Etude de la remobilisation des métaux au cours de la sénescence foliaire dans le cadre de la réhabilitation des sols pollués.

Ancienne mine de plomb et de zinc, Plombière, Belgique

Mathieu Pottier

Directeur de thèse : **Sébastien Thomine**
Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CNRS
Gif-sur-Yvette

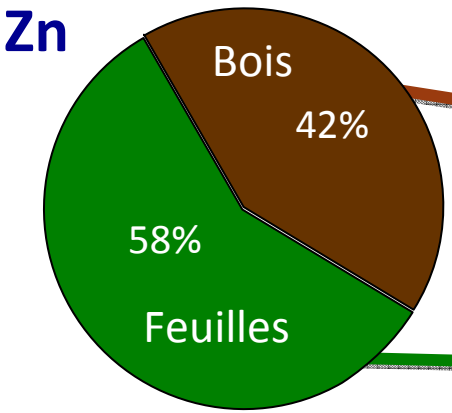
Utilisation du peuplier pour réhabiliter les sols

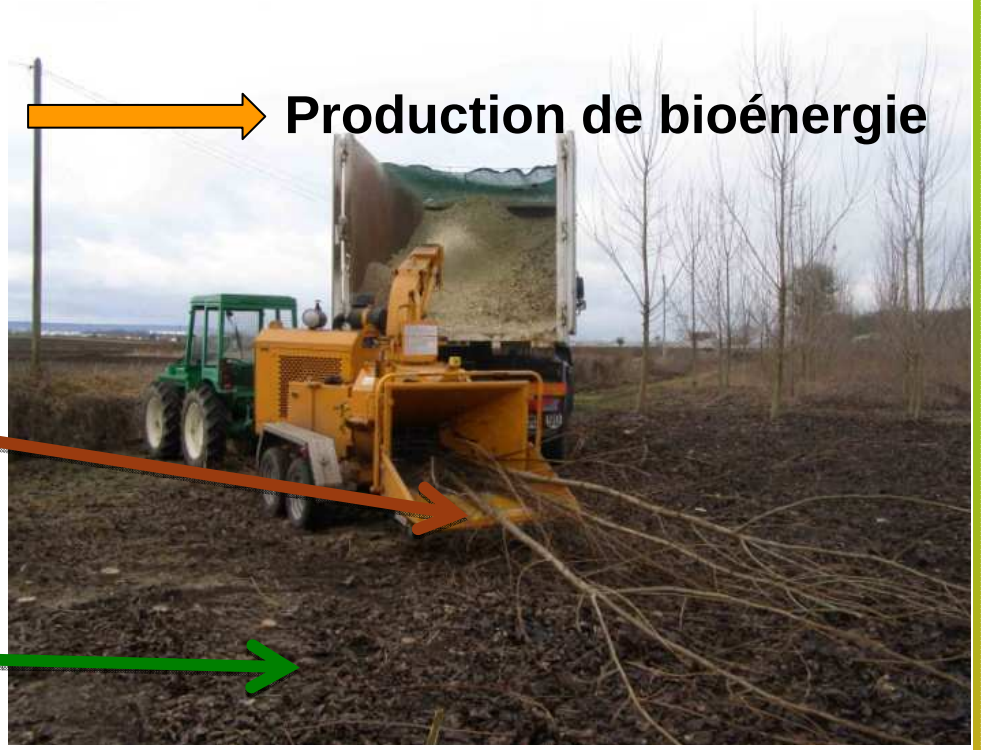
✓Biomasse importante

✓Système racinaire profond

✓Tolérance aux métaux

xConcentration faible en métaux





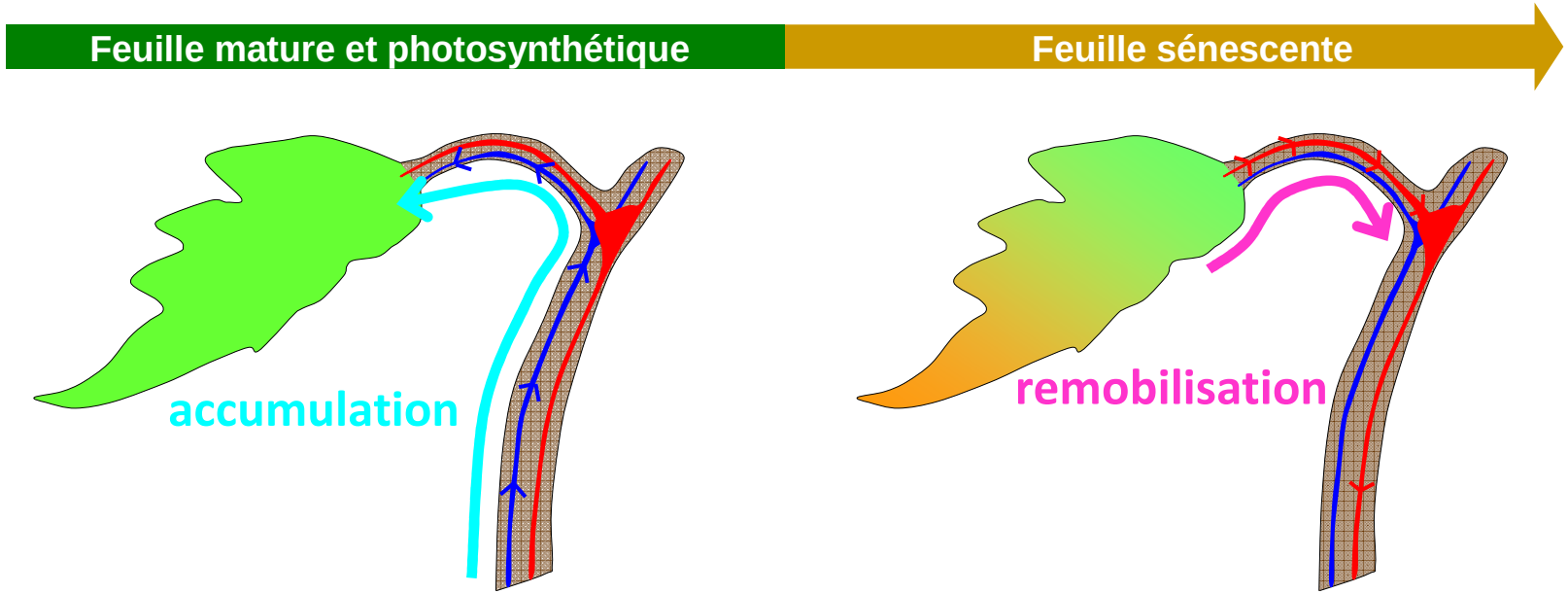
La plus part des métaux extraits sont accumulés dans les feuilles

Seul le bois est récolté, pas les feuilles.

La phytoextraction est limitée par l'accumulation de métaux dans les feuilles ?

(ANR PHYTOPOP 2007-2011; Chalot *et al.*, 2012)

