



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

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

Projet européen ESTABLISH

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

Génomique ... fonctionnelle

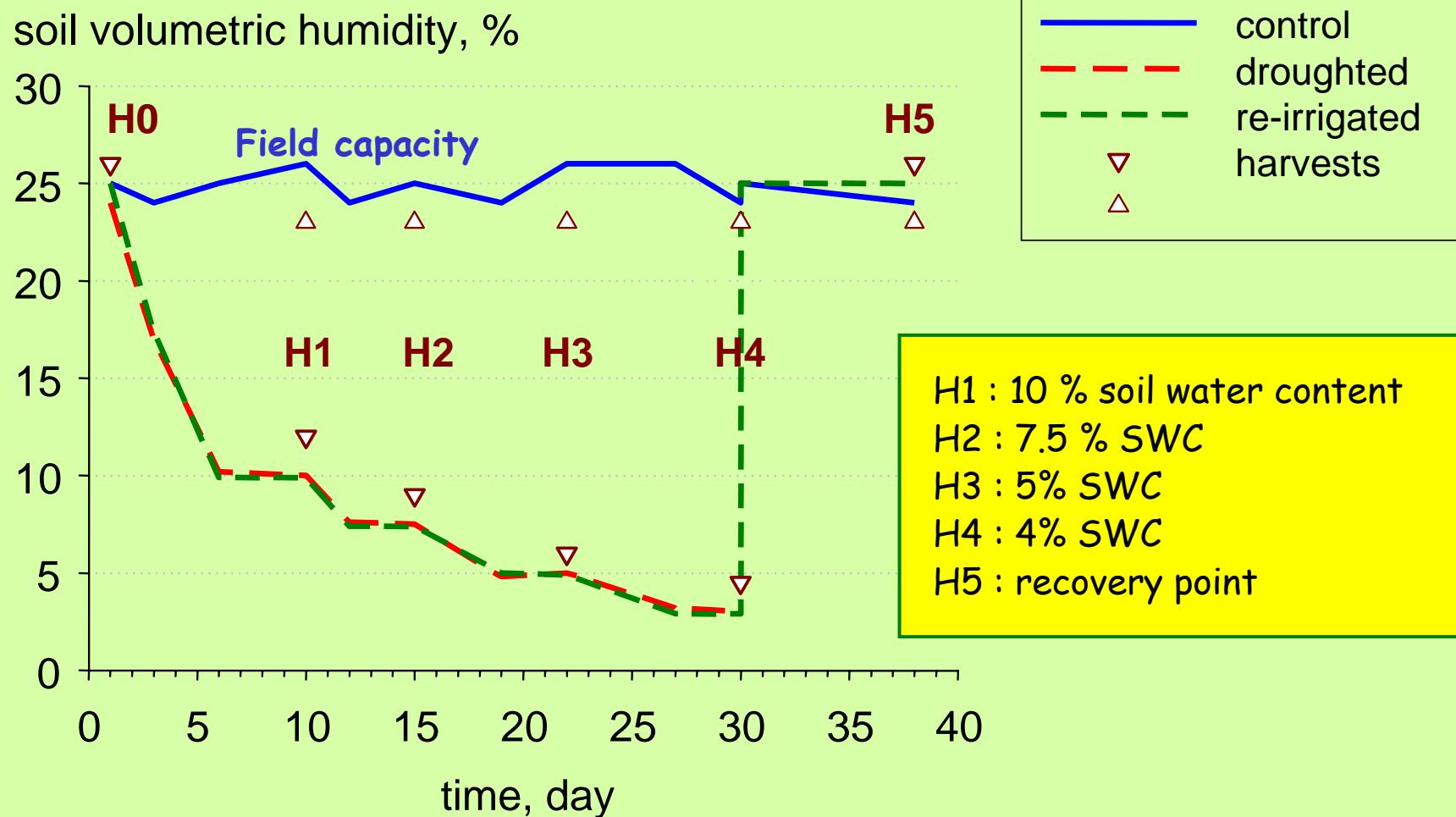
- **Génomique structurale** : structure du génome, inventaire des gènes présents
- **Génomique fonctionnelle** : étude de la régulation des gènes, réseaux, interactions (biologie intégrative)
 - lien avec le phénotype, l'écophysiologie
- Contient les outils :
 - transcriptomique,
 - protéomique,
 - métabolomique, ...
- notion de haut-débit

