

Adaptation des plantes à l'environnement

Stress hydrique

Mehdi JABNOUNE

2007-2008

Plan du cours

Introduction - définition du stress hydrique

Les effets du stress hydrique

Réponse au stress hydrique – Adaptations des plantes

Paramètres décrivant le statut hydrique des plantes

Les osmolytes

Approches biotechnologiques pour l'amélioration de la résistance au stress hydrique

Autres facteurs importants

Les voies de signalisation

Introduction

Résistance au stress hydrique → Enjeu très important lorsque les plantes ont colonisé le milieu terrestre: **adaptations morphologiques et métaboliques**

~ 1/3 des surfaces émergées de la Terre se trouvent en condition de stress hydrique :
zones arides et semi-arides

Ou encore

Zones en approvisionnement saisonnier en eau → Conditions de stress saisonnières

Θ trop basses (toundra)

Eau trop salée (près des mers)



Favorisent le stress hydrique

Importance de l'eau et ses propriétés:

L'eau est essentielle à la vie

Chez les plantes, on trouve un contenu en eau variable selon les plantes et l'organe considéré

Solvant pour les molécules hydrophiles

Milieu et parfois substrat pour de nombreuses réactions chimiques

Permet l'organisation des structures cellulaires

Assure des fonctions mécaniques et physiologiques



Pression contre la paroi végétale: la turgescence des cellules → assure la rigidité du végétal

Lien entre les cells d'un tissu

→ Cells sont en contact par un flux d'eau continu à travers les parois

Eau apoplasmique.

Cells sont en contact aussi par les plasmodesmes → Voie symplasmique.

Flux d'eau depuis racinaire [sève (vaisseaux du xylème)] jusqu'à transpiration par les stomates

Nécessaire pour la photosynthèse → donneur d'électrons

Quand la plante est-elle en déficit hydrique?

$$\text{Quantité H}_2\text{O [transpiration]} > \text{Quantité H}_2\text{O [absorption]}$$

Les réactions des plantes à la sécheresse dépendent:

- ✓ De la vitesse d'évaporation de l'eau
- ✓ De la durée du déficit en eau
- ✓ De l'espèce végétale concernée

Au niveau cellulaire, les réactions varient en fonction de :

- ✓ l'organe considéré,
- ✓ du type de cellule,
- ✓ du stade de développement de la plante.

Effets du stress hydrique

Végétaux non adaptés :

✓ Dégâts mécaniques :

Liées aux caractéristiques des cellules végétales : flexibilité (très limitée) de la paroi et stockage de l'eau dans les vacuoles.

La déshydratation → perte d'eau des vacuoles → plasmolyse des cellules.

→Création d'une tension entre la membrane plasmique et la paroi → peut conduire à un déchirement de la membrane (collapse) et rupture des parois cellulaires.

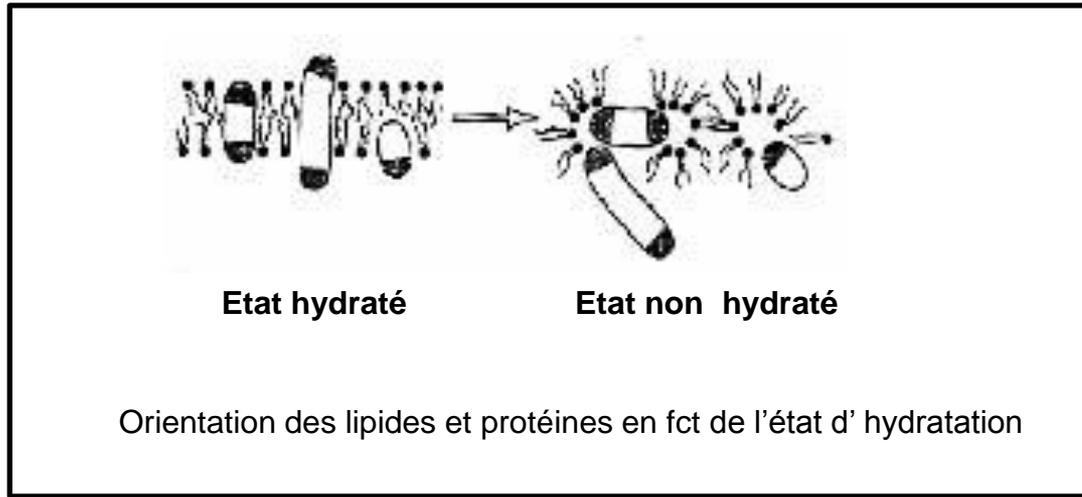
✓ Modifications structurales :

Changements des propriétés mécaniques et de composition des membranes :

↗ Taux d'acides gras libres

↗ dé-estérification des phospholipides membranaires (due à l'oxydation des lipides)

Chute de la quantité des protéines membranaires.



✓ Perturbation métabolique → altération des macromolécules, *en particulier à cause du stress oxydatif induit*

✓ Modifications au niveau de l'ADN

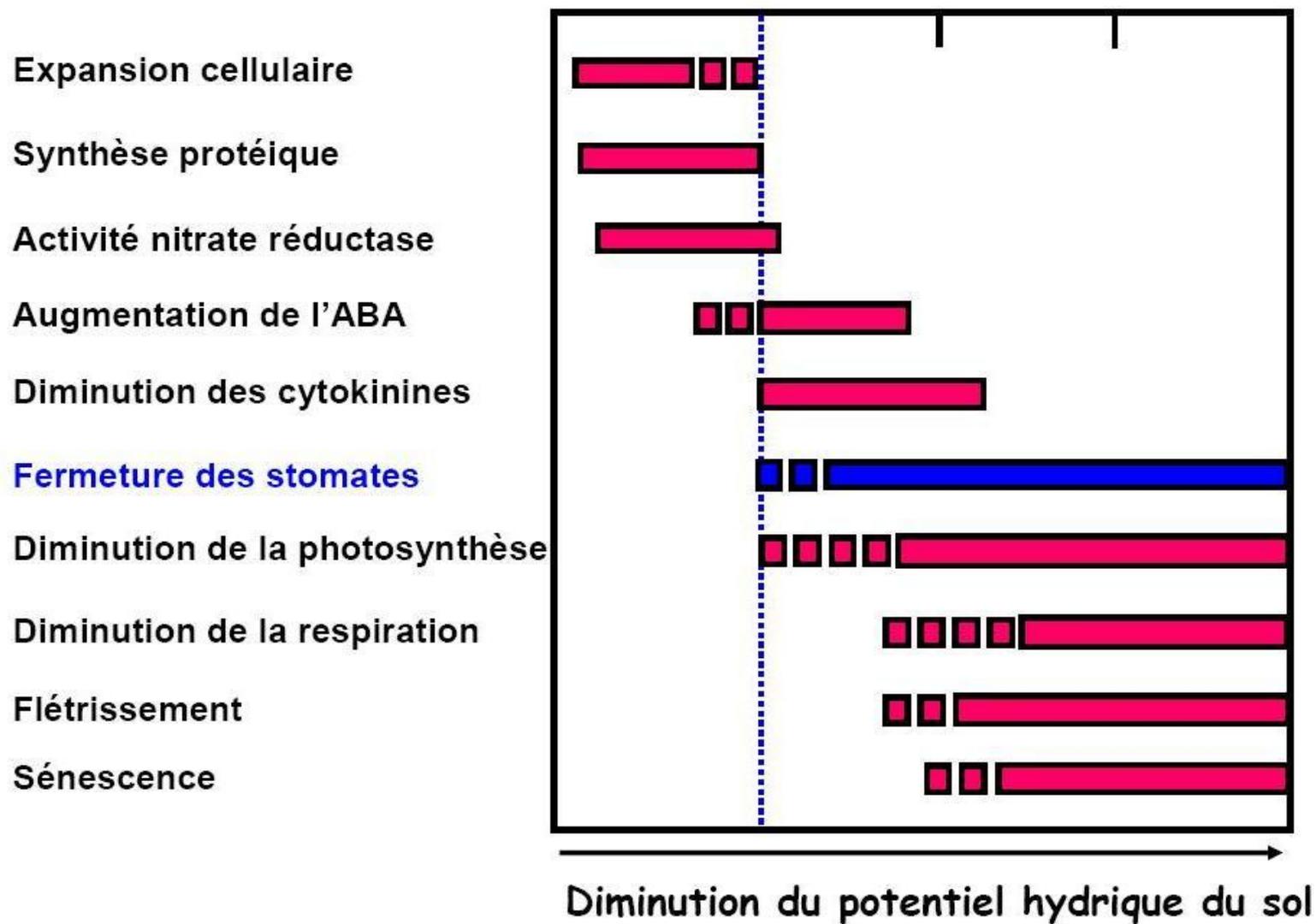
Rupture des brins d'ADN

Chez les plantes résistantes → Mécanismes de réparation de l'ADN

Végétaux adaptés :

- 2 constantes:
- ✓ Présence de composés osmoprotectants
 - ✓ Présence de molécules hydrophiles.

Réponses au stress hydrique : Végétaux non adaptés



Pour faire face au déficit en eau, la plante doit

- ✓ Réduire ses pertes
- ✓ Augmenter son approvisionnement en H₂O

1- Comment réduire la transpiration?

Fermeture des stomates [Rappel] : passive ou active.

Voie hormonale → ABA permet le contrôle de la turgescence des cells de garde.

