

Approches écophysiologique et génomique de la réponse à la sécheresse de *Populus euphratica*

Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, Didier Le Thiec, Erwin Dreyer

► **To cite this version:**

Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, Didier Le Thiec, Erwin Dreyer. Approches écophysiologique et génomique de la réponse à la sécheresse de *Populus euphratica*. IFR 110. Séminaire d'inauguration, Apr 2005, Nancy, France. 17 p. hal-02825470

HAL Id: hal-02825470

<https://hal.inrae.fr/hal-02825470>

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.

Approches écophysiological et génomique de la réponse à la sécheresse de *Populus euphratica*

Marie-Béatrice TRIBOULOT-BOGEAT
UMR INRA-UHP EEF, INRA Nancy

Projet européen ESTABLISH

Plan

1. Préambule
2. Exemple de la manip transcriptomique - sécheresse sur *Populus euphratica*
3. Richesses et difficultés de la transcriptomique
4. Conclusions

Génomique ... fonctionnelle

- Génomique structurale : structure du génome, inventaire des gènes présents

- Génomique fonctionnelle : étude de la régulation des gènes, réseaux, interactions (biologie intégrative)
 - lien avec le phénotype, l'écophysiologie

- Contient les outils :
 - transcriptomique,
 - protéomique,
 - métabolomique, ...