Expérimentation Sécheresse EST-Ecophysio (Establish)

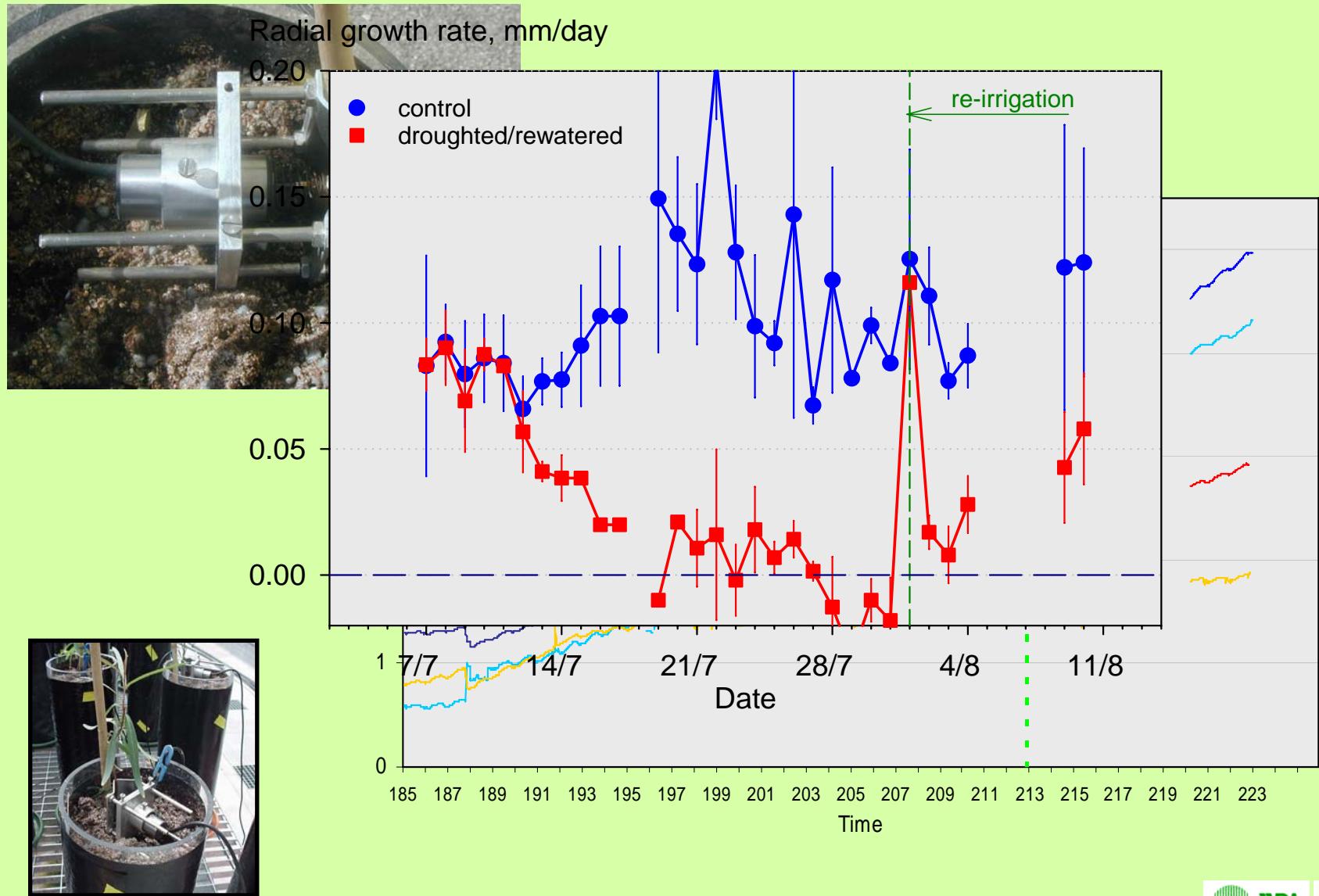
- Mettre en parallèle la réponse physiologique (croissance, échange gazeux, statut hydrique) et les **variations du transcriptome** au cours d'une sécheresse d'intensité croissante
- *Populus euphratica*, phréatophyte, non résistant à la sécheresse...
- Question : gènes impliqués dans la réponse à la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