Sénescence des feuilles et remobilisation

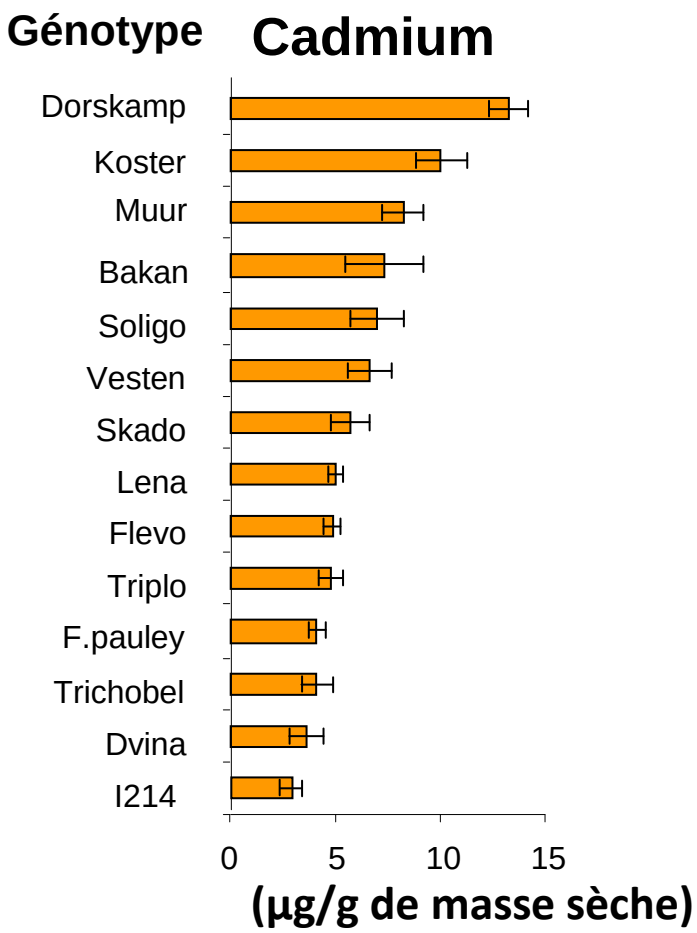


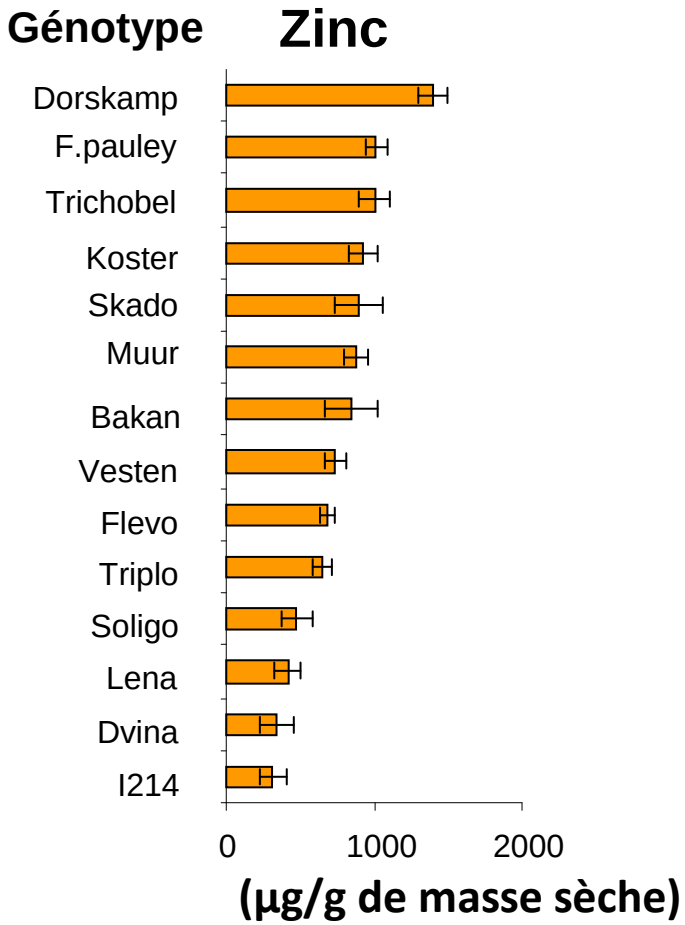
Objectifs

- Etudier la remobilisation des métaux des feuilles pendant la senescence automnale à travers la diversité génétique du peuplier
- Identifier le rôle de transporteurs de métaux dans la gestion des métaux des feuilles

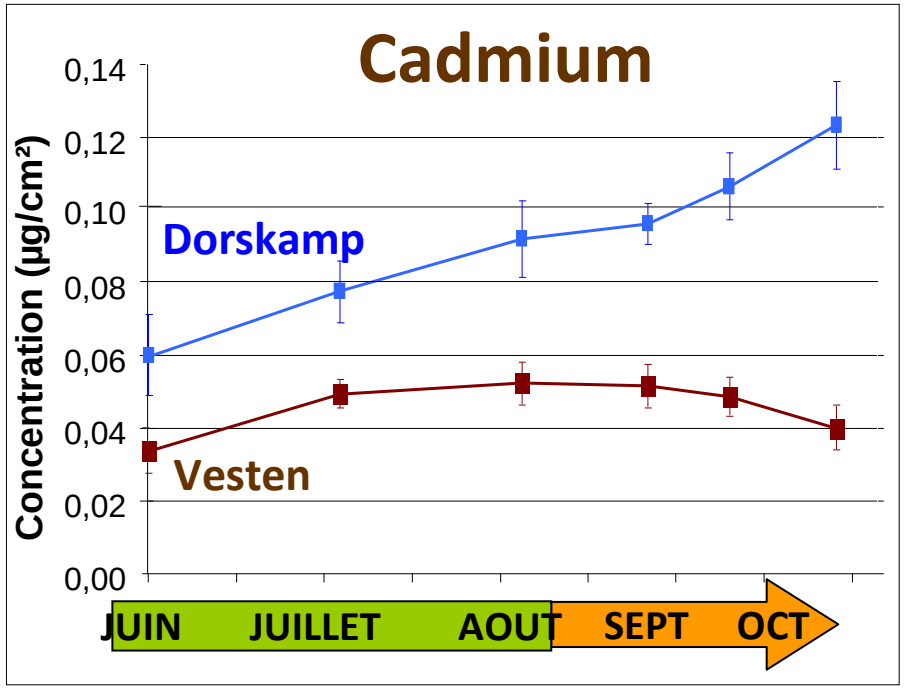
Concentration en métaux dans les feuilles senescences