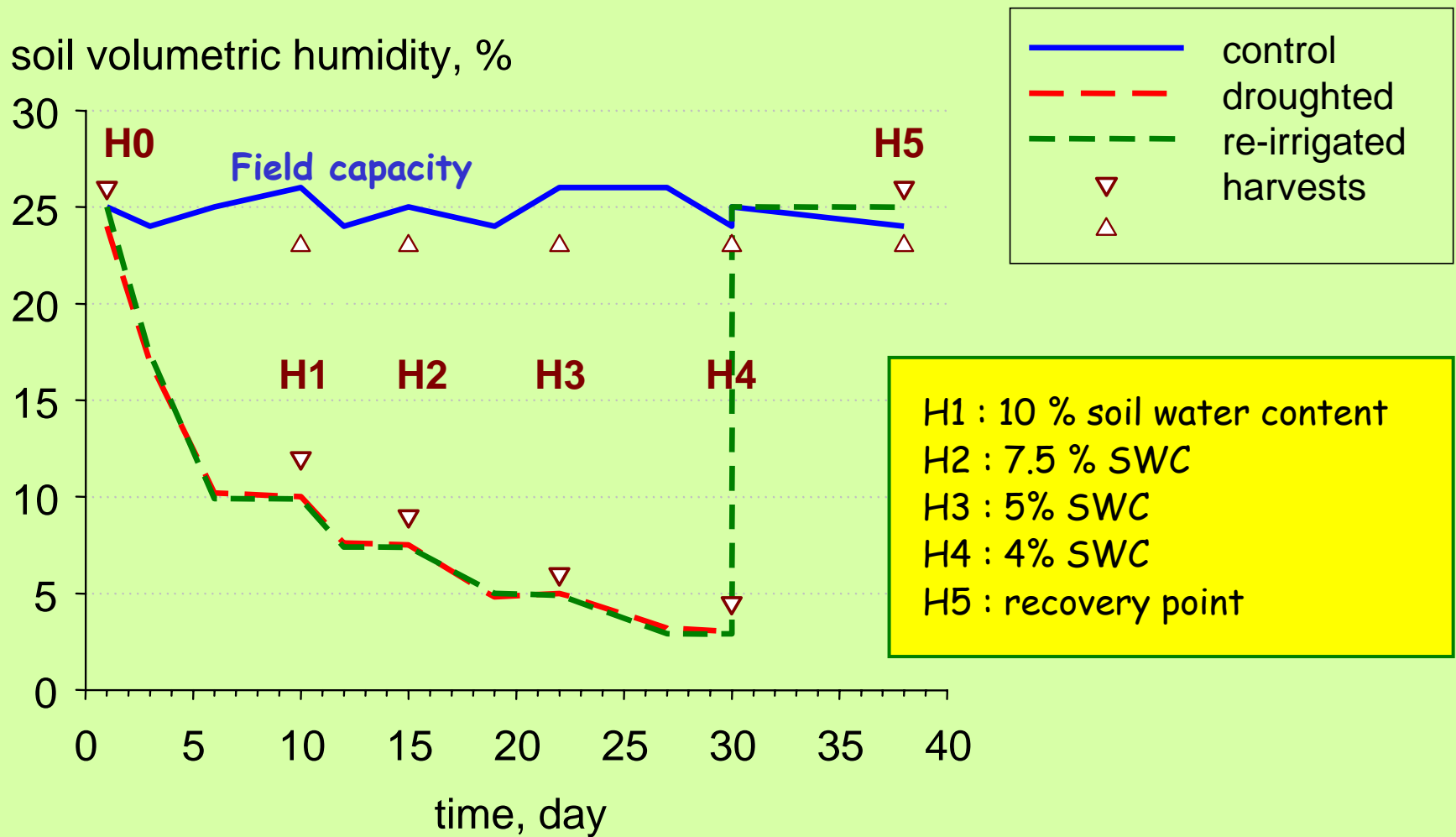
- notion de haut-débit

Expérimentation Sécheresse EST-Ecophysio (Establish)

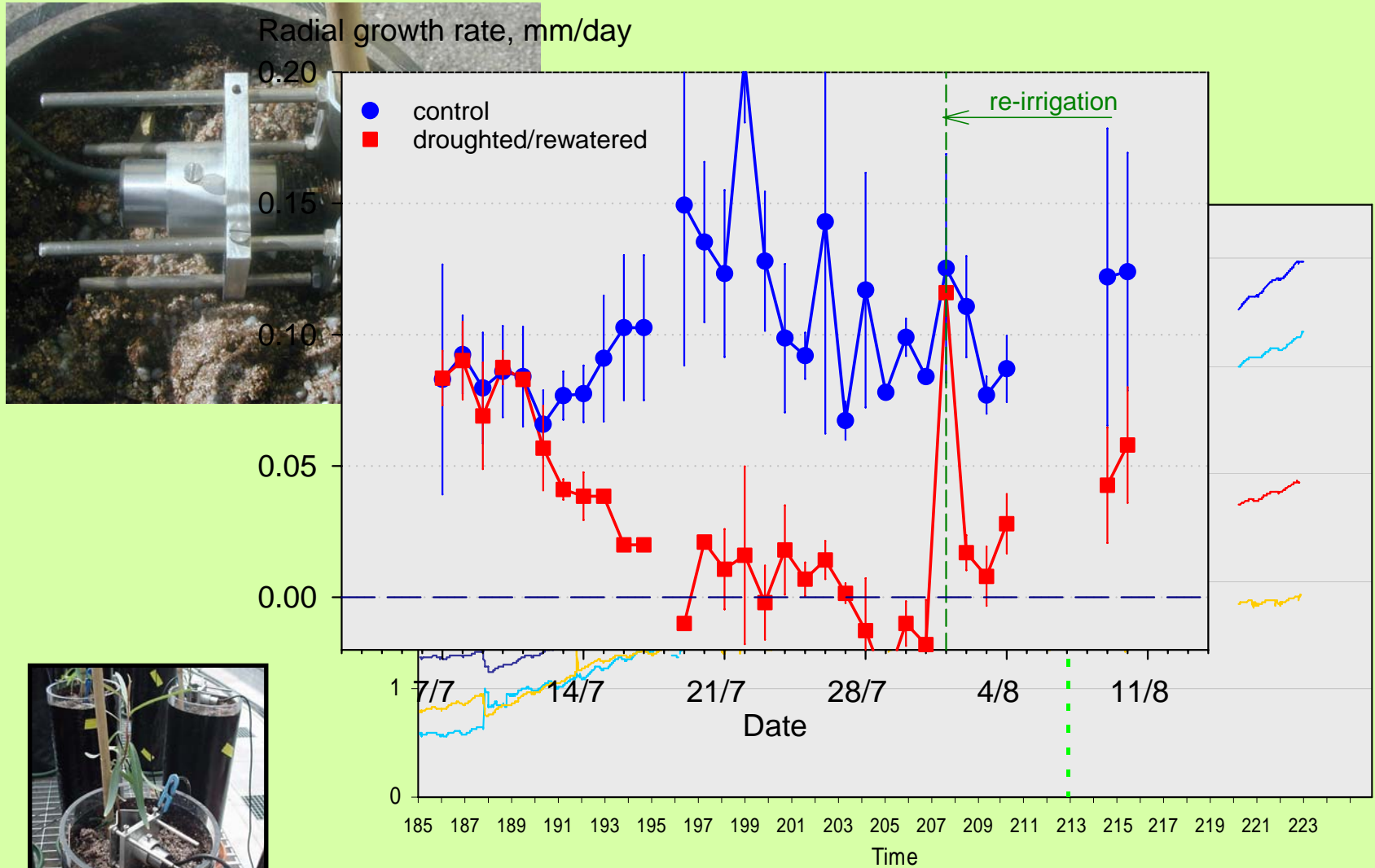
- Mettre en parallèle la réponse physiologique (croissance, échange gazeux, statut hydrique) et les **variations du transcriptome** au cours d'une sécheresse d'intensité croissante
- *Populus euphratica*, phréatophyte, non résistant à la sécheresse...
- Question : gènes impliqués dans la réponse à la sécheresse de *Populus euphratica*?
 - chronologie des perturbations physiologiques
 - relier perturbations physiologiques et expression des gènes