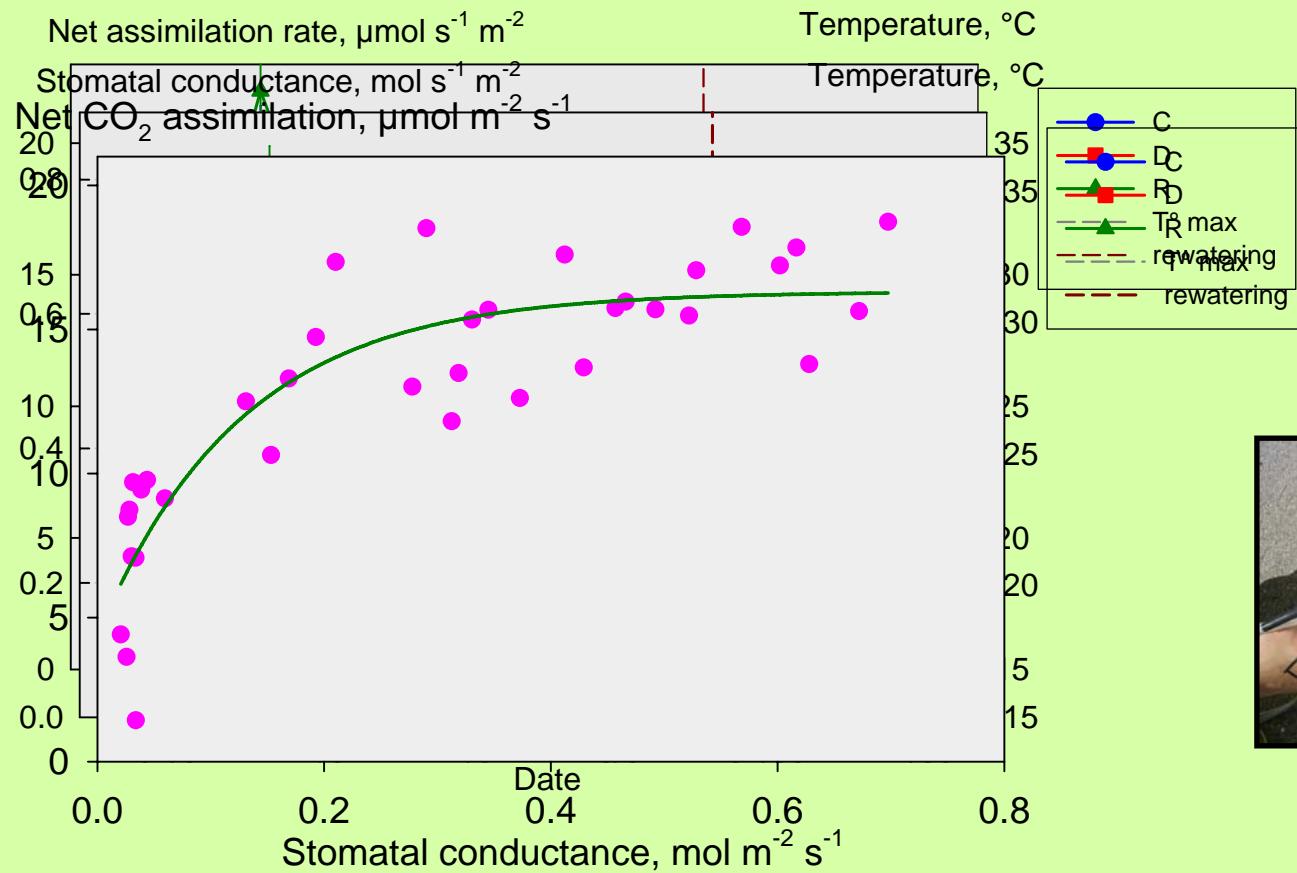
L'expérience