Conséquence grave : Arrêt de la photosynthèse → Echanges des gaz st empêchés

Adaptations → Stomates adaptés *Exemple CAM (cactus) → Ouverture des stomates seulement la nuit*

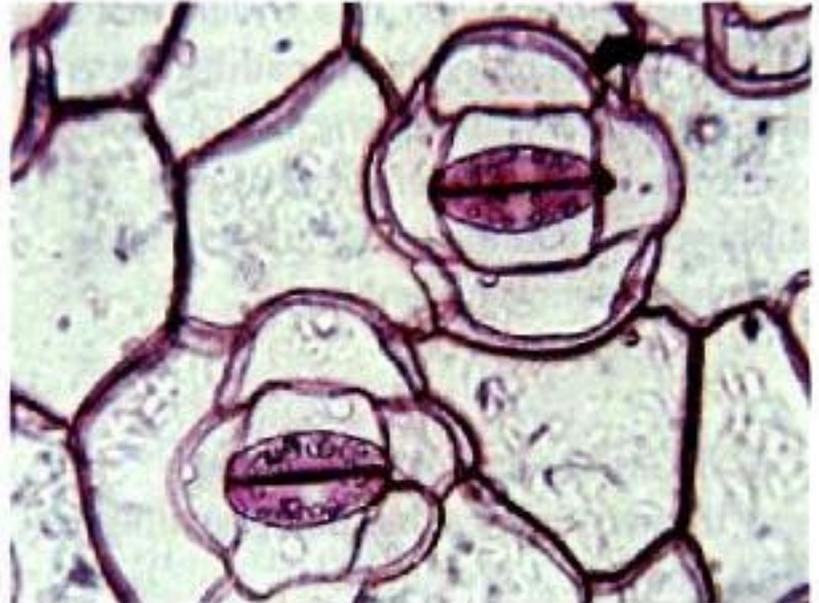
Abscission des feuilles (éthylène) → Réduction de la surface foliaire → ↙ transpiration

Rappel

Les stomates : Siège des échanges gazeux (O_2 , CO_2) et lieu de la transpiration (évaporation de l'eau sous forme de vapeur d'eau).

La transpiration : stomates ouverts, fixation du CO_2 atmosphérique (sous forme dissoute, pour la photosynthèse)

Fermeture des stomates lors d'un stress hydrique



2- Comment augmenter l'absorption de l'eau ?

Adaptations au niveau des feuilles :

Poils sur les feuilles qui piègent l'eau atmosphérique

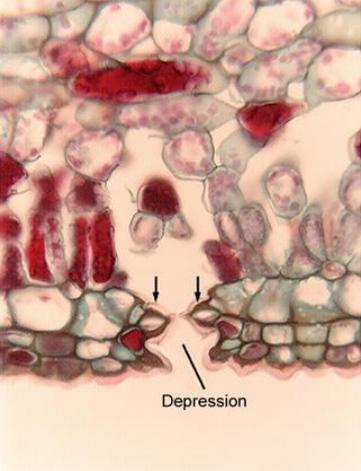
Feuilles à anatomie particulière: en forme de vase pour garder l'eau de pluie

Adaptations au niveau des racines :

Racines très développées pour aller chercher l'eau profonde

Végétaux adaptés (Xérophytes)

Adaptations anatomiques et morphologiques

Mécanismes	Adaptation	Exemple
Limitation de la perte d'eau	Cuticule céroise	Opuntia 
	nombre réduit de stomates	
	Stomates englouties Sunken stomata	
	stomate ouvert la nuit	Carpobrotus edulis Croc de sorcière 
	duvet à la surface	Sempervivum arachnoideum Joubarbe à toile d'araignée 
	feuilles incurvées	Ammophila Ammophile 

Mécanismes	Adaptation	Exemple	
	Feuille succulente	<u><i>Bryophyllum</i></u>	
Stockage de l'eau	Tubercule charnu	<u><i>Raphionacme</i></u>	
	Tige succulente	<u><i>Caulanthus inflatus</i></u>	 

Mécanismes	Adaptation	Exemple	
Prise d'eau	Système racinaire profond	<u>Acacia</u> Acacia et mimosa	 
	Directement à la nappe phréatique	<u>Nerium oleander</u> Laurier rose	
	Système racinaire étendu peu profond		
	Absorption de l'humidité de l'air	<u>Tillandsia</u>	 

Adaptations métaboliques

- ✓ Photosynthèse (CAM)
- ✓ Biosynthèse de composés protecteurs (osmotiques, structuraux)
- ✓ Mise en place de systèmes de détoxification (des espèces réactives d'oxygène)
- ✓ Systèmes de réparation

Paramètres décrivant le statut hydrique des plantes

Le potentiel hydrique : Ψ_w

Paramètre utilisé par les physiologistes pour apprécier l'état d'hydratation des cells, organes ou la plante entière

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g + \Psi_m$$

Ψ_s : potentiel du aux solutés

lié au nombre de particules solubles dissoutes dans l'eau

[solutés] \uparrow : Ψ_s diminue, donc Ψ_w diminue

Ψ_p : potentiel de pression

Forces physiques exercées par l'eau sur l'environnement

$\Psi_p < 0$: Tension

$\Psi_p > 0$: Turgescence

Ψ_g potentiel de gravité (Effet qd l'eau est transloquée sur des distances > 5-10 m)

Ψ_m potential matriciel (Effet qd interaction de la matrice eau-solide devient importante)

Ψ_g et $\Psi_m \rightarrow$ Négligés : valeurs très faibles

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \cancel{\Psi_g} + \cancel{\Psi_m}$$

Equation simplifiée

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p$$

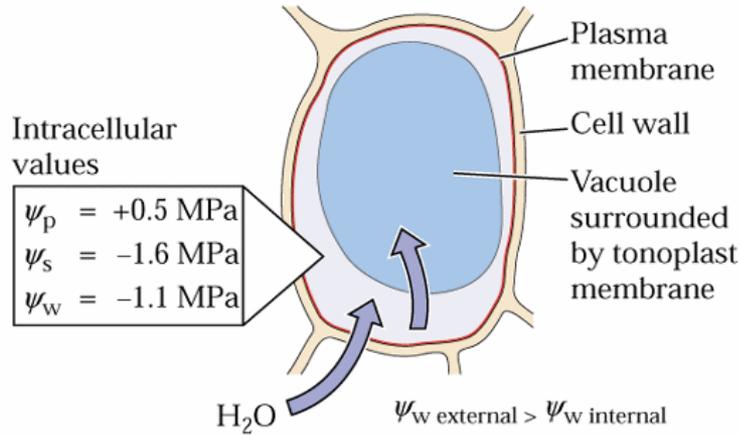
Le transport de l'eau s'effectue si :

$$\Psi_w \text{ racines} < \Psi_w \text{ milieu extérieur}$$

Ψ_w → Prédire les mouvements d'eau à l'intérieur et l'extérieur de la cell :

L'eau se déplace spontanément du Ψ_w élevé au Ψ_w faible

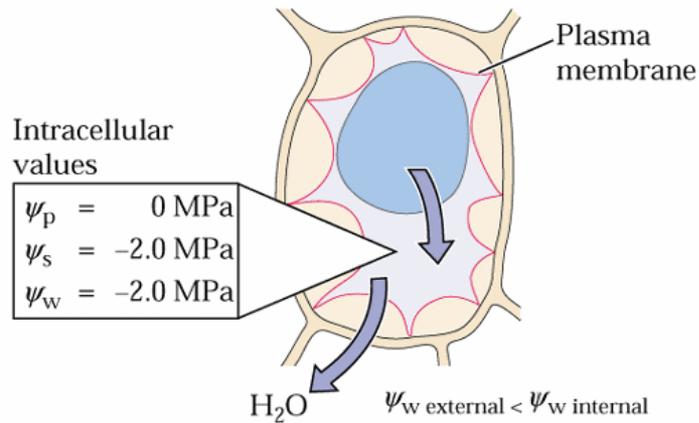
Turgid cell: $\psi_w \text{ external} = 0 \text{ MPa}$



Cell dans de l'eau pure

Absorption d'eau

Plasmolyzed cell: $\psi_w \text{ external} = -2.5 \text{ MPa}$



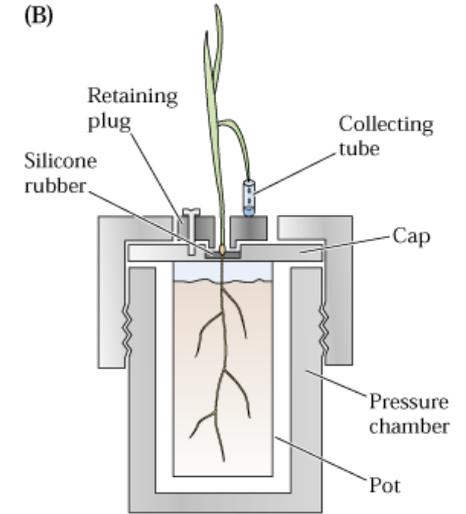
Cell dans une solution saline

Perte d'eau et de la turgescence

Mesure du Ψ_w



Chambre à pression



Plante en stress hydrique → Chgts physiologiques ou métaboliques ne st pas toujours corrélés avec Chgts de Ψ_w

Un autre paramètre est utilisé en conjonction avec Ψ_w

La quantité relative d'eau (RWC : relative water content)

$$\text{RWC} = (\text{P frais} - \text{P sec}) / (\text{P turgecence} - \text{P sec}) \times 100$$

RWC feuilles qui transpirent normalement : 85 %

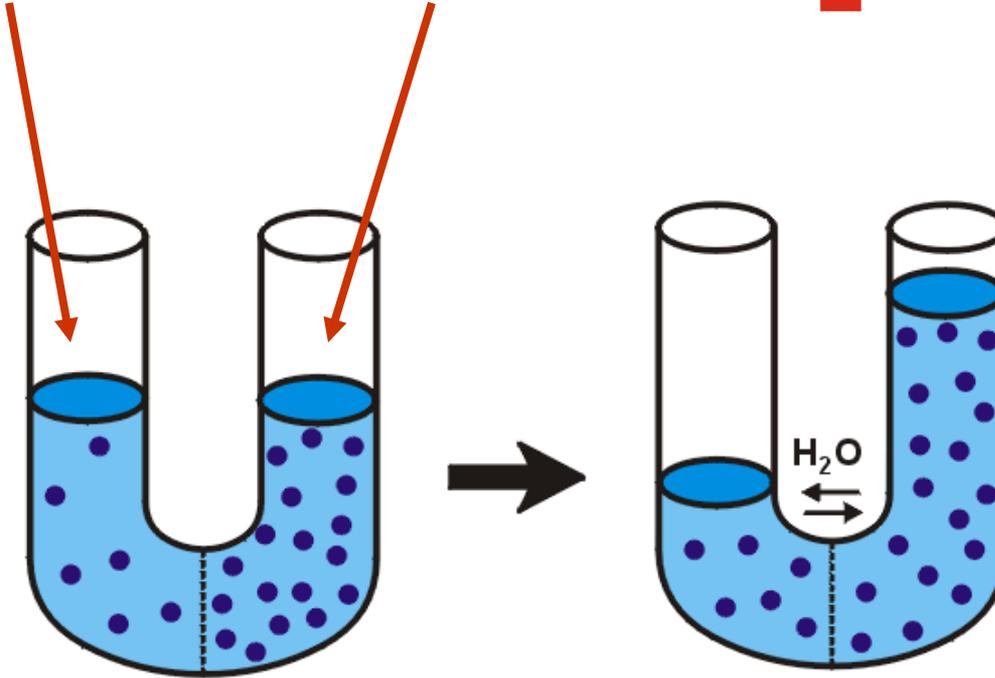
Seuil critique : environ 50% : mort

Rappel

Osmose = diffusion de l'eau

Milieu hypotonique

Milieu hypertonique



Eau se déplace du milieu **hypotonique** au milieu **hypertonique**

Adaptation osmotique

Origine \rightarrow $\uparrow\uparrow\uparrow$ [solutés]