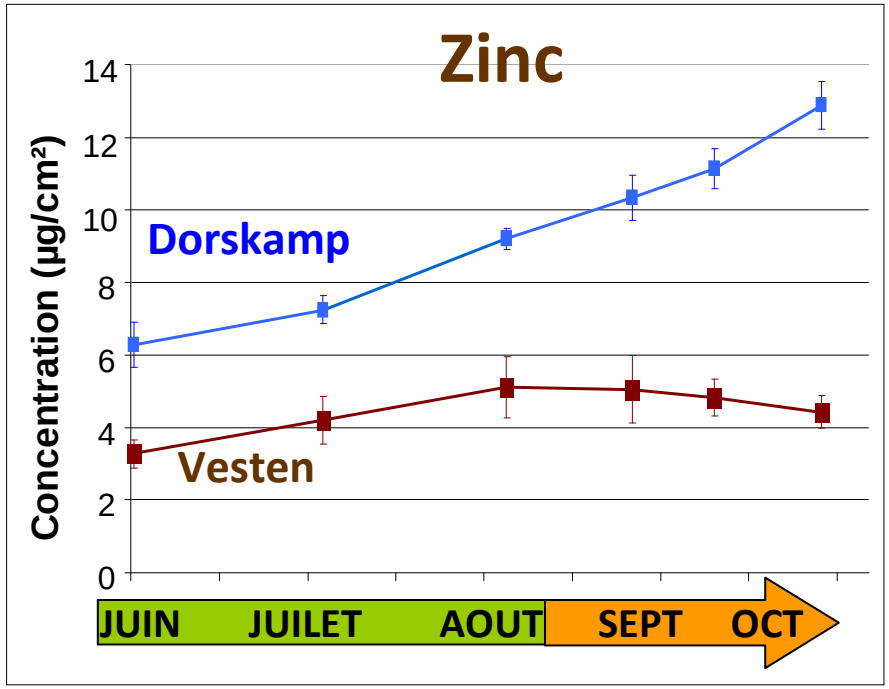
- Automne 2011 (juste avant l'abscission)





Evolution des concentrations en métaux dans les feuilles de peuplier en 2011





- Dorskamp : Pas de remobilisation

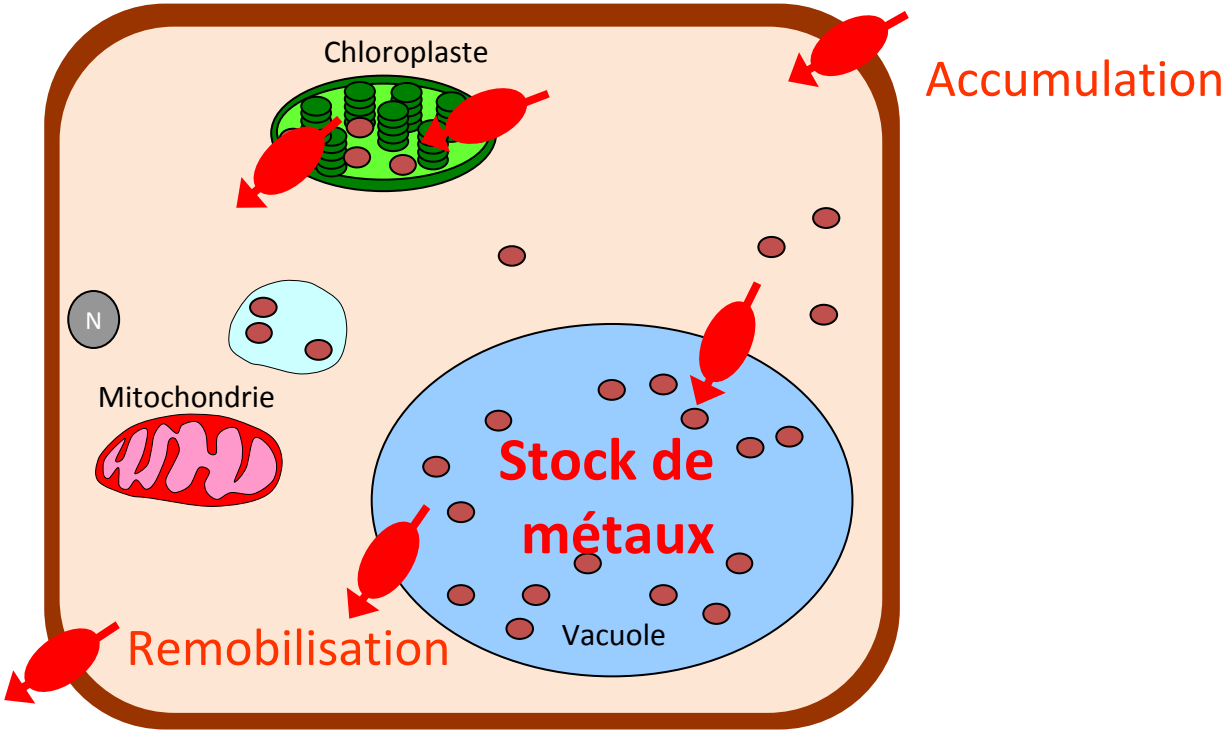
→ **Augmentation de 25% du Cd et 29% du Zn entre août and octobre**

- Vesten : remobilisation ?