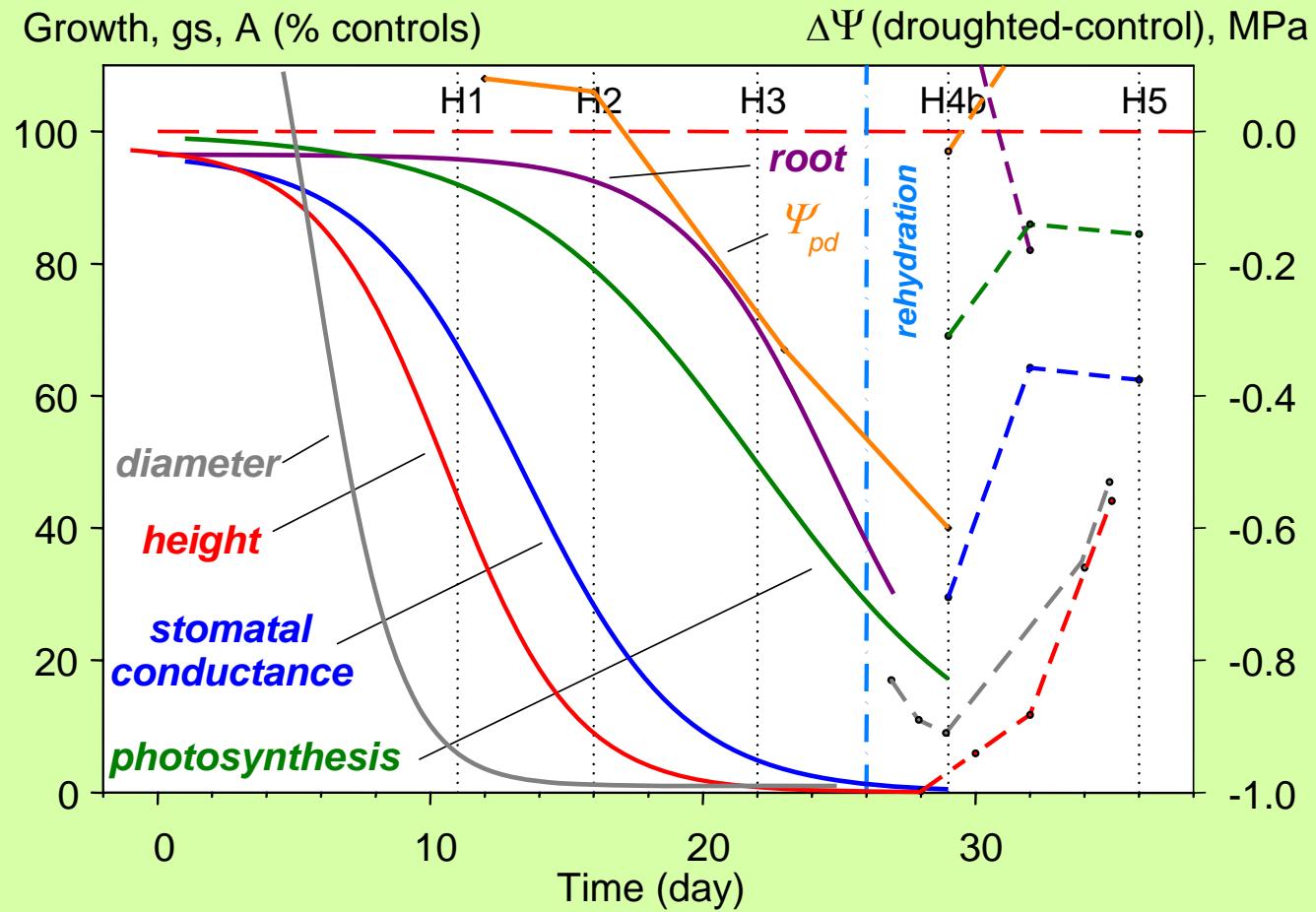
Réponse écophysio : croissance en diamètre