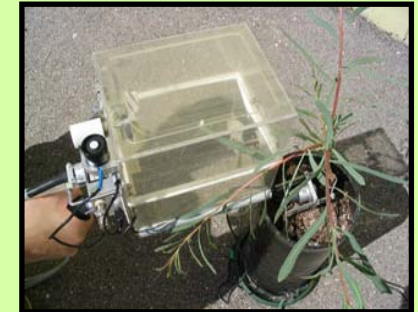
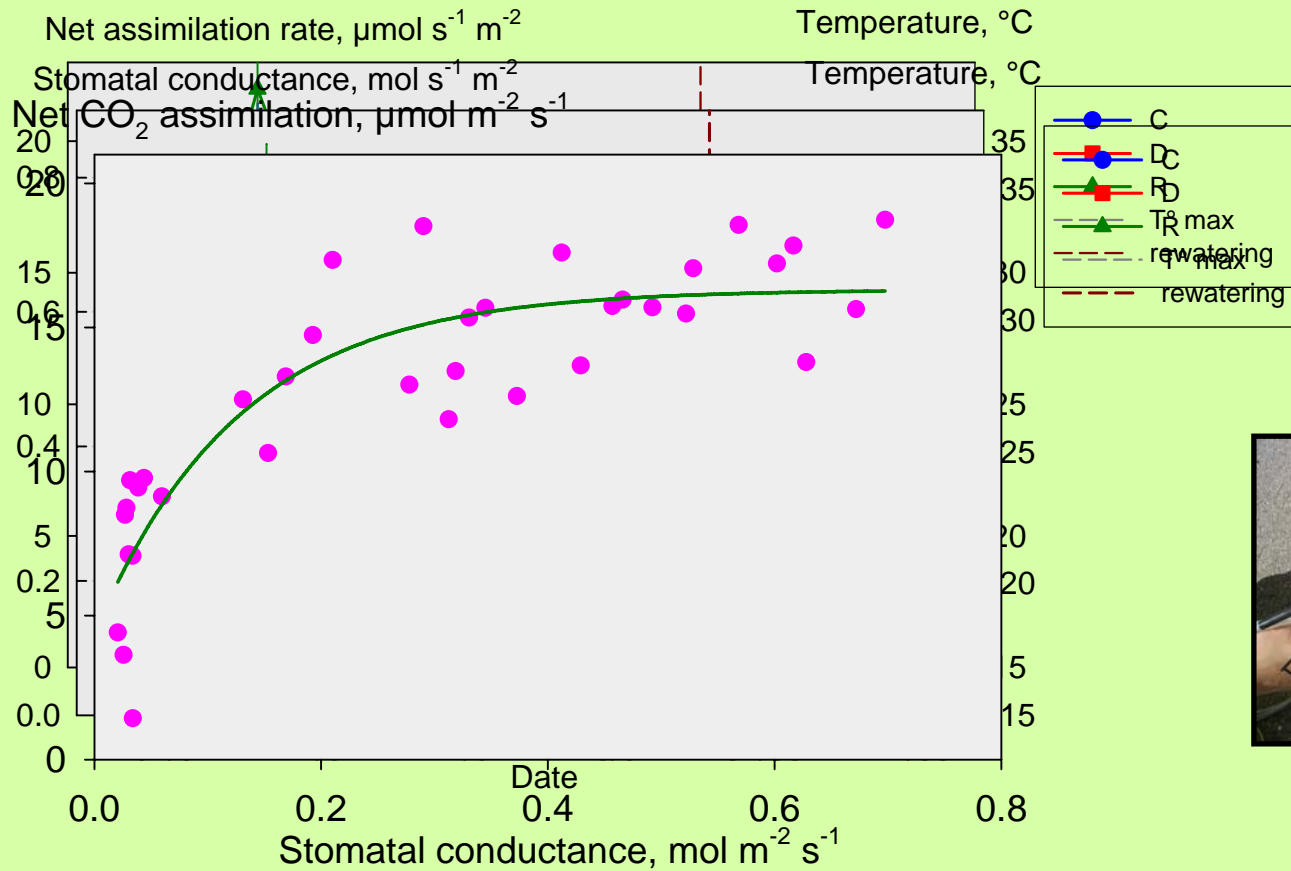
L'expérience