→ **Diminution non significative**

→ **Absence de remobilisation observée chez tous les génotypes de peuplier**

Protéines de transport impliquées dans l'homéostasie des métaux



- Famille de transporteurs **NRAMP** (**N**atural **R**esistance **A**ssociated **M**acrophage **P**rotein)
- Transporteurs **HMA** (**H**eavy **M**etal **A**TPase) des clusters I et II

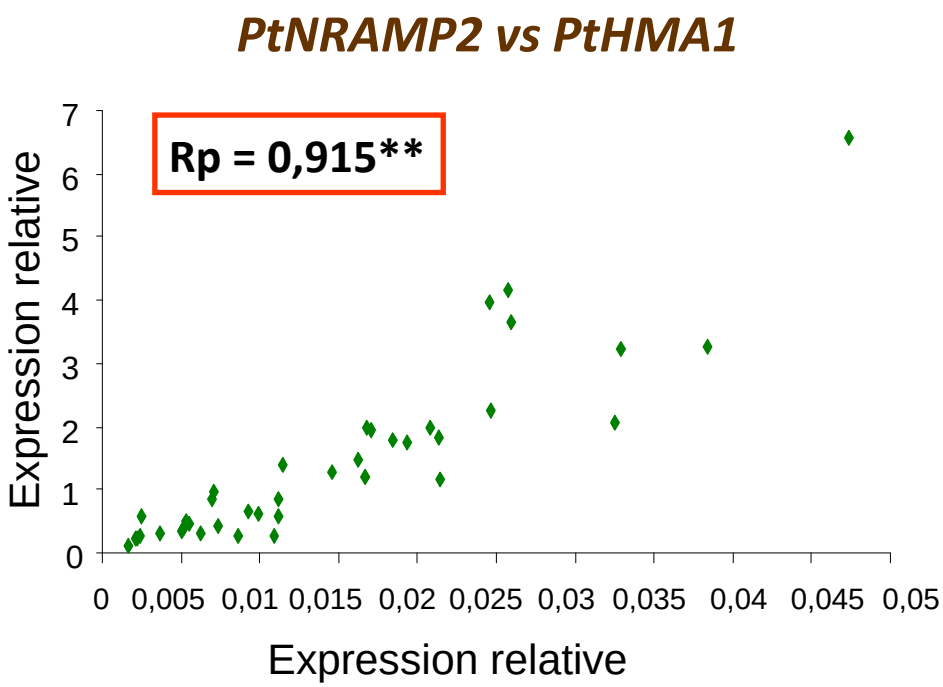
Analyses de corrélations

- Expression de gènes mesurée en été (feuille mature) et en automne (feuille sénescence)
  - **Transporteurs de métaux**
    - *NRAMP*
    - *HMA*
  - **Marqueurs de sénescence**
    - Protéase à cystéines (*CP*)

      (Bhalerao *et al.*, 2003 ; Couturier *et al.*, 2010)
    - *NAP (ANAC029)*

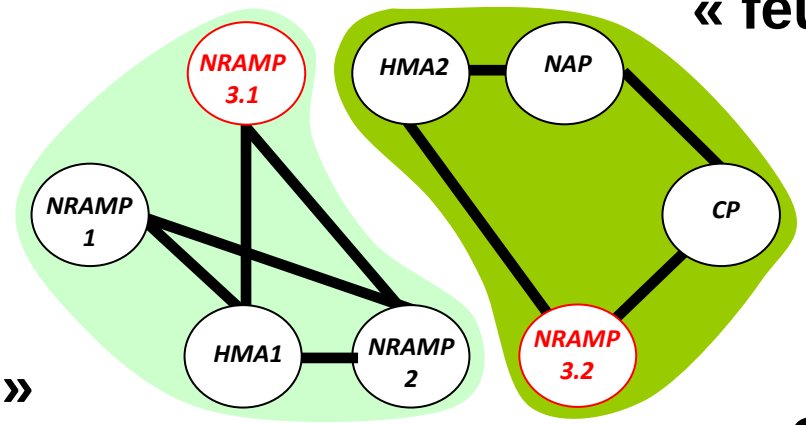
      (Guo and Gan, 2006 ; Balazadeh *et al.*, 2010; Breeze *et al.*, 2011 ; Zhang and Gan, 2012)
- Corrélations de Pearson entre les expressions de gènes impliqués dans l'homéostasie des métaux