Réponse écophysio : échange gazeux

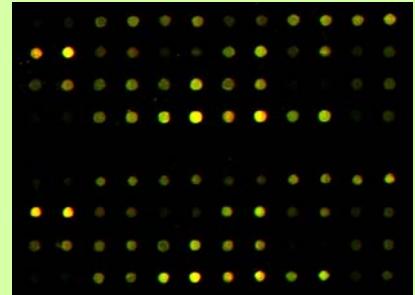


Réponse écophysiologique : synthèse

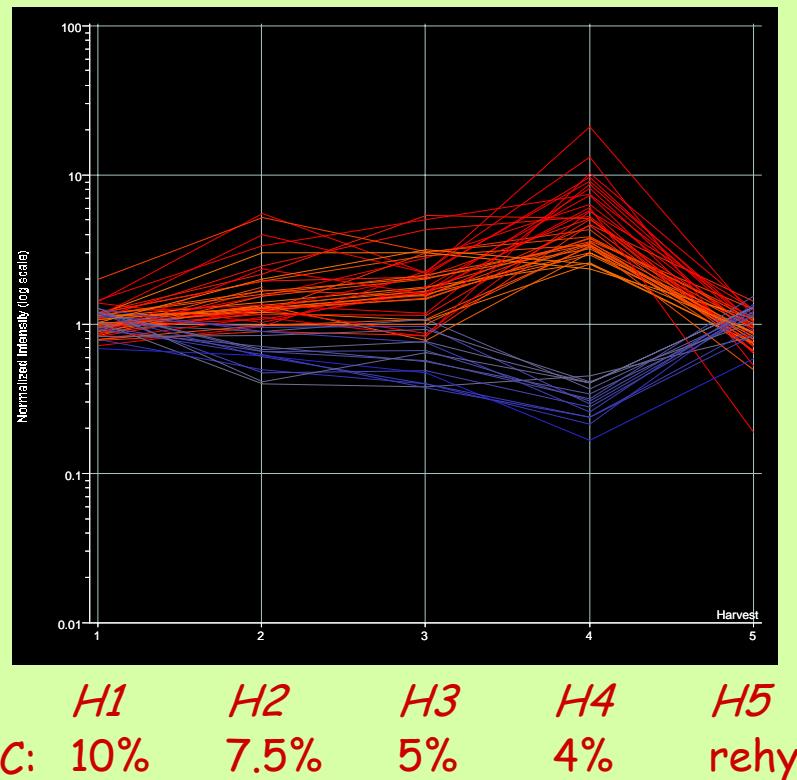


Réponse du transcriptome

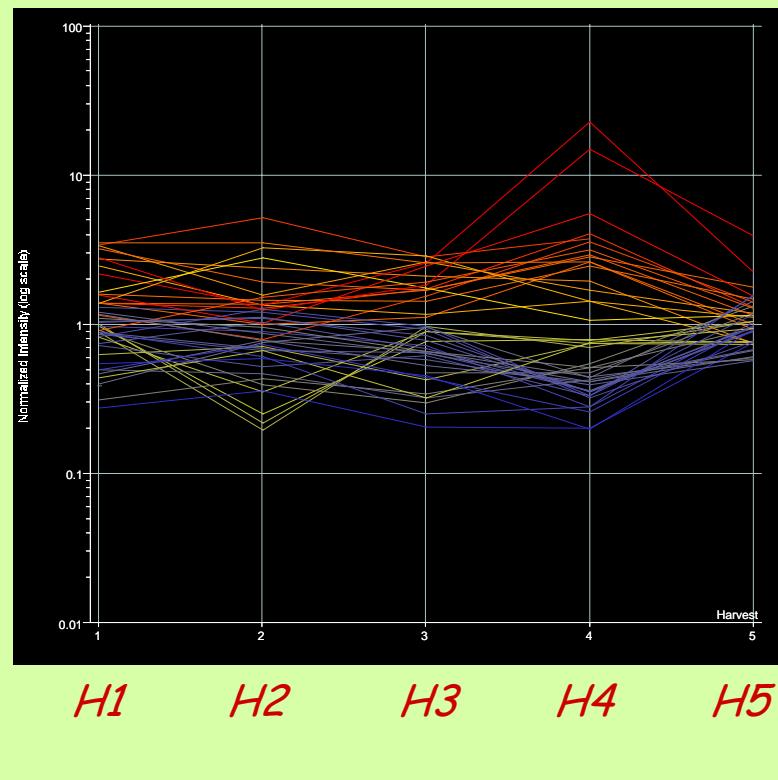
puce contenant 7500 gènes
séquences et annotations sur <http://sputnik.btk.fi/>