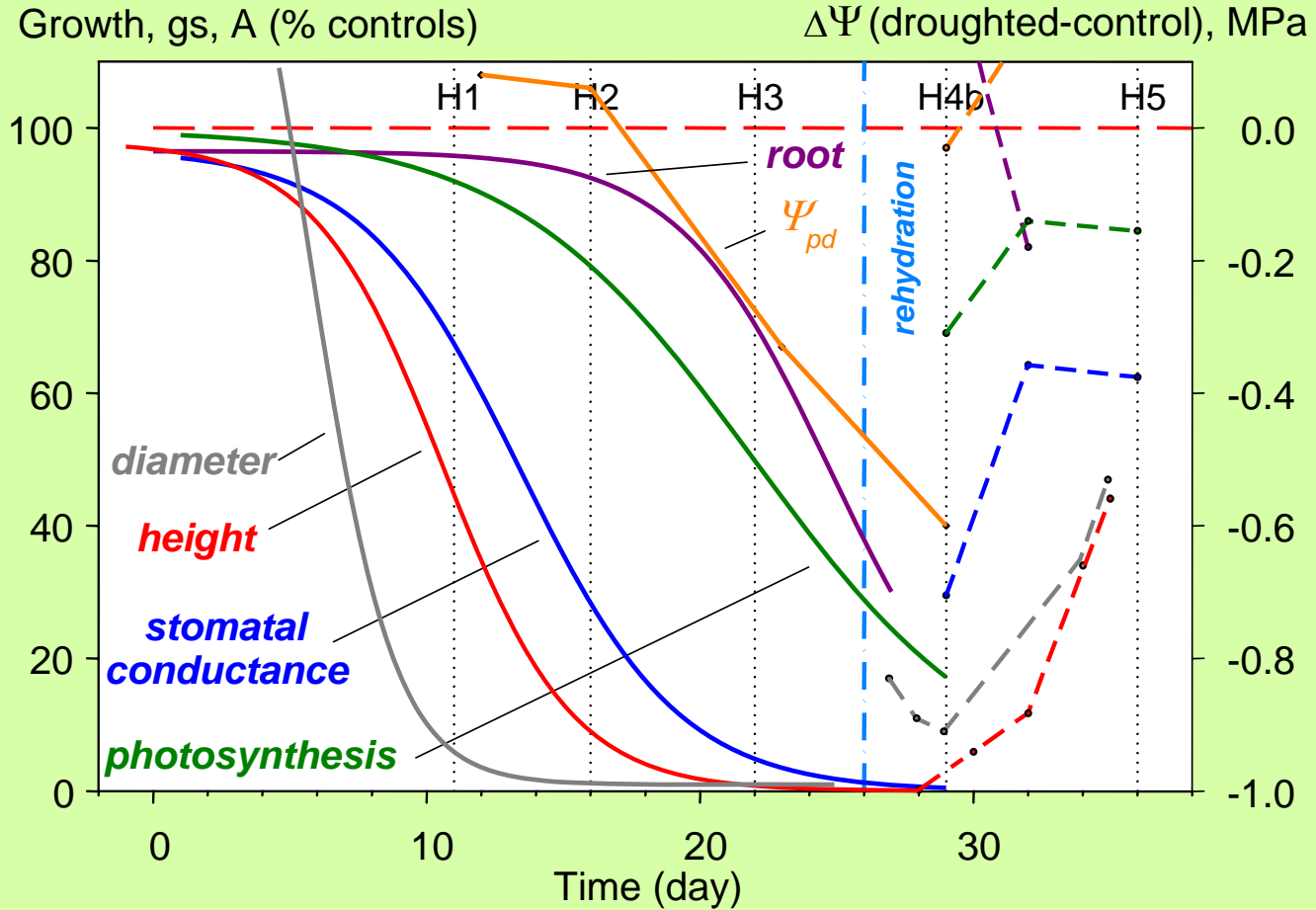
Réponse écophysio : croissance en diamètre