$\downarrow \Psi_s$



$\Psi_w \text{ Racines} < \Psi_w \text{ sol}$

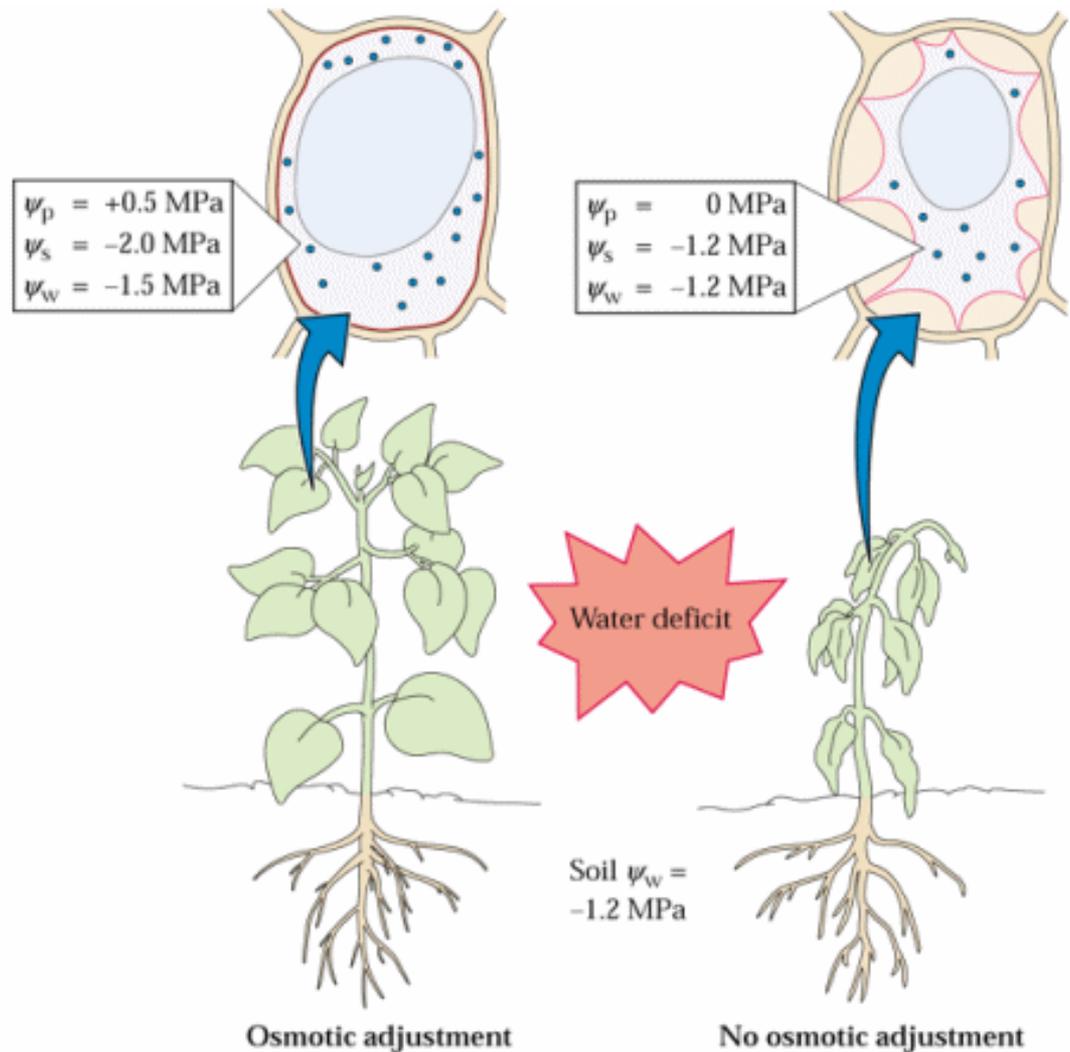


Eau se déplace du sol vers racines
fct gradient de potentiel

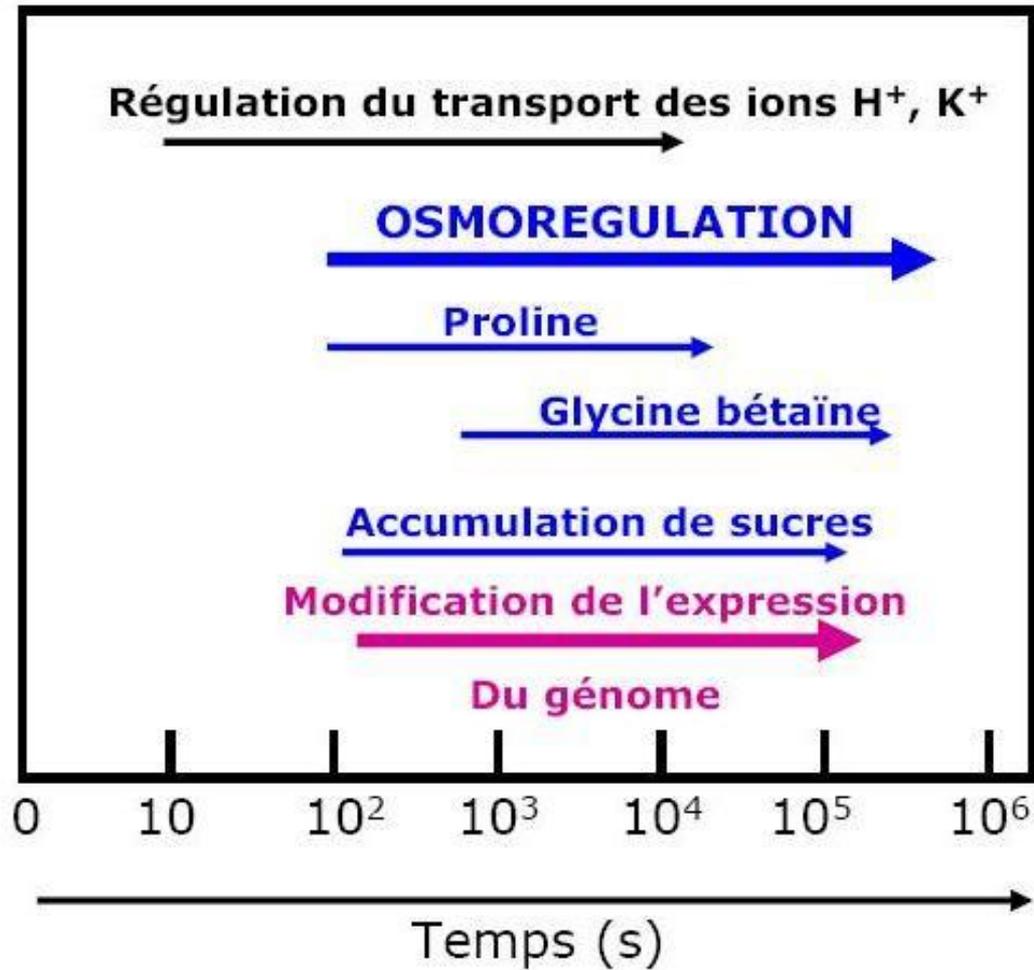
L'ajustement osmotique

\rightarrow Maintien de la turgescence des cellules

\rightarrow Accumulation dans le cytoplasme de composés osmoprotecteurs (osmolytes)



Réponse à la perte de turgescence (plantes adaptées)



Les osmolytes

= Osmoprotectants = Composés osmoprotecteurs

= Composés solubles compatibles (compatible solute)

→ Composés organiques

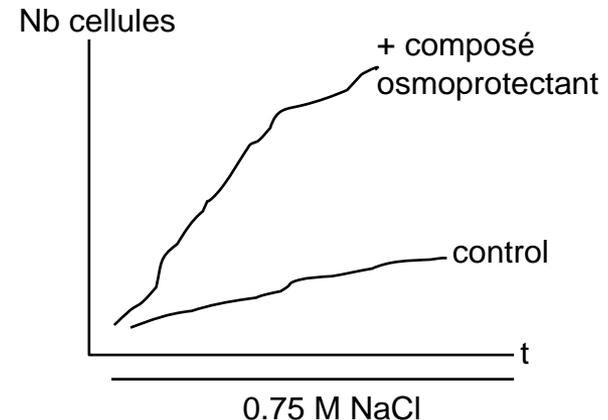
→ Propriétés physiques et biologiques compatibles, même à forte concentration, avec les fonctions métaboliques

✓ Molécules très solubles

✓ Molécules neutres au pH physiologique (non ionisées ou dipôles)

✓ Localisés dans le cytoplasme (cytosol et organelles), plus rarement dans la vacuole

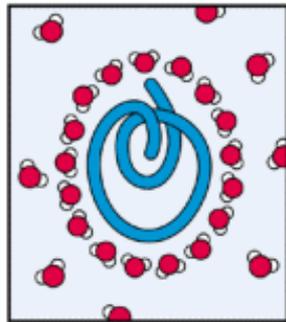
A l'origine : mise en évidence chez les bactéries



Composés solubles compatibles = molécules organiques

Pourquoi pas les ions ?