Feuilles



Racines



Les transcrits surexprimés ... et sous exprimés

LEAF	GenBank ID	Gene	GO Slim Biological process	Harvest							
				1 p-value	2 p-value	3 p-value	4 p-value	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
LEAF	AJ778505			H1 p-value	H2 p-value	H3 p-value	H4 p-value	H5 p-value			
	AJ770722	ANX homolog	Transcription	0.63	0.05	0.22	0.02	0.36	0.03	0.00	
	AJ776766	Proline-rich cell wall protein	Cell growth and/or maintenance	0.71	0.04	0.57	0.00	0.31	0.00	0.32	0.00
	AJ771527	Putative imbibition protein	Transport			0.40	0.01			0.46	0.02
	AJ778300	Putative imbibition protein	Biological process unknown			0.41	0.01			0.40	0.02
	AJ772352	Putative imbibition protein	Transcription			0.41	0.01			0.40	0.02
	AJ770034	Putative imbibition protein	Metabolism			0.47	0.02	0.49	0.04	0.28	0.02
	AJ778941	Putative imbibition protein	Response to abiotic or biotic stimulus			0.61	0.04	0.02		0.35	0.02
	AJ776715	Expressed protein	Photosynthesis			0.58	0.02			0.39	0.03
	AJ776785	Expressed protein	Carbohydrate metabolism			0.63	0.04	0.38	0.03	0.24	0.02
	AJ770744	Expressed protein	Biological process unknown			0.00		0.40	0.04	0.24	0.02
	AJ766323	Expressed protein	Branching enzyme I			0.00		0.40	0.04	0.24	0.02
	AJ772507	Expressed protein	Branching enzyme I			0.00		0.47	0.03	0.17	0.01
	AJ770746	Expressed protein	Metabolism			0.50	0.01	0.40	0.03	0.21	0.01
	AJ766950	Expressed protein	Biological process unknown			0.00		0.00		0.34	0.03
	AJ770904	Expressed protein type 2b	Response to abiotic or biotic stimulus			0.00		0.00		0.37	0.02
	AJ766842	Expressed protein type 2b	Response to abiotic or biotic stimulus			0.00		0.00		0.26	0.01
	AJ770740	Putative imbibition protein	Photosynthesis			0.00				0.39	0.02
	AJ769248	Putative imbibition protein	Photosynthesis			0.01		0.01		0.31	0.01
	AJ769052	Expressed protein 10 kDa protein	Photosynthesis			0.01		0.02		0.41	0.02
	AJ770832	Expressed protein	Photosynthesis			0.03		0.01		0.32	0.02
	AJ770450	Putative imbibition protein	Photosynthesis			0.03		0.01		0.41	0.02
	AJ767159	Chlorophyllide oxygenase	Photosynthesis			0.03		0.03		0.40	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	
	AJ779386	Thaumatin-like protein PR-5b precurs	Response to abiotic or biotic stimulus						3.39	0.00	
	AJ768450	Poly(A)-binding protein	Protein biosynthesis						3.33	0.00	
	AJ772021	Kunitz trypsin inhibitor TI3	Response to abiotic or biotic stimulus						10.30	0.00	
	AJ779392	Kunitz trypsin inhibitor TI3	Response to abiotic or biotic stimulus						5.74	0.00	
	AJ779437	Kunitz trypsin inhibitor TI3	Response to abiotic or biotic stimulus						4.81	0.00	
	AJ777286	Kunitz trypsin inhibitor TI3	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	
	AJ780577	Cysteine protease	Protein metabolism						5.84	0.00	
	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

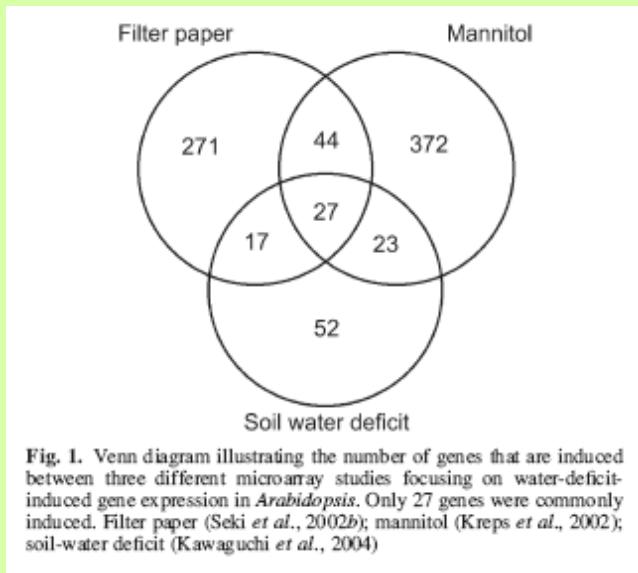


Fig. 1. Venn diagram illustrating the number of genes that are induced between three different microarray studies focusing on water-deficit-induced gene expression in *Arabidopsis*. Only 27 genes were commonly induced. Filter paper (Seki *et al.*, 2002b); mannitol (Kreps *et al.*, 2002); soil-water deficit (Kawaguchi *et al.*, 2004)