Réponse écophysio : échange gazeux

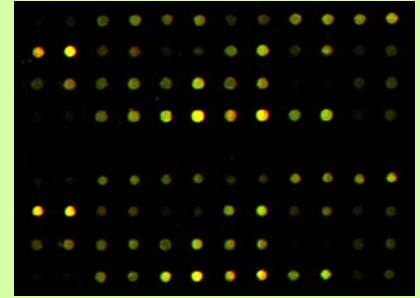


Réponse écophysiological : synthèse

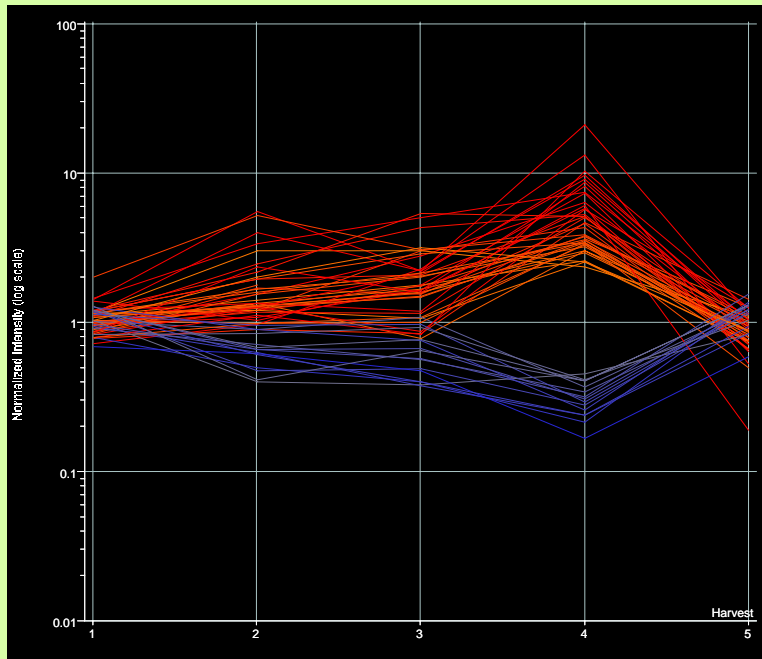


Réponse du transcriptome

puce contenant 7500 gènes
séquences et annotations sur <http://sputnik.btk.fi/>

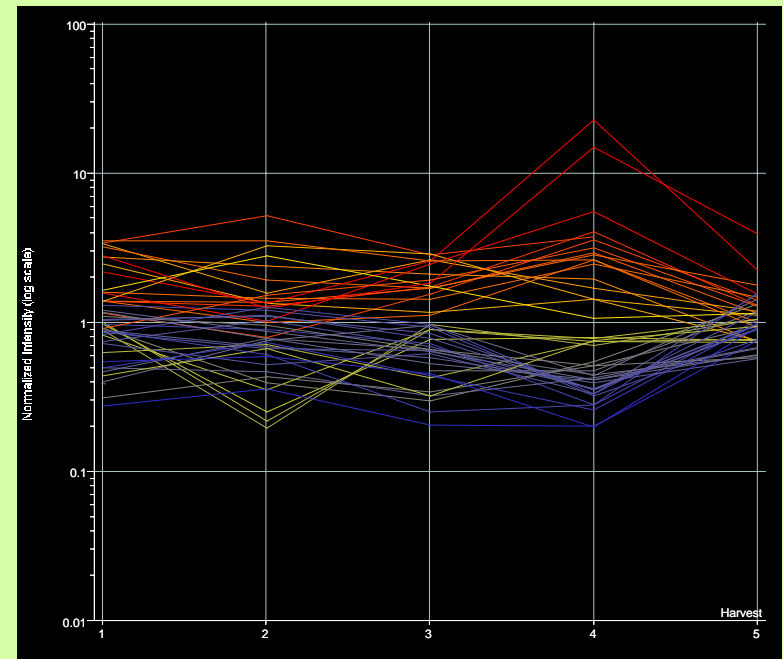


Feuilles



H1 H2 H3 H4 H5
RWC: 10% 7.5% 5% 4% rehy

Racines



H1 H2 H3 H4 H5

Les transcrits surexprimés ... et sous exprimés

LEAF													
GenBank ID	Gene	GO Slim Biological process	Harvest 1	p-value	Harvest 2	p-value	Harvest 3	p-value	Harvest 4	p-value	Harvest 5	p-value	
AJ777138	Asparagine synthetase	Metabolism	2.18	0.03	5.50	0.02	2.20	0.01	20.99	0.00			
AJ777261	Asparagine synthetase	Metabolism	1.63	0.02	3.97	0.02	2.20	0.00	9.13	0.00			
AJ768695	Alcohol dehydrogenase	Metabolism	1.91	0.01	2.01	0.01	3.17	0.00	2.54	0.02			
AJ779722	Cold-regulated LTCOR12	Response to abiotic or biotic stimulus	3.85	0.00	5.22	0.00	3.08	0.00	3.85	0.01			
AJ779749	Expressed protein	Biological process unknown	2.33	0.01	3.34	0.00	5.06	0.00	7.48	0.00			
AJ775902	Thioredoxin H	Electron transport	2.24	0.00	2.71	0.00	3.65	0.00	2.60	0.00			
AJ780649	Sucrose synthase	Carbohydrate metabolism			1.70	0.01	1.54	0.05	4.58	0.00			
AJ780505	Expressed protein		H1	p-value	H2	p-value	H3	p-value	H4	p-value	H5	p-value	
AJ776822	Anti-bacterial protein	Transcription	0.63	0.05		0.02	0.36	0.03		0.00			
AJ767666	Proline-rich cell wall protein	Cell growth and/or maintenance	0.71	0.04	0.57	0.00	0.31	0.01	0.32	0.00	1.61	0.02	
AJ771377	Putative phenoloxidase	Metabolism				0.40	0.01		0.46	0.02			
AJ772352	Proline-rich protein	Biological process unknown				0.41	0.01		0.40	0.02			
AJ770334	Protein phosphatase and calmodulin-reg	Response to abiotic or biotic stimulus				0.47	0.02	0.49	0.04	0.28	0.02		
AJ769971	Cyclic nucleotide and calmodulin-reg	Response to abiotic or biotic stimulus				0.61	0.04		0.35	0.02			
AJ770135	Expressed protein	Biological process unknown				0.58	0.02		0.39	0.03			
AJ767164	Expressed protein	Biological process unknown			0.63	0.04	0.38	0.03	0.24	0.02		0.02	
AJ766515	Expressed protein	Biological process unknown				0.00	0.40	0.04	0.24	0.02		0.03	
AJ772707	Expressed protein	Biological process unknown				0.00	0.47	0.03	0.17	0.01	1.69	0.00	
AJ770696	Expressed protein	Biological process unknown			0.50	0.01	0.40	0.03	0.21	0.01		0.04	
AJ769574	Expressed protein	Biological process unknown				0.00			0.34	0.03			