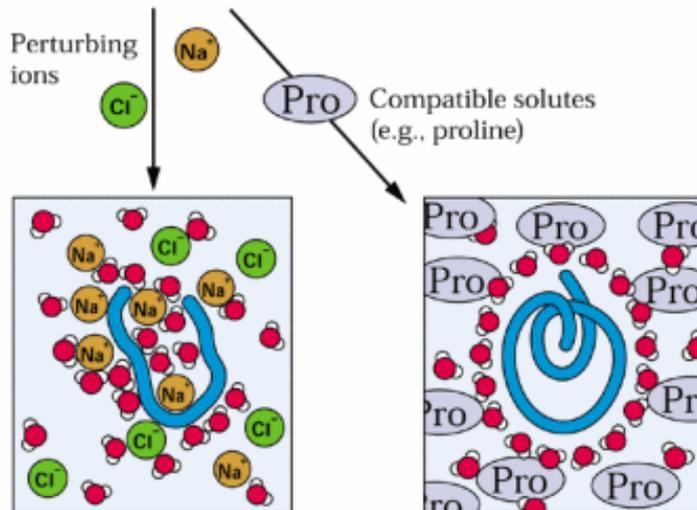
Fortes [ions] = Accumulation toxique de composés inorganiques → Interaction négatives avec les voies Métaboliques des cells
→ Dénaturation des protéines



Protéines stabilisées par des molécules H₂O

Osmolytes : molécules solubles, non chargées au pH physio

→ Ions : chargés



Disrupted protein (Fewer ordered H₂O molecules bound to protein, entropy high)

Intact protein (Highly ordered H₂O molecules surround protein, entropy low)

Différence de charges détruit la structure des protéines

Fonction des osmolytes

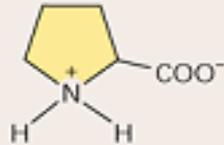
Fonction générale → Protection contre les stress abiotiques

- ✓ Ajustement osmotique
- ✓ Stabilisation des membranes
- ✓ Stabilisation de la conformation des protéines
- ✓ Propriétés : antioxydants → Elimination des radicaux libres ?

La structure chimique de quelques osmolytes importants

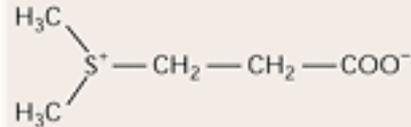
Compatible osmolytes

Amino acid:



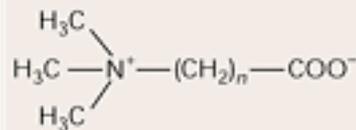
Proline

Tertiary sulfonium compound:

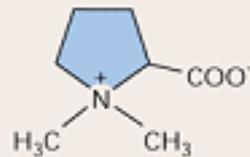


Dimethylsulfoniopropionate

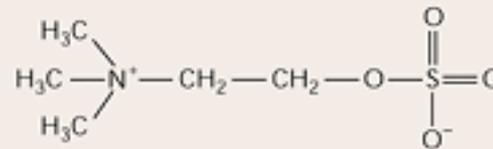
Quaternary ammonium compounds:



$n = 1$, Glycine betaine
 $n = 2$, β -Alanine betaine

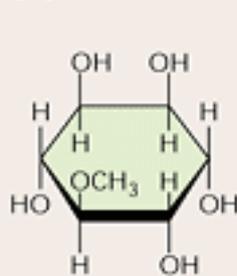


Proline betaine

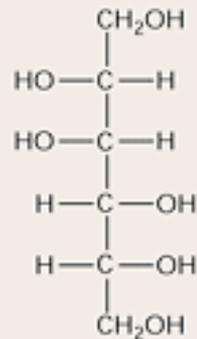


Choline-O-sulfate

Polyhydric alcohols:



Pinitol



Mannitol

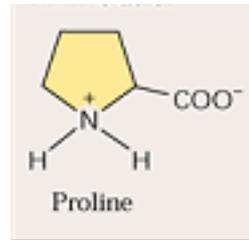
Accumulation :

La biosynthèse (irréversible ou non) est effectuée en réponse à des modifications du métabolisme à partir :

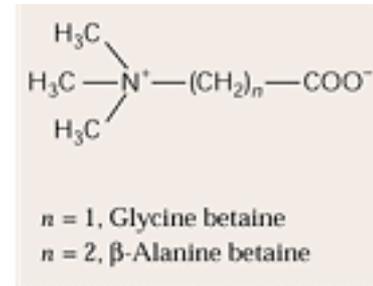
- ✓ des aa et leurs dérivés
- ✓ des sucres et divers alcools

Distribution dans le règne végétal : variable fct (espèces)

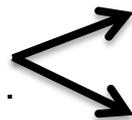
✓ Large : proline



✓ Restreinte : glycine bétaine
chez espèces : Plumbaginaceae



↗ [osmolytes]
obtenues à partir ...



Synthèse irréversible de composés (e.s. glycine bétaine)

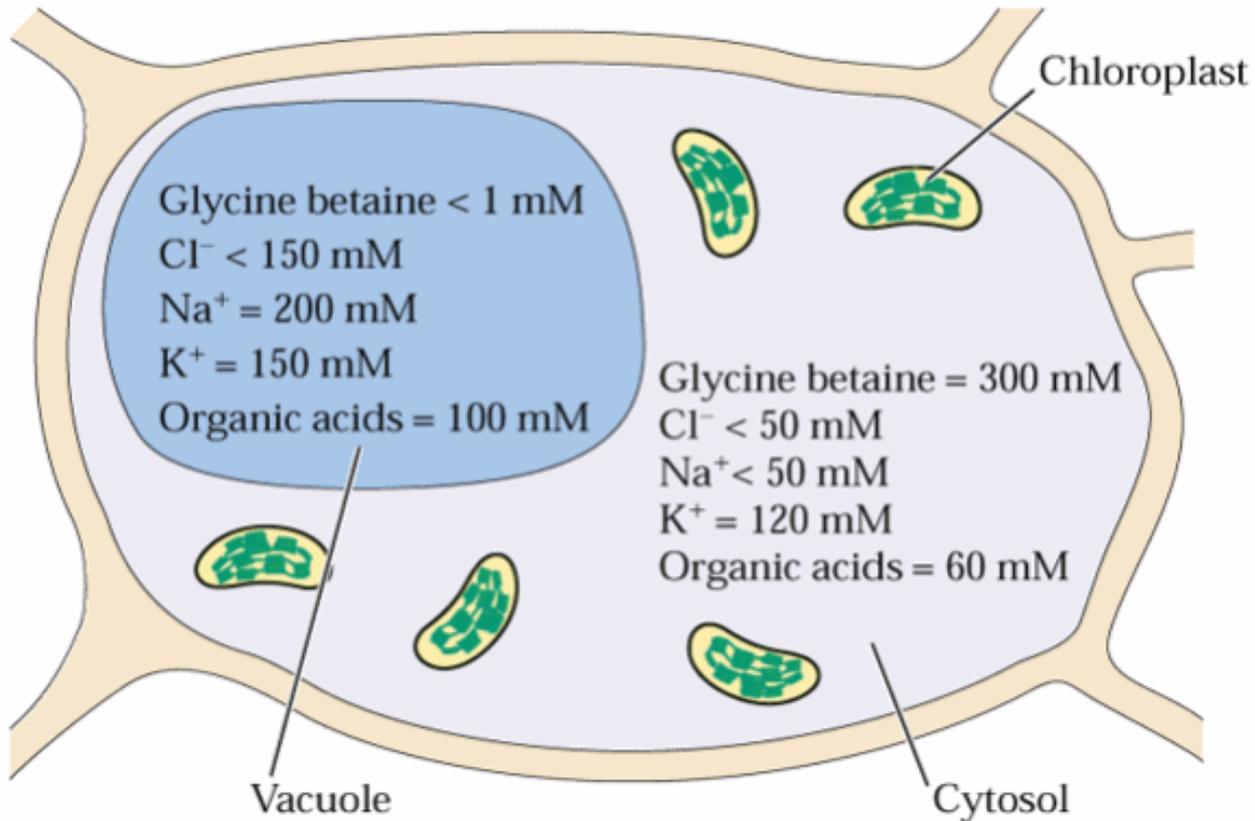
Contrôle de la synthèse et le taux de dégradation
(e.s. glucose et fructose, proline)

Localisation intracellulaire

Compartimentation → Cytoplasme majoritairement

Composés toxiques : stockés dans la vacuole

Feuille d'épinards stressée par le sel



Mécanisme(s) responsable(s) de cette partition → Connaissances limitées chez les plantes



Transporteurs spécifiques probablement impliqués

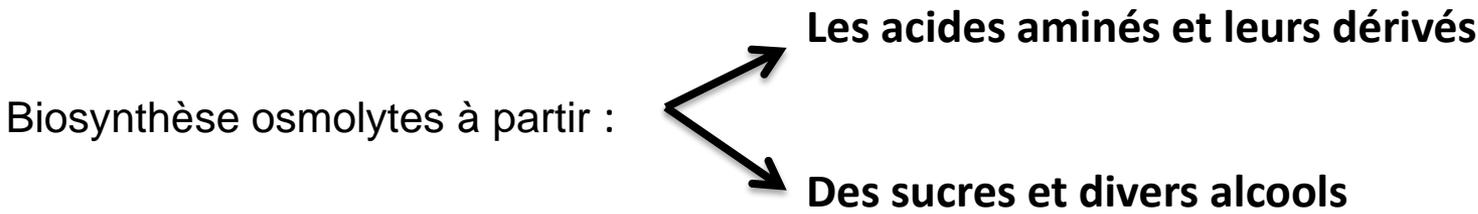


e.s. **ProT2**: cDNA Arabidopsis codant un transporteur de proline Identifié à partir de tests de complémentation fonctionnelle chez la levure.