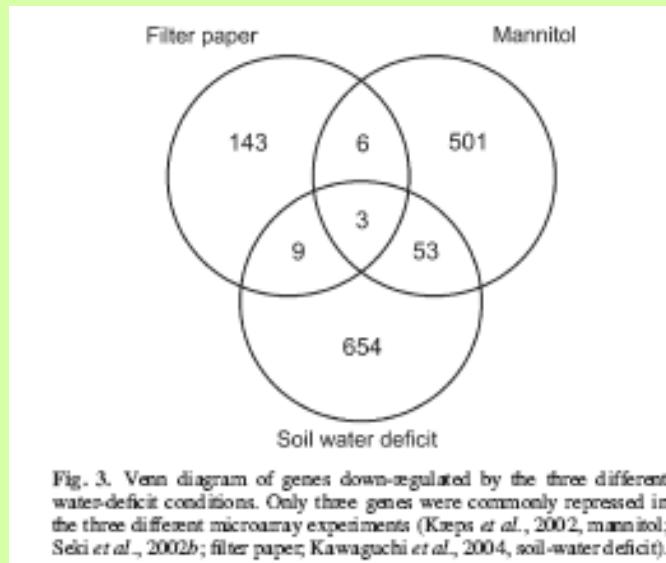
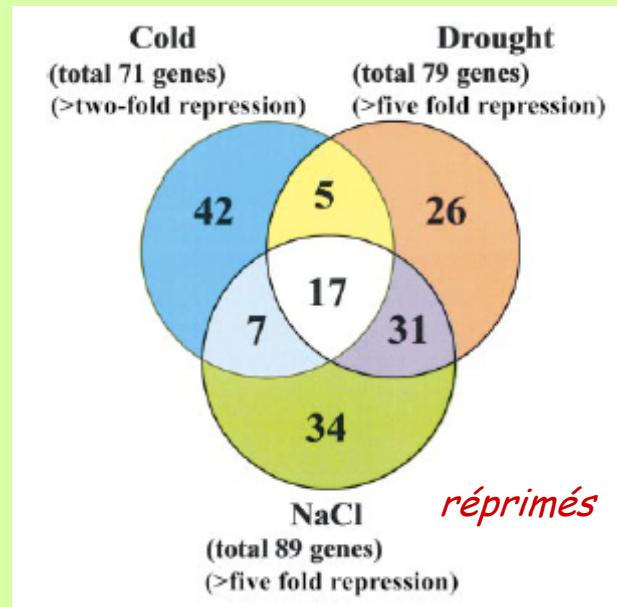
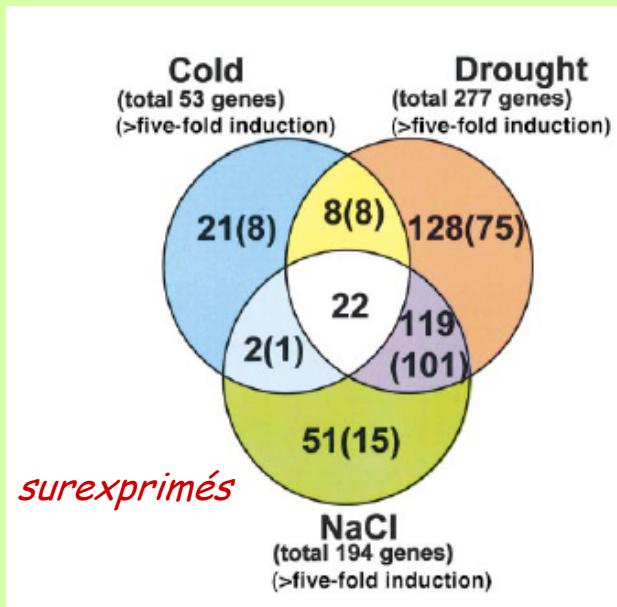


Fig. 3. Venn diagram of genes down-regulated by the three different water-deficit conditions. Only three genes were commonly repressed in the three different microarray experiments (Kreps *et al.*, 2002; mannitol; Seki *et al.*, 2002b; filter paper; Kawaguchi *et al.*, 2004, soil-water deficit).

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 différents 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 soustractive

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 soustractive : 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