AJ778904	Metalloprotein type 2b	Response to abiotic or biotic stimulus				0.00			0.37	0.02			
AJ768872	Metalloprotein type 2b	Response to abiotic or biotic stimulus				0.00		0.00	0.26	0.01		0.01	
AJ767254	Expressed protein subunit	Biological process unknown				0.00			0.39	0.02			
AJ769248	Expressed protein subunit	Biological process unknown				0.01		0.01	0.31	0.01			
AJ769032	Expressed protein 10 kDa protein	Biological process unknown				0.01		0.02	0.41	0.02			
AJ770833	Expressed protein	Biological process unknown				0.03		0.01	0.32	0.02	0.65	0.03	
AJ770450	Chaperonin-like cytosolic protein	Protein metabolism						0.01	0.41	0.02			
AJ767639	Cyclic nucleotide and calmodulin-reg	Response to abiotic or biotic stimulus						0.03	0.40	0.02		0.02	
AJ780316	Putative imbibition protein	Biological process unknown					1.88	0.04	3.19	0.00			
AJ775404	Putative imbibition protein	Biological process unknown					1.65	0.03	8.16	0.00			
AJ770463	Putative imbibition protein	Biological process unknown							18.24	0.00			
AJ772019	Xylose isomerase	Carbohydrate metabolism							2.54	0.00	1.35	0.05	
AJ779386	Thaumatococcal protein PR-5b precursor	Response to abiotic or biotic stimulus							3.39	0.00	2.01	0.00	
AJ768450	Poly(A)-binding protein	Protein biosynthesis							3.33	0.00			
AJ772021	Kunitz trypsin inhibitor T13	Response to abiotic or biotic stimulus							10.30	0.00			
AJ779392	Kunitz trypsin inhibitor T13	Response to abiotic or biotic stimulus							5.74	0.00			
AJ779437	Kunitz trypsin inhibitor T13	Response to abiotic or biotic stimulus							4.81	0.00			
AJ777286	Kunitz trypsin inhibitor T13	Response to abiotic or biotic stimulus							4.68	0.00			
AJ770335	Formate dehydrogenase	Metabolism							2.99	0.00			
AJ769740	Expressed protein	Biological process unknown							5.00	0.00			
AJ769442	Expressed protein	Biological process unknown							4.01	0.00			
AJ769488	Expressed protein	Biological process unknown							3.16	0.00			
AJ780423	Cysteine protease	Protein metabolism							13.13	0.00			
AJ780552	Cysteine protease	Protein metabolism							7.32	0.00	1.56	0.02	
AJ780577	Cysteine protease	Protein metabolism							5.84	0.00	1.52	0.04	
AJ780851	Cysteine protease	Protein metabolism							3.32	0.01			
AJ772216	Callose synthase	Carbohydrate metabolism							3.43	0.00			
AJ780435	Aldehyde dehydrogenase	Metabolism							9.67	0.00			