→ Le niveau de transcrits de ProT2 augmente chez les plantes qui ont subi un stress hydrique ou un stress salin

Approches biotechnologiques pour l'amélioration de la résistance au stress hydrique

Nécessitent des études détaillées des voies de biosynthèse et la manipulation de l'activité des enzymes impliquées



Les acides aminés et leurs dérivés

- Acides aminés : proline

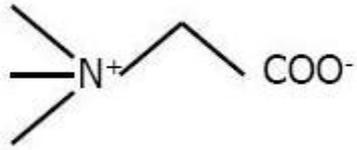
- Dérivés des acides aminés

✓ **QAC (Quaternary ammonium compounds)**

Glycine bêtaïne

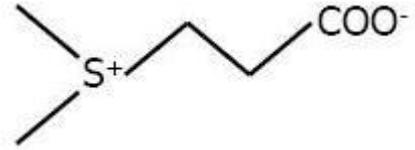
Choline-O-sulfate, b-alanine bêtaïne, proline-bêtaïne,

Hydroxyproline-bêtaïne



✓ **TSC (tertiary sulfonium compounds)**

DMSP 3-diméthylsulfoniopropionate



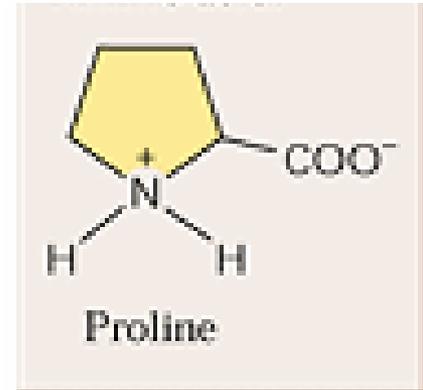
Biosynthèse osmolytes à partir :



1- A partir d'Acides aminés

1-1 La proline

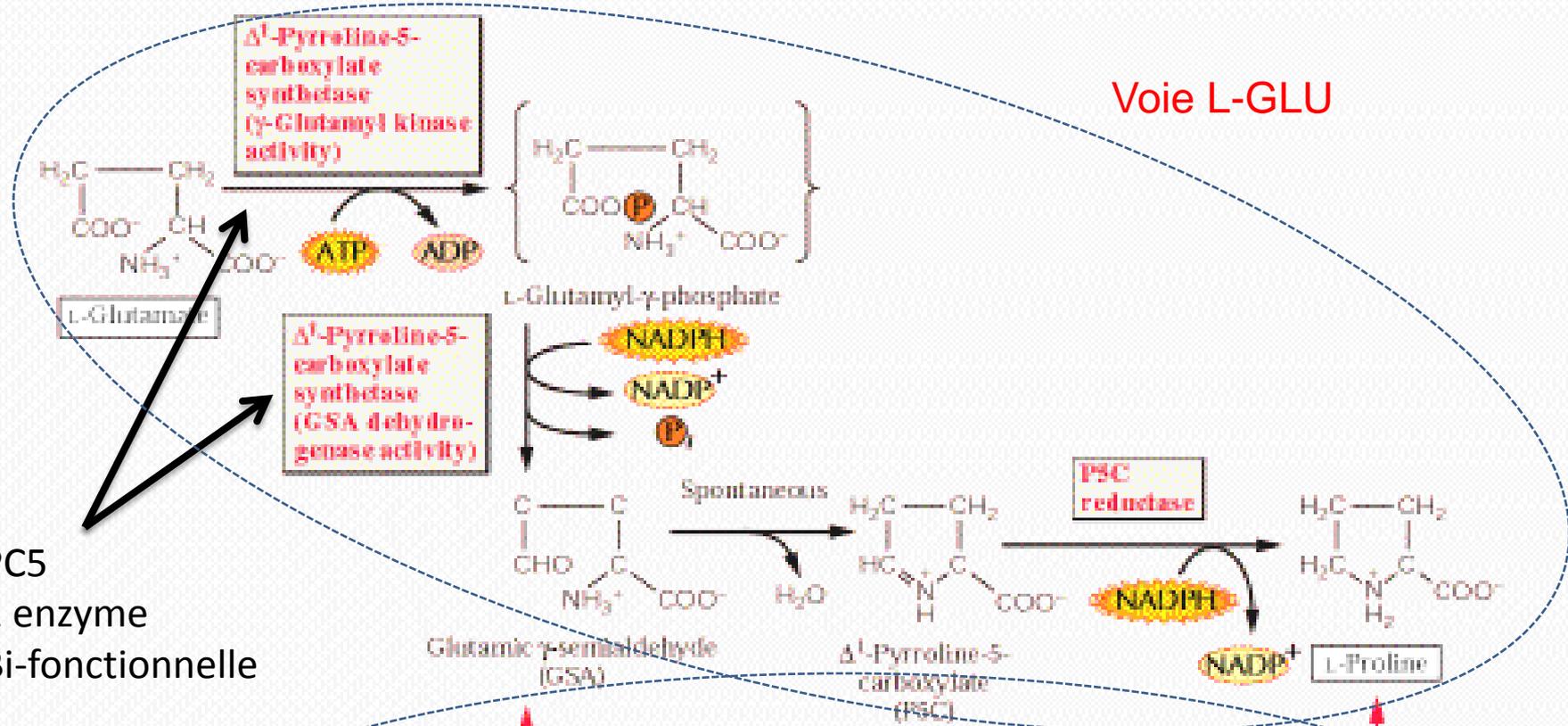
Synthétisée à partir de deux voies métaboliques



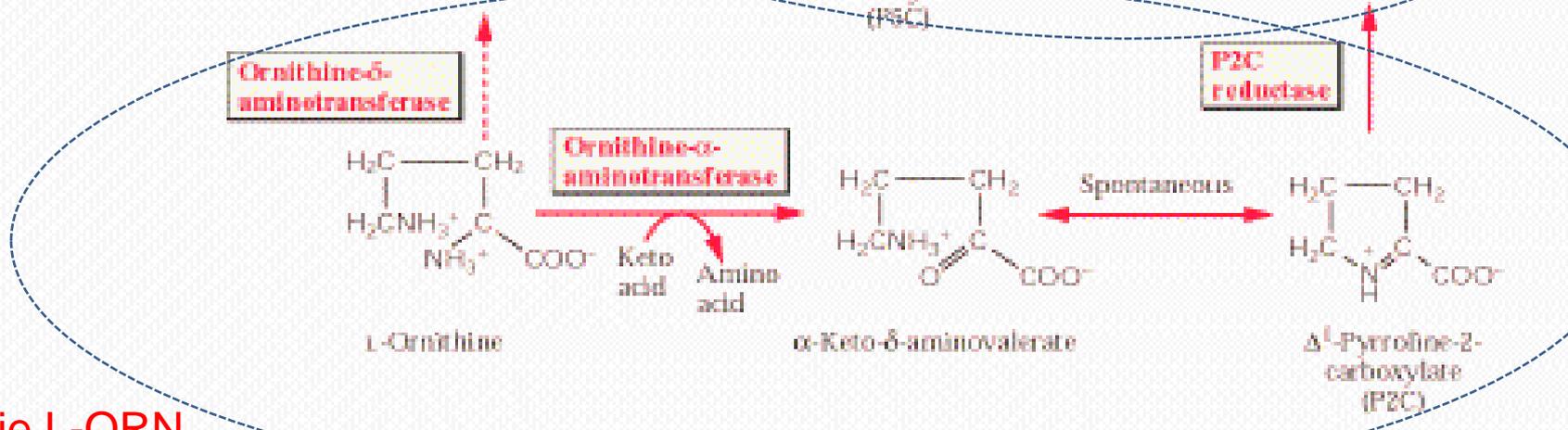
1- à partir de l'acide glutamique (voie procaryotique).

2- La deuxième voie (eucaryotique) est la voie de l'ornithine, mal connue.