Analyses de corrélations



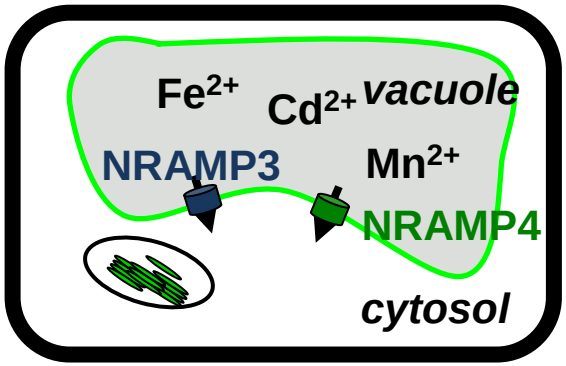
Analyses de corrélations

Cluster
« feuille sénescente »



Cluster
« Feuille mature »

Chez Arabidopsis



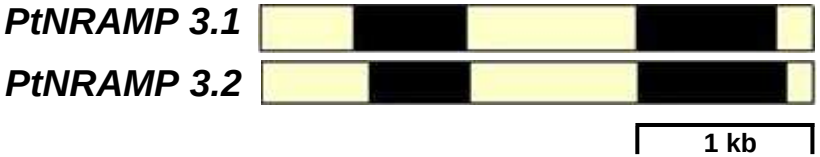
- 88% d'identité protéique
- Homologues d'AtNRAMP3 & d'AtNRAMP4
- Différent clusters

➡ **Differents rôles dans l'homeostasie des métaux ?**

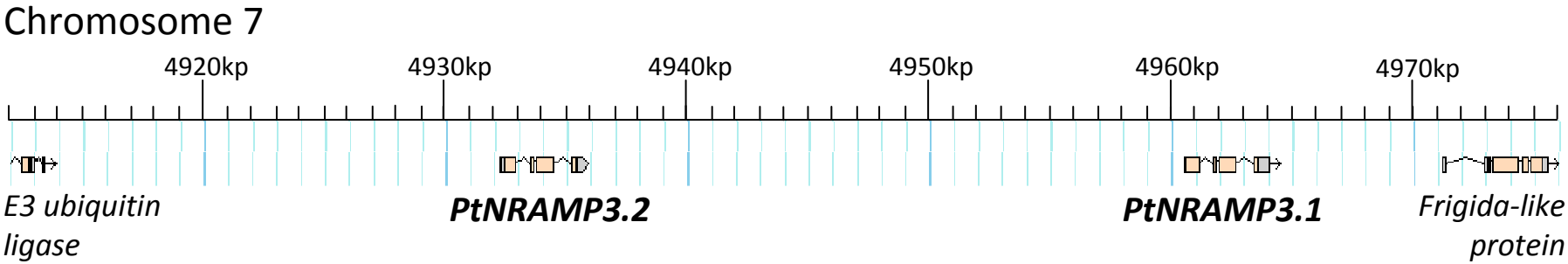
Mais, pas de remobilisation observée?!

PtNRAMP3.1 et *PtNRAMP3.2*

Structure génomique



Location génomique

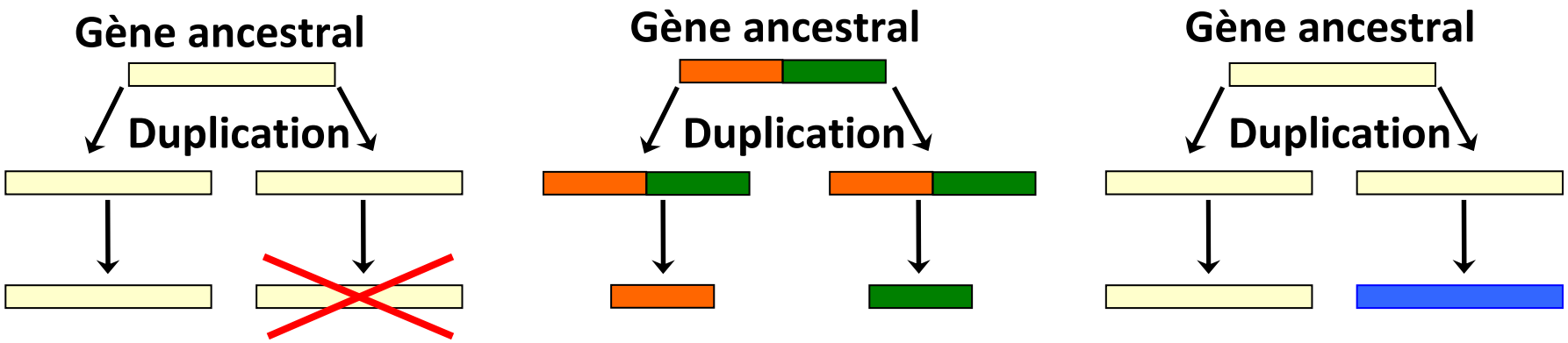


- Même structure génomique
- Localisation en tandem
- Duplication spécifique de la séquence codante de PtNRAMP3