Les points forts de cette expérience

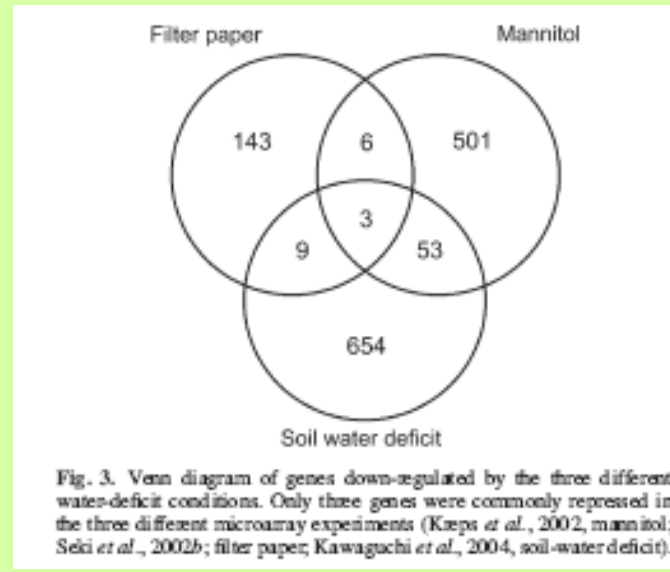
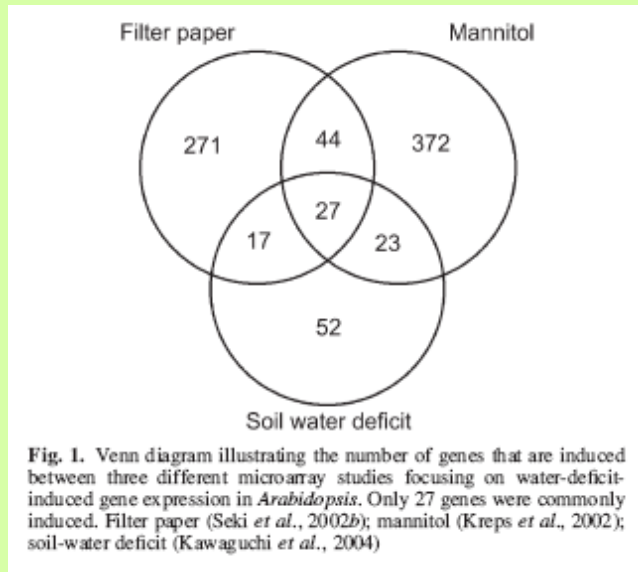
- **Vue d'ensemble**
 - **feuilles et racines**
 - **5 points : cinétique temporelle avec intensité croissante**
 - **réhydratation (retour vers la normale)**

- **Pas de temps long: original**
 - **Gènes impliqués en phase 'stable' (/ phase de transition)**