Voie L-GLU

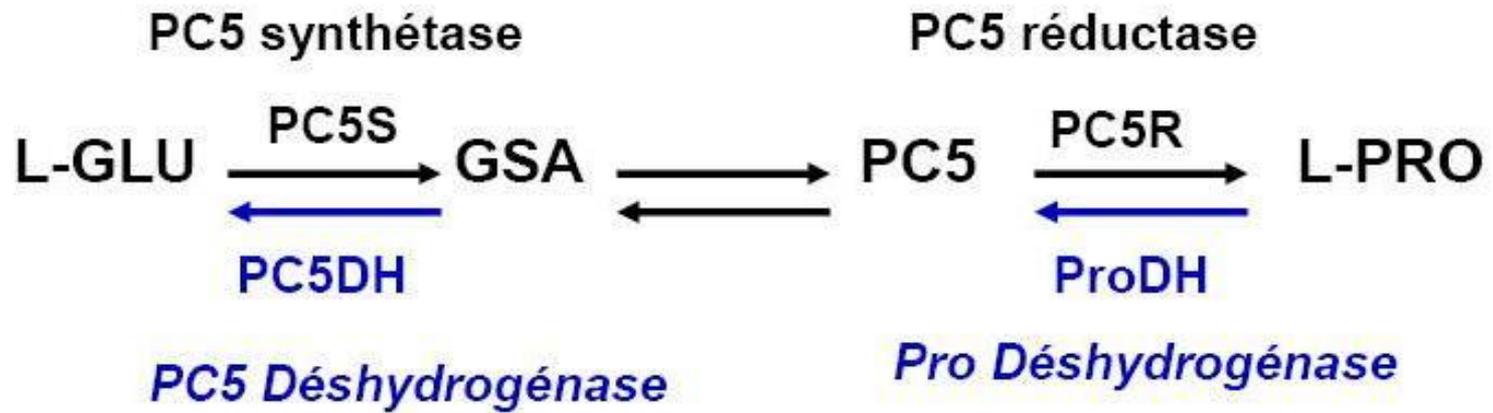


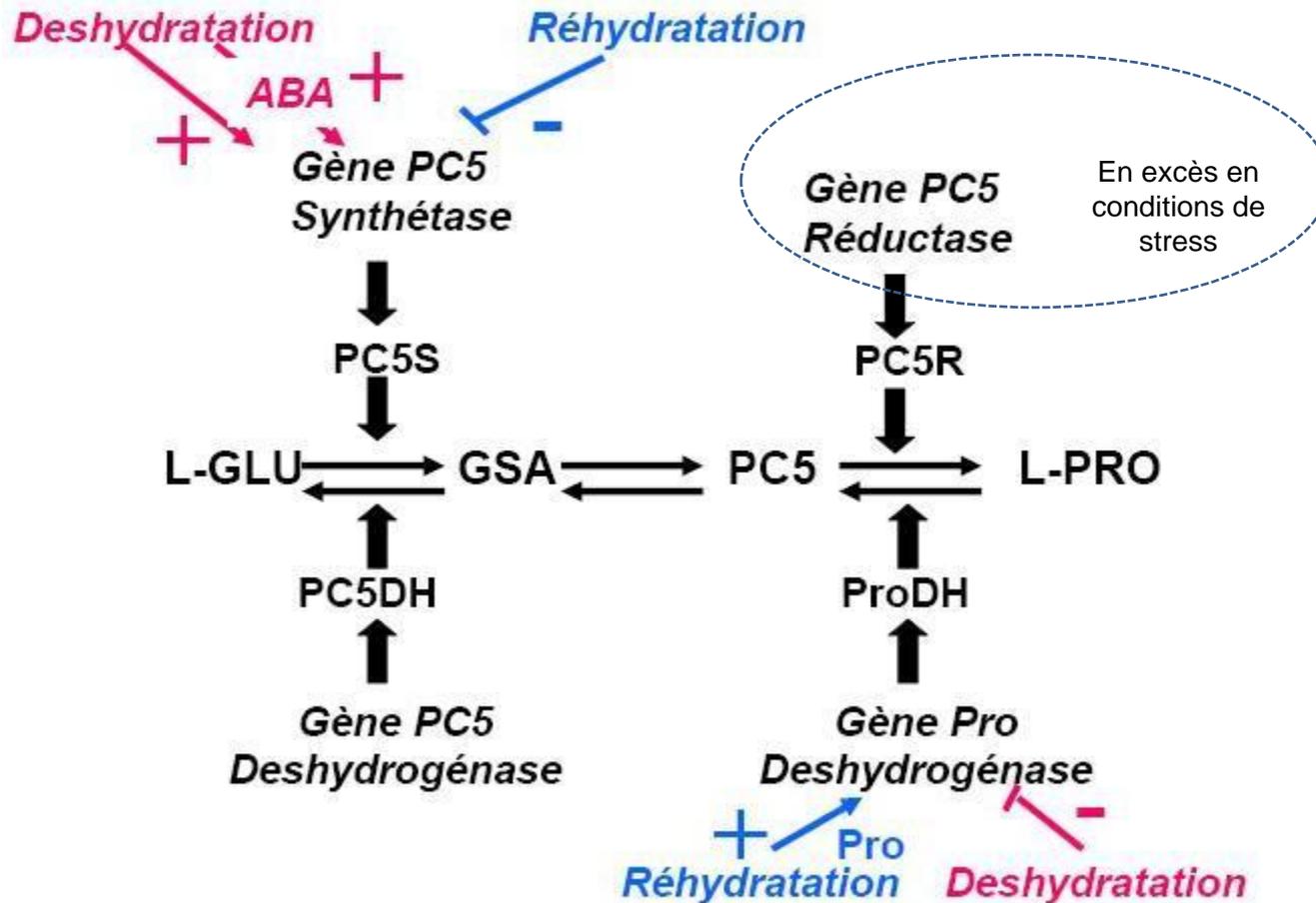
Voie L-ORN



Biosynthèse de la Proline :

Voie L-GLU = Voie de biosynthèse principale (stress osmotique)

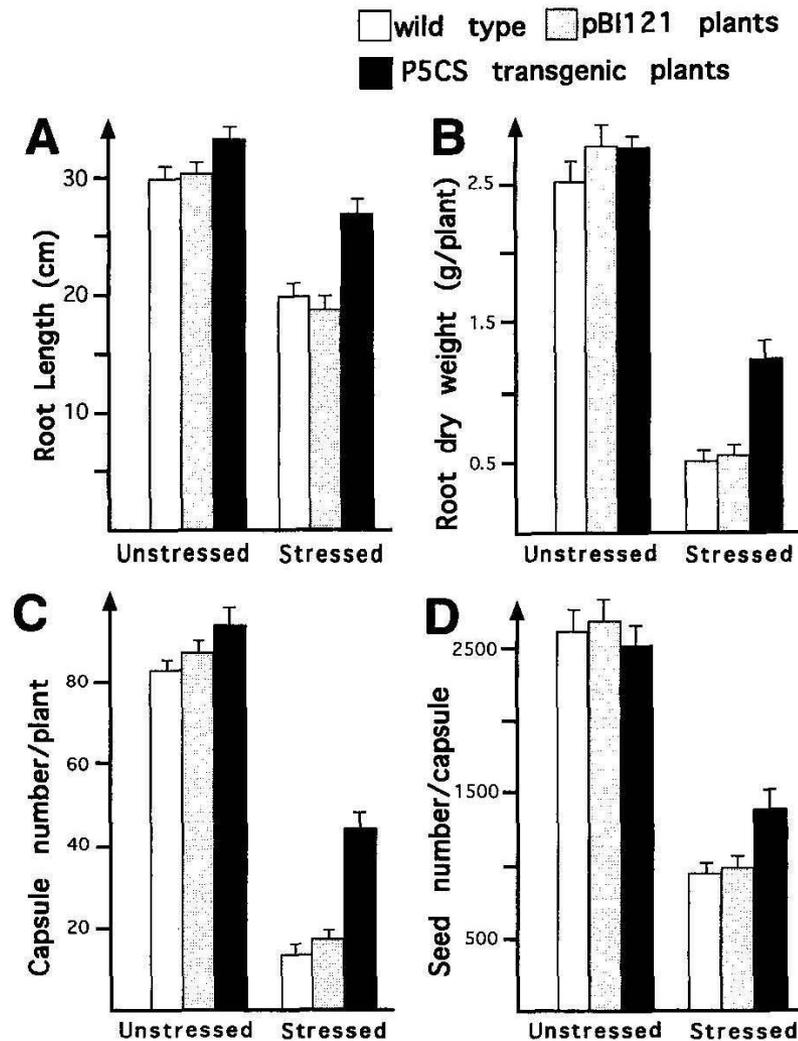




PC5 synthétase induite par la sécheresse, fortes cc de NaCl du sol et le traitement ABA mais pas la réductase !!!

PC5 réductase en excès, non limitante, contrairement à la PC5 synthétase

C'est donc la PC5 synthétase qui est régulée au niveau **transcriptionnel** par le stress



Surexpression du gène P5CS dans le tabac
 → code PC5 synthétase



**Amélioration de la production de
 biomasse et développement floral
 sous conditions de stress salin**

Kishor P.B.K. *et al.*, 1995
 Plant Physiology 108:1387-1394

Figure 6. Comparison of the wild-type (open box), pBI121 (stippled box), and P5CS transgenic plants (solid box) in root length (A), root dry weight (B), pod number (C), and seed number (D). The plants were grown to maturity in Metromix, supplied with 0.5 m NaCl. Ten independent transgenic lines (T_1) with six plants each were used for this analysis, and only an average value is shown.

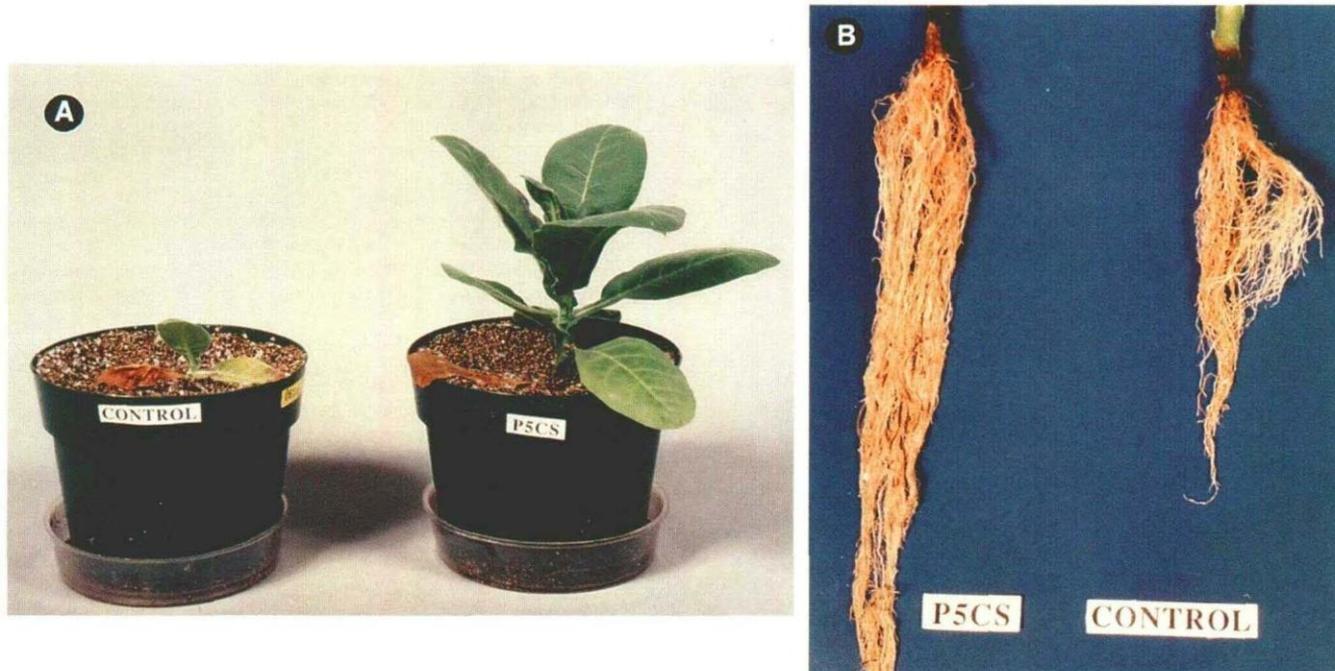


Figure 7 A, Phenotype of control and P5CS transgenic plants treated with salinity stress. Plants of wild type and transgenic line 22 (T_1) were grown in vermiculite, and at the four-leaf stage, the pots were transferred to trays containing 0.4 M NaCl and allowed to stand in the solution for 3 weeks. B, Root phenotype of wild type and transgenic line 22 (T_1) treated with drought stress. The plants were potted in Metromix, and 6-week-old plants were subjected to drought conditions until flowering. The roots at the time of flowering were washed and photographed.