Devenir de PtNRAMP3.1 & PtNRAMP3.2

La duplication diminue la pression de selection sur les deux nouvelles copies aboutissant à :

- **Non-fonctionalisation**
- **Sub-fonctionalisation**
- **Neo-fonctionalisation**

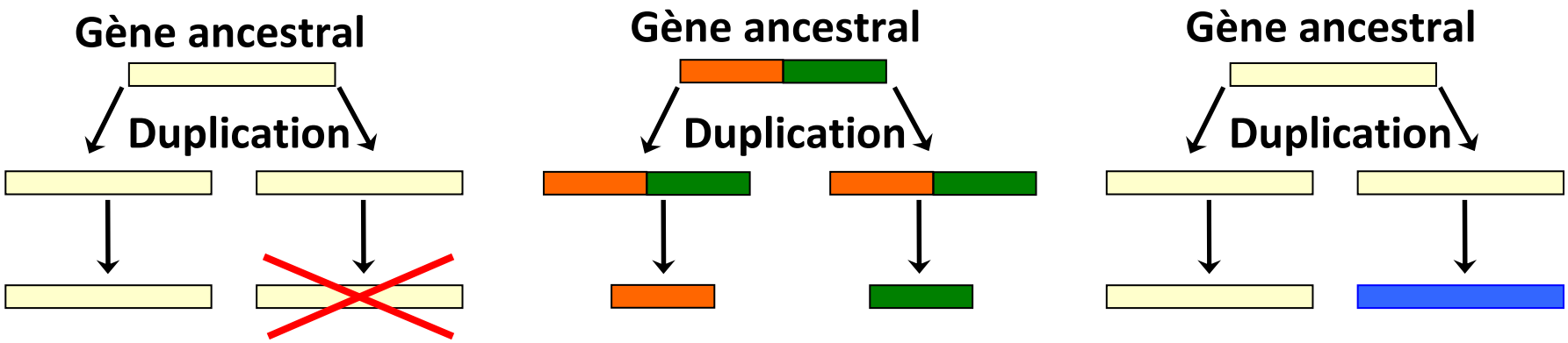


Que se passe t-il pour PtNRAMP3.1 et PtNRAMP3.2?

Devenir de PtNRAMP3.1 & PtNRAMP3.2

La duplication diminue la pression de selection sur les deux nouvelles copies aboutissant à :

- **Non-fonctionalisation**
- **Sub-fonctionalisation**
- **Neo-fonctionalisation**



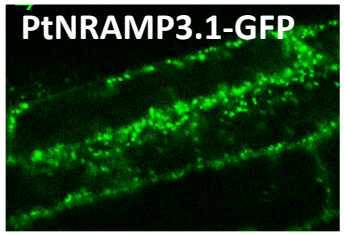
Que se passe t-il pour PtNRAMP3.1 et PtNRAMP3.2?

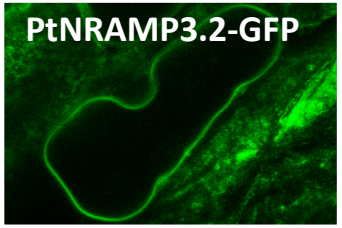
- PtNRAMP3.1 et PtNRAMP3.2 sont capables de transporter des métaux
- PtNRAMP3.1 et PtNRAMP3.2 sont exprimés dans les mêmes tissus

→ **Neo-fonctionalisation ?**

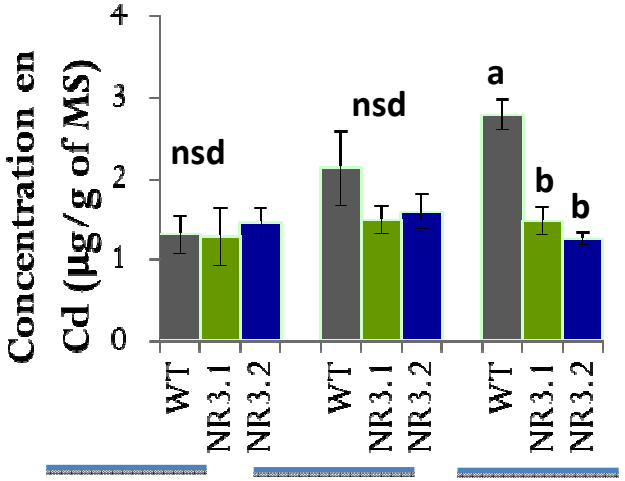
Surexpression de *PtNRAMP3.1 & 3.2* en peuplier