- **Richesse de la banque d'ESTs (enrichie par soustraction)**

- **Association écophysio - transcripto - protéo - métabolo -mique**

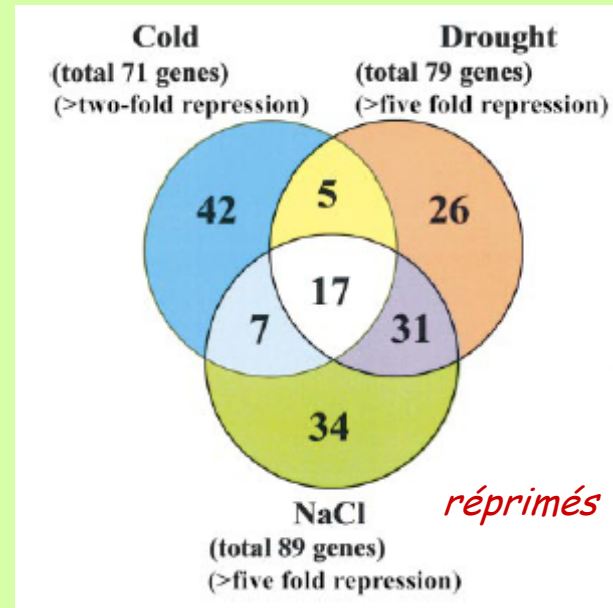
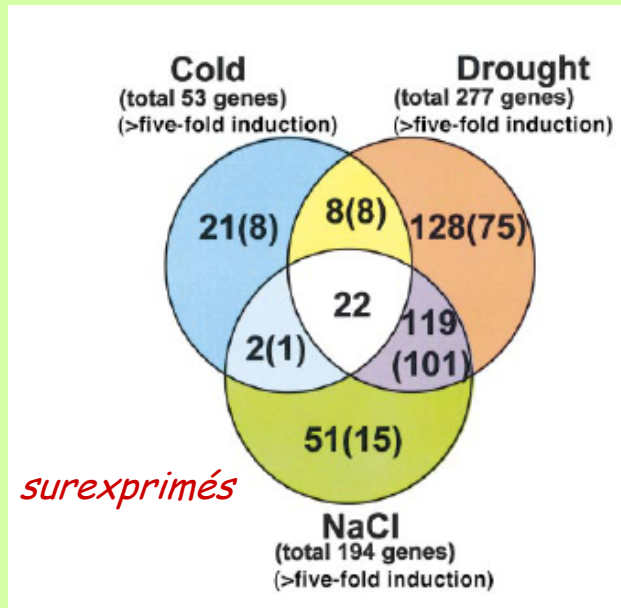
Quelques autres expériences transcripto-sécheresse



Bray, JEB, 2004

- 3 'types' de sécheresse --> 3 profils avec en commun : 27 gènes surexprimés et 3 réprimés ...
 - sécheresse : difficile à définir, intensité, rapidité, durée
 - réponse : adaptation (croissance) ou survie (protection cellulaire)
 - moins variable pour un autre stress ?

Des gènes en communs



Seki, Plant J, 2002

- Beaucoup de gènes communs à différentes contraintes
- Tous les processus biologiques toujours représentés
 - Ex: gènes de la photosynthèse dans les cellules cambiales ...

Richesses de la transcriptomique

- **Balayage très large**
 - un maximum de gènes en 1 seule fois
 - Manip 'altruiste' : base de données
- **Etablissement d'un grand 'dictionnaire'**
- **Mise en évidence de réseaux de gènes (clusters)**
 - Aide à la mise en évidence des cascades de régulations
- **Une méthode pour l'identification de gènes candidats :**
 - balayage large
 - choix parmi des candidats 'sérieux'
 - analyse dans des tissus ciblés, études soustractives

Difficultés de la transcriptomique

- La banque d'ESTs : taille, qualité (type)
 - ce qu'on trouve dépend de ce dans quoi on cherche ...
 - avec/sans stress
 - banques soustractives : enrichies
 - qualité de l'annotation
 - de moins en moins un problème (peuplier séquencé)

- Le degré de précision de la question posée :
 - Grand écart phénotype - profil de transcription
 - Cibler : question-tissu-(banque)

- La dilution tissulaire
 - nécessité de travailler sur des tissus ou des cellules ciblés

- Coût -> nombre de répétitions
 - variabilité -> pertinence ?
 - choix (pas de temps, seuils)

Importance relative de la transcriptomique

- la sensibilité des mécanismes / sensibilité de détection des transcrits
 - taux de variation (fold change) : >2
 - type de gène : facteur de transcription / gène standard
- toute la régulation post-transcriptomique
 - polymorphisme : transcrits exprimés identiquement, protéine légèrement différente, affinité différente : réponse différente
- les mécanismes indépendants d'une régulation génique
 - Ex: effet lié à une différence structurale établie avant l'application du stress (densité stomatique, vulnérabilité à la cavitation)

Conclusion

- **Outil très puissant**
 - **technique très jeune, en évolution permanente**
 - informatique
 - résolution (filtres, puces, oligo-, polymorphisme, etc ...)

- **En 'démocratisation' (coût↘, répétitions↗)**

- **Transcriptomique = OUTIL (de débroussaillage)**
 - **trouver des gènes candidats**
 - élucider un mécanisme de réponse
 - étudier la biodiversité intra-, inter- spécifique
 - suppose une suite en biologie moléculaire classique

 - **probablement 'préhistoire' de ces techniques**

- **La génomique c'est aussi: protéomique, métabolomique**