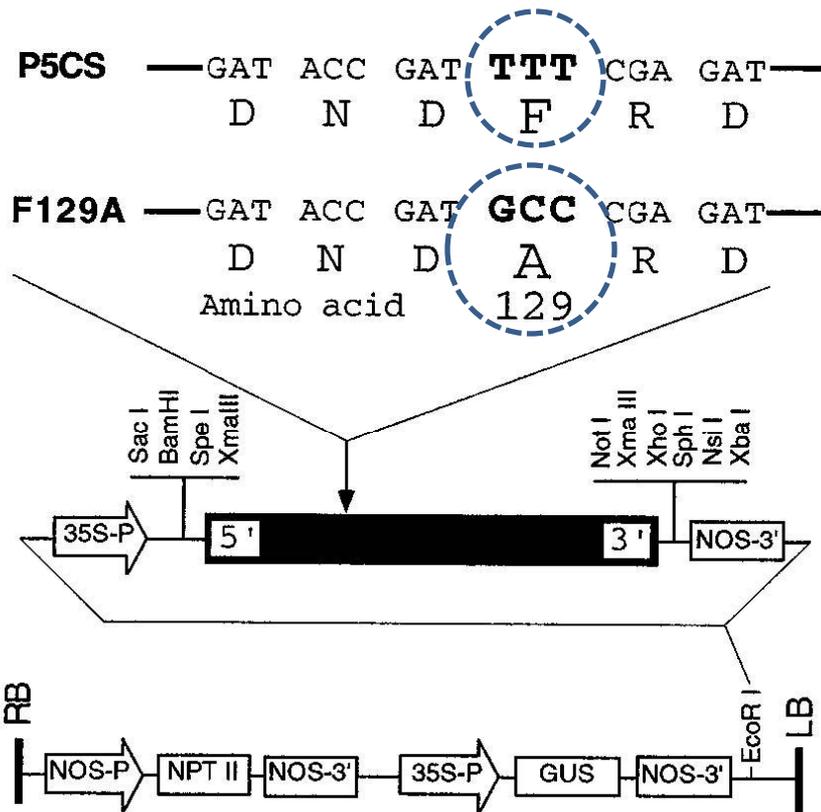
L'accumulation de la proline est aussi contrôlée au niveau **post-traductionnel** :

→ inhibition de la PC5S par la proline

Mutation du site responsable de la retro-inhibition de P5CS par la proline

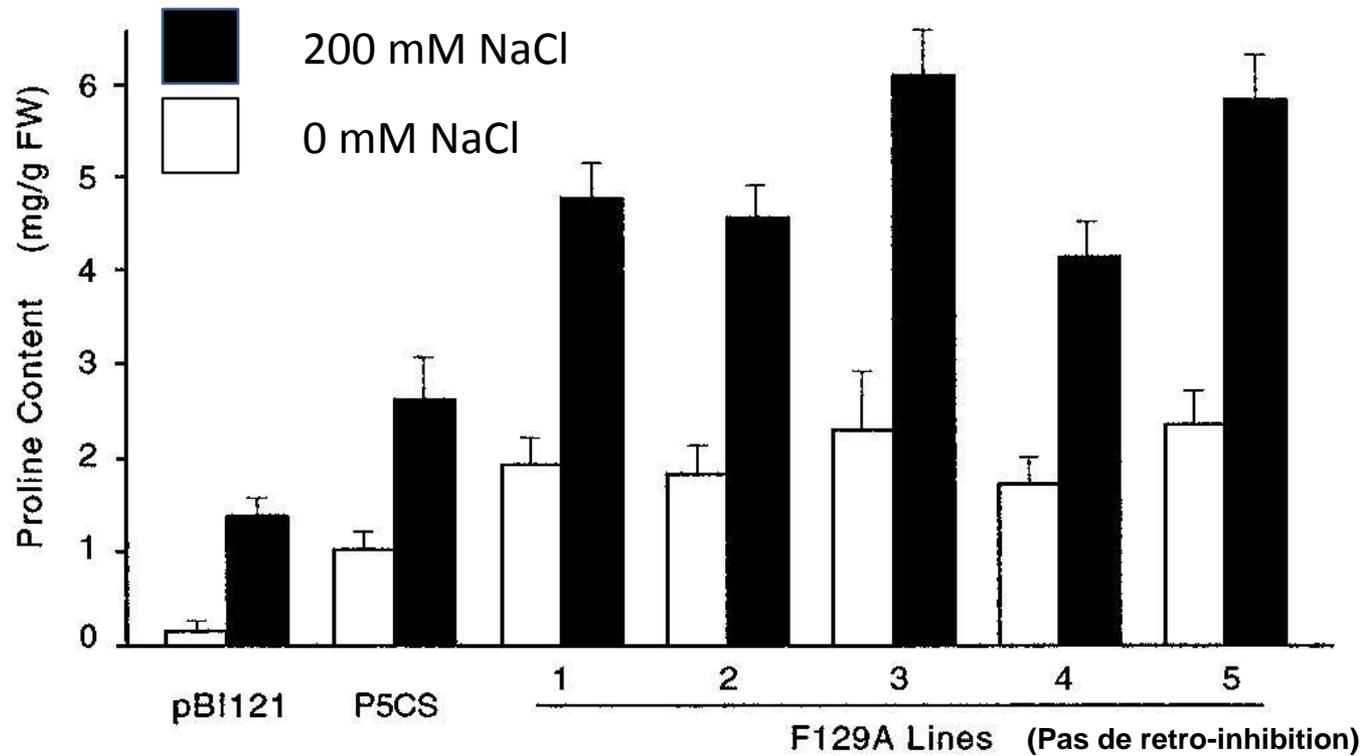
Condon TTT muté en GCC par mutagenèse dirigée

aa Phe (F) remplacé par aa Ala (A)



→ L'enzyme mutante garde les mêmes caractéristiques cinétiques que WT (P5CS)

→ Régulation allostérique par la proline est éliminée



Accumulation de la proline dans les lignées mutantes P5CS

Les plantes transgéniques mutées accumulent ~ 2-fois plus de proline que les plantes exprimant P5CS WT de *V. aconitifolia*

→ Le stress salin 200 mM accentue cette réponse

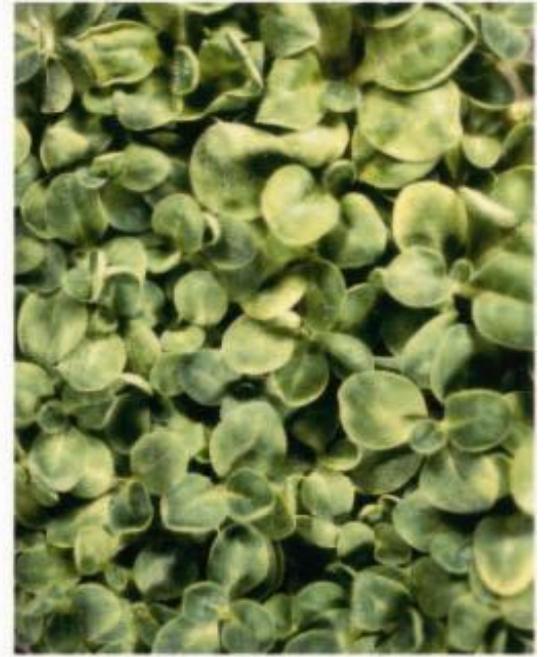
WT



P5CS

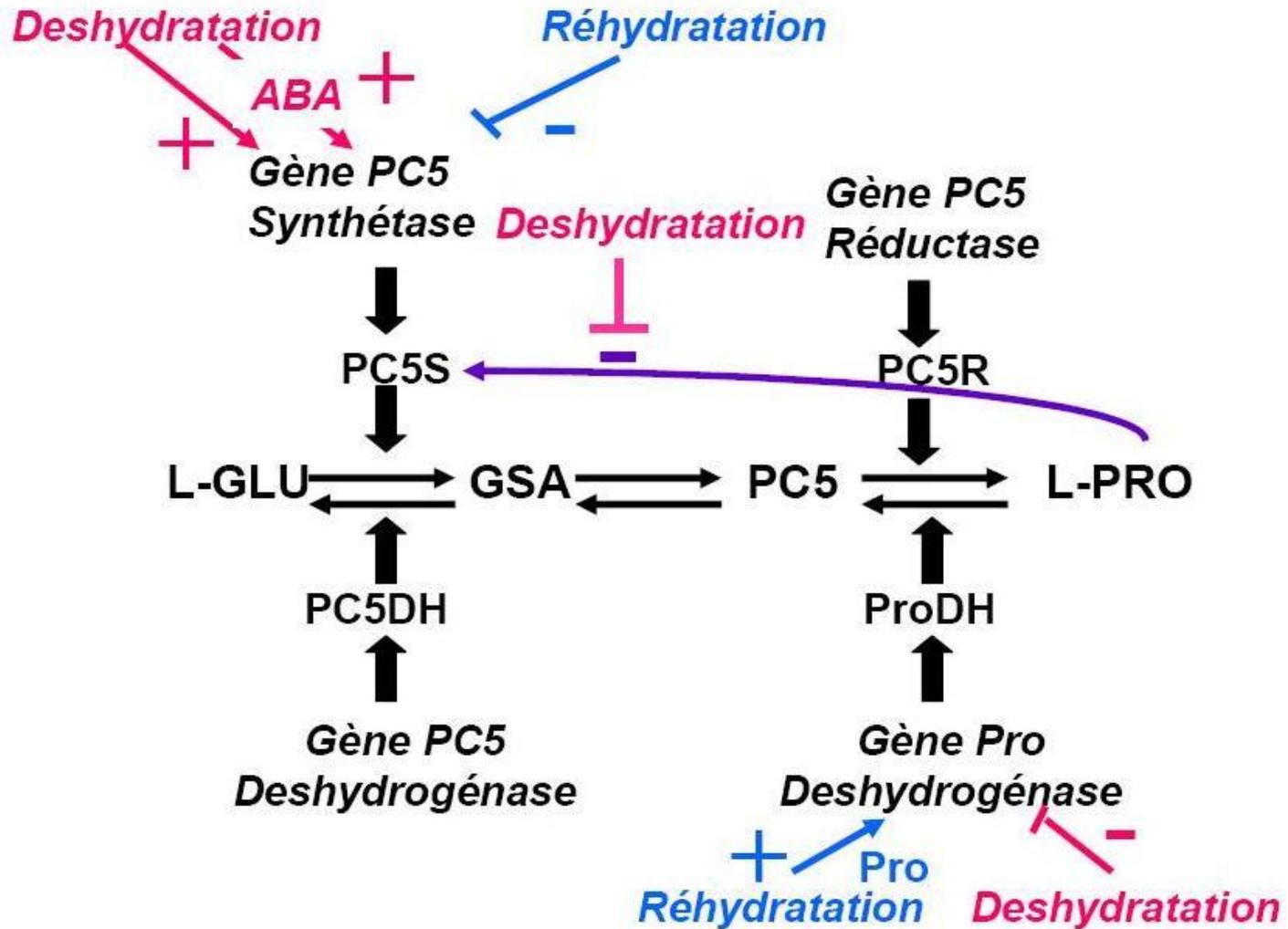


F129A



Phénotypes des plantes wild-type (6 semaines), P5CS, et mutants P5CSF129A sous stress salin (200 mM NaCl).

→ La mutation améliore la résistance stress de sécheresse et salin



→ Sous condition de stress la rétro-inhibition de P5CS par la proline est perdue

Biosynthèse osmolytes à partir :



- 1- Les acides aminés et leurs dérivés
- 2- Des sucres et divers alcools

1- A partir des dérivées d'acides aminés

1-2 La Glycine bétaine

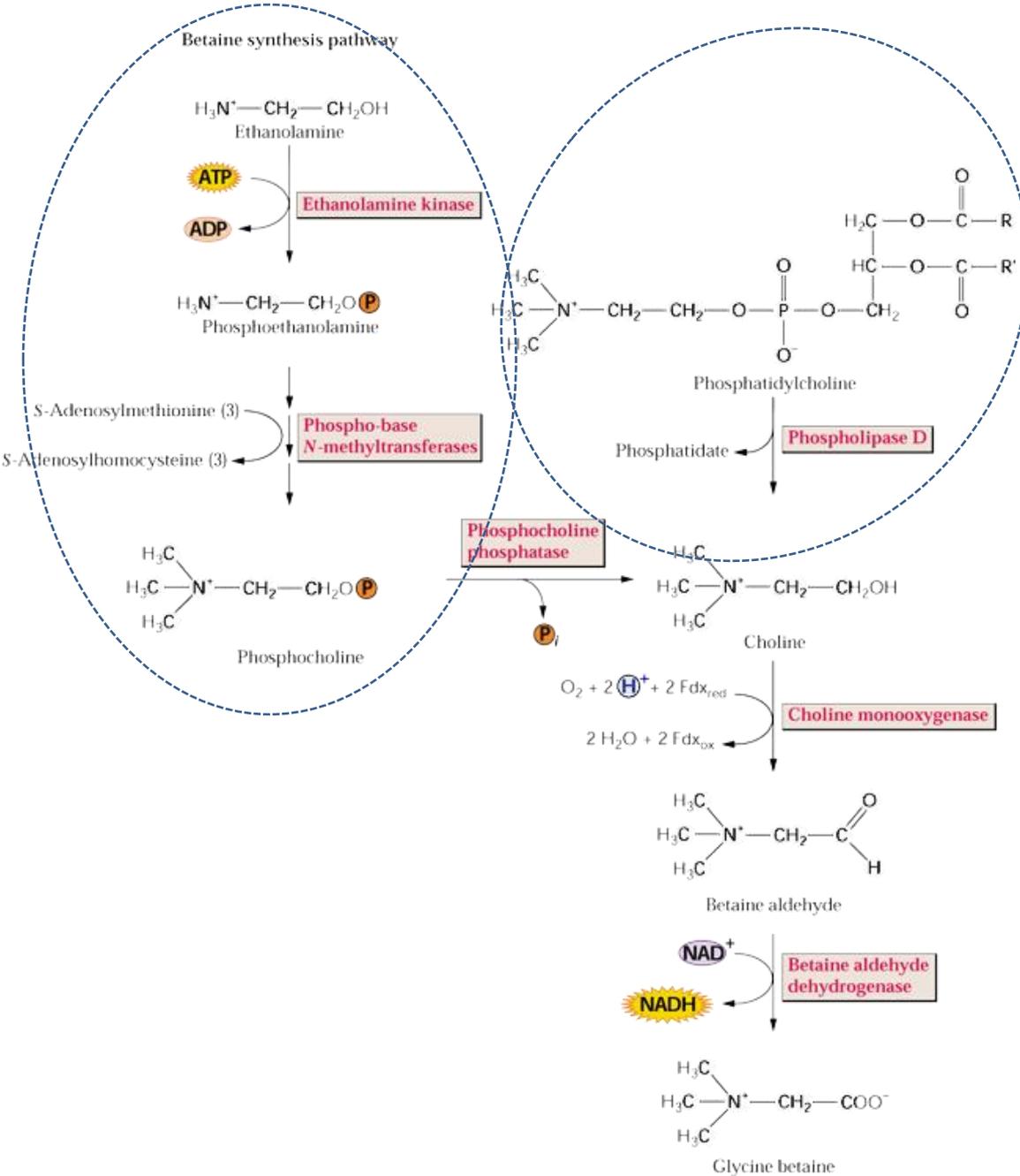
→ Méthylamine la plus distribuée

→ Trouvée chez de nombreuses plantes supérieures et algues

→ Fabriquée dans les tissus chlorophylliens à partir de la choline ensuite transportée dans les tissus jeunes par le phloème

→ La régulation de son accumulation lors du stress hydrique résulte d'une hausse de sa synthèse

Biosynthèse de la Glycine bêtaïne



Ethanolamine
(*épinard betterave*)



Phosphocholine

Phosphatidylcholine
(*Orge*)



Bétaïne aldhyde



Glycine bêtaïne

Oxydation de la ferredoxine

Oxydation
Déshydrogénase

Stress hydrique et osmotique



- Choline mono-oxygenase
- Betaine aldehyde dehydrogenase



[ARNm ↗
Activité ↗

Sans stress



Pas d'expression !

Obtention de lignées isogéniques
produisant la glycine betaine



RWC élevé observé en conditions de
stress osmotique



Possibilité d'introduire ce caractère
génétique chez les plantes qui ne
produisent pas glycine betaine

Biosynthèse osmolytes à partir :

- 1- Les acides aminés et leurs dérivés
- 2- Des sucres et divers alcools

2- A partir des sucres et divers alcools

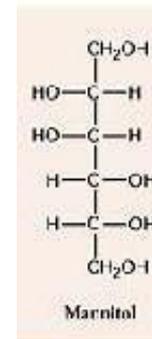
→ Dérivés des polyols aliphatiques ou cycliques (sucres alcoolisés)

→ Retrouvés dans quasiment tout le règne vivant.

2-1 Le mannitol

Mannitol = forme réduite du mannose

→ Polyol aliphatique ----->

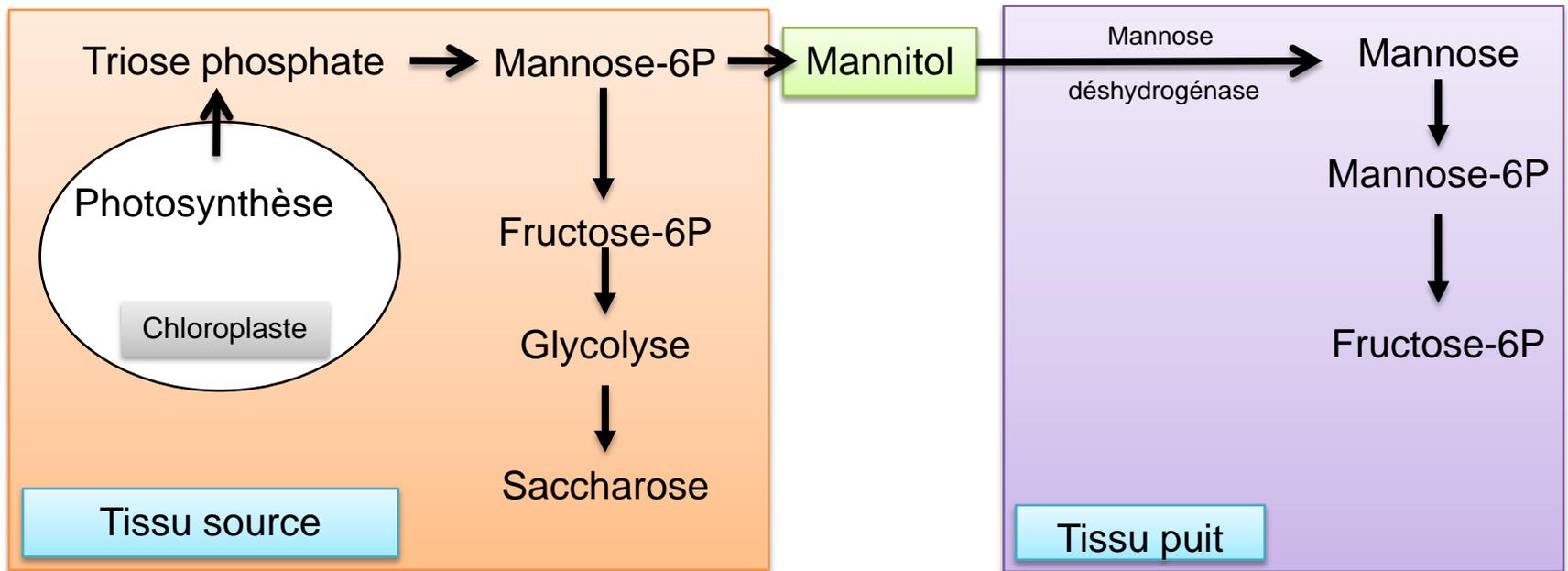