- Localisations subcellulaires différentes

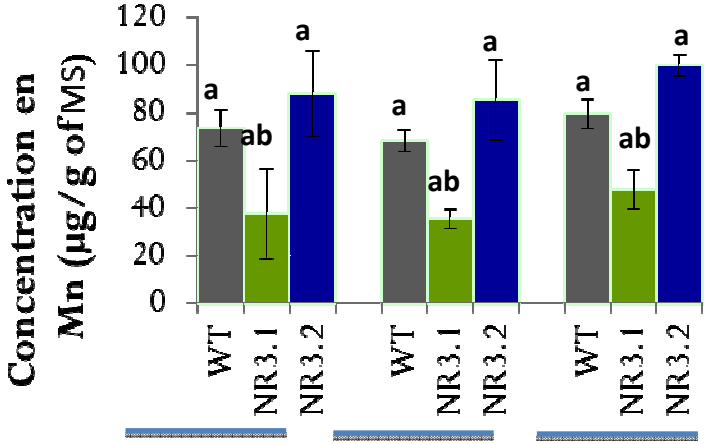




- *Différentes conséquences sur l'accumulation des métaux*



jeune mature senescente



jeune mature senescente

- *La surexpression de PtNRAMP3.1* conduit à une chlorose des feuilles

→ Neo fonctionalisation

Conclusions :

- Importantes différences de gestion des métaux des feuilles parmi les différentes génotypes de peupliers
- Absence de remobilisation du Cd et du Zn chez tout les génotypes de peupliers étudiés
- *PtNRAMP3.1* et *PtNRAMP3.2* ont des fonctions différentes
- *PtNRAMP3.1* et *PtNRAMP3.2* pourraient être de bons candidates pour diminuer les concentrations en métaux foliaires

Perspectives :

- Vérifier l'effet de la surexpression des PtNRAMP3s sur le contenu en métaux des parties récoltables (tronc, branches)

- Remobilisation spécifique à partir des feuilles sénescentes

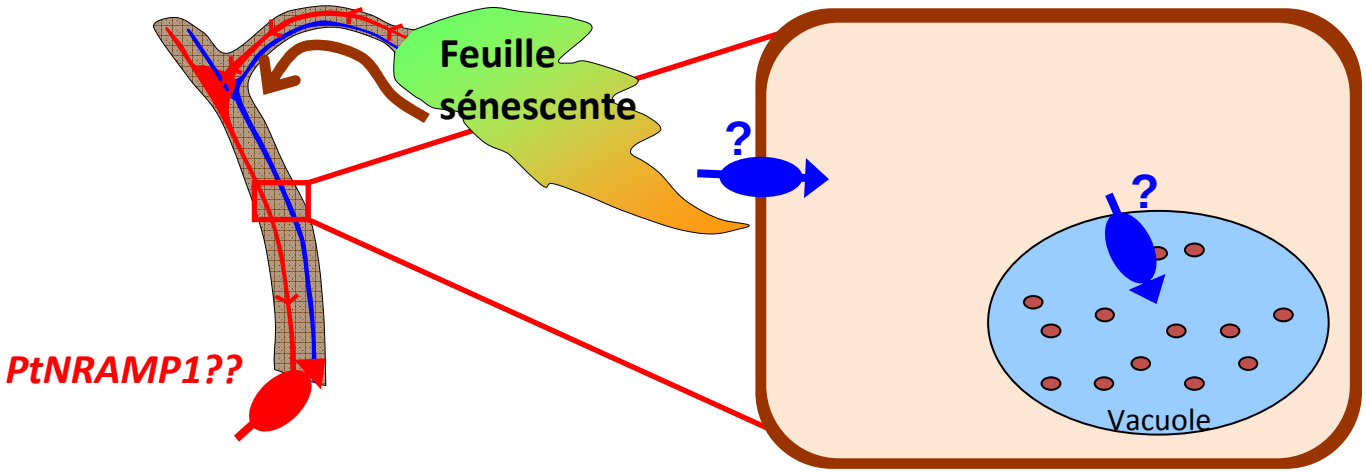
  ➡ Expression des *PtNRAMP3s* sous le contrôle d'un promoteur spécifique des feuilles sénescentes (*protéase à cystéine*)

- Création d'une force de puits au niveau des tissus du bois

  ➡ Expression de transporteurs de métaux spécifiquement au niveau des tissus du bois

Améliorer l'absorption des métaux à partir du sol

  ➡ Expression de transporteurs de métaux spécifiquement au niveau des racines



Merci à vous

Mais aussi :

- Collaborateurs

Michel Chalot
Damien Blaudez
Francis Douay
Marc Hanikenne
Céline Masclaux
Vanesa Sánchez
Kohki Yoshimoto

- groupe ST, tout particulièrement

Cindy Victor
Astrid Agorio
Sara Martins
Rafaël Costa
Sylvain Depré
Van Anh Le Thi
Sylvain Merlot
Laure David
Sandrine Blanchet
Sébastien Thomine