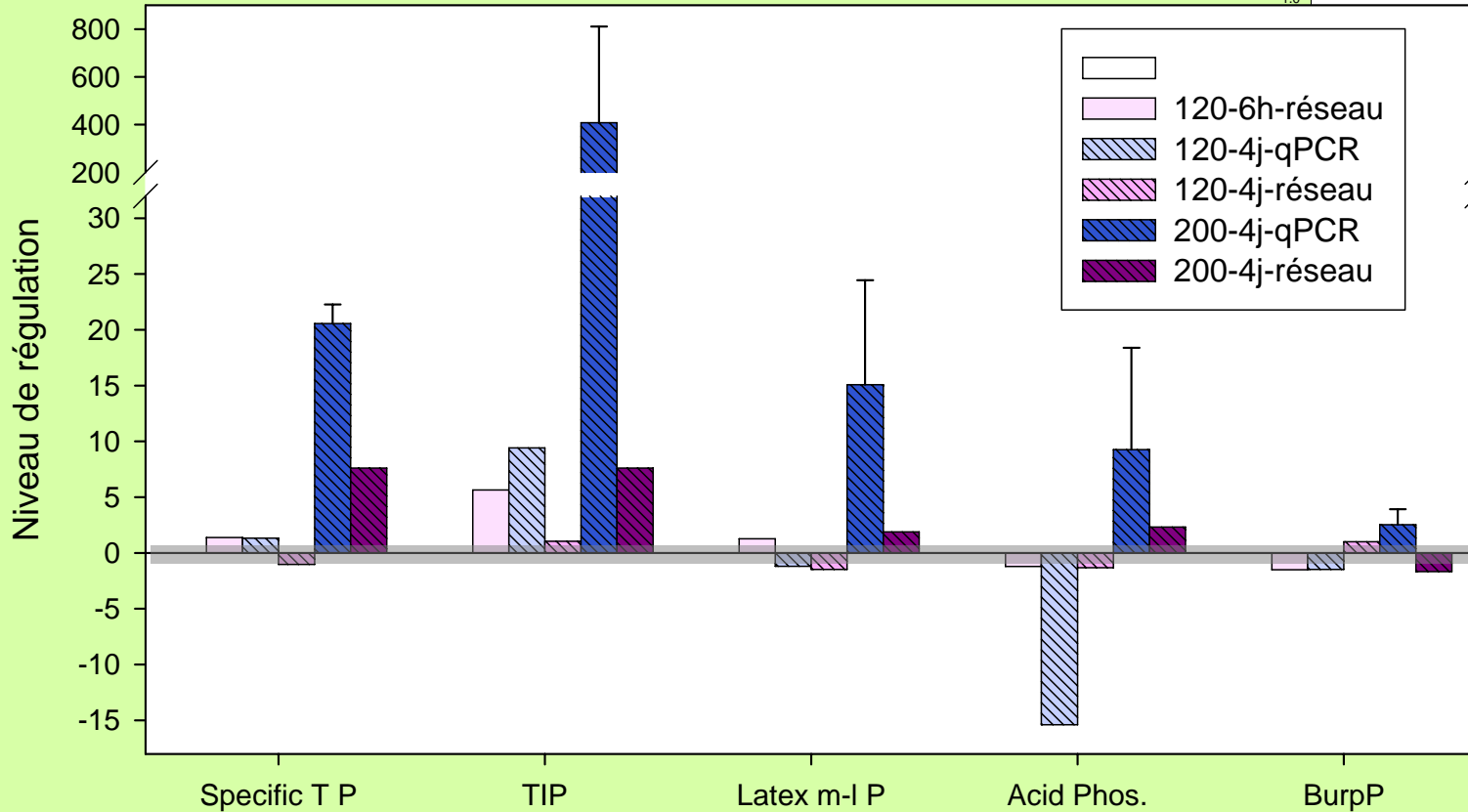
- zone 2-4 mm d'un apex racinaire : 1-2 mg de MF
- Extraction : Picopure
- Amplification : Riboamp (1 ou 2 cycles selon la quantité initiale)
- Réseau de 15k : 7500 EST dupliquées de racines, feuilles et bois de 2 génotypes de peuplier (*P. trichocarpa x deltoides* et *P. tremula x tremuloides*) correspondant à ~4600 gènes modèles de *P. trichocarpa* (Tuskan et al, 2006)

- 1 répétition de S120 - 6h
 - 2 répétitions de S120 - 4j
 - 2 répétitions de S200 - 4j
- versus 1 pool
de 6 témoins



Expression génique : qPCR / réseau d'ADNc

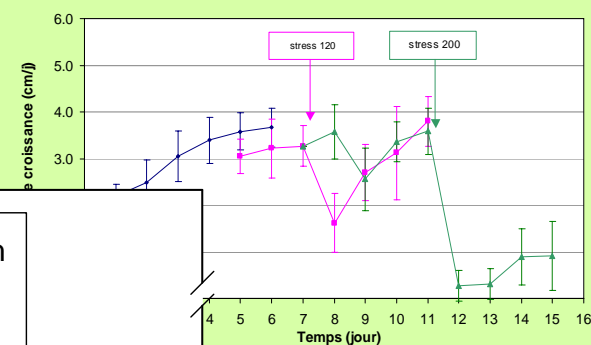
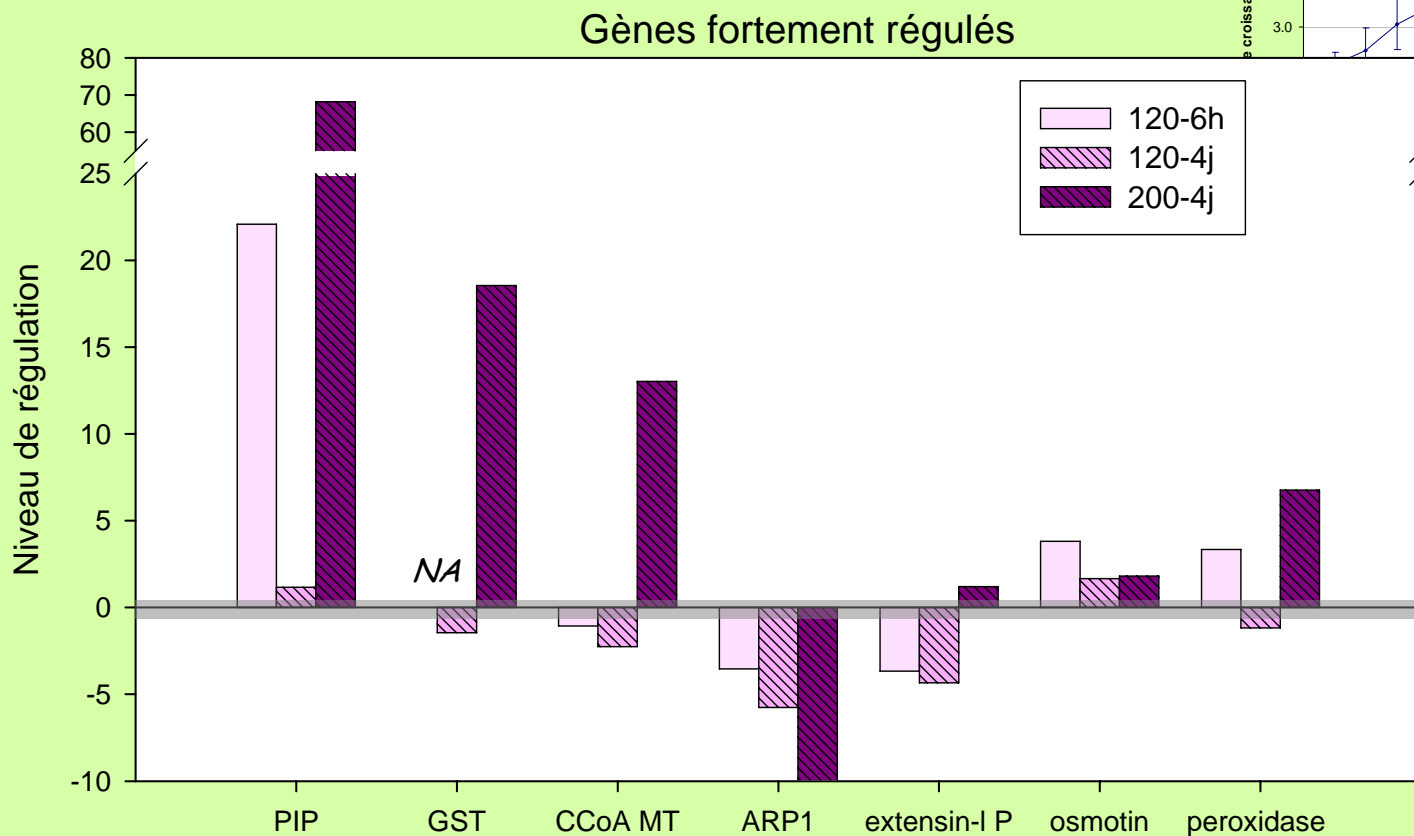
Comparaison RT qPCR - réseau ADNc



☞ ça marche !

☞ les 5 gènes : qualitativement identique, quantitativement différent

Exemple de gènes fortement régulés



- 👉 aquaporine PIP : réponse qualitativement proche de celle de TIP
- 👉 autres gènes fortement régulés : souvent impliqués dans la réponse aux stress biotiques ou abiotiques
 - stress osmotique : osmotine
 - stress hydrique : GST, osmotine, ...
 - réponse hormonale : ARP1

Conclusions et perspectives

☞ Ça marche !

- Extraction
- Amplification
- Expression par qPCR et réseaux d'ADNc
- réseaux d'ADNc : résultats récents : analyse plus complète à venir ...

Futur:

- analyse de l'expression génique dans d'autres zones
 - fin de la zone de croissance (6-8 mm)
 - zone mature
- plus de répétitions
- diminuer encore la taille des échantillons : microdissection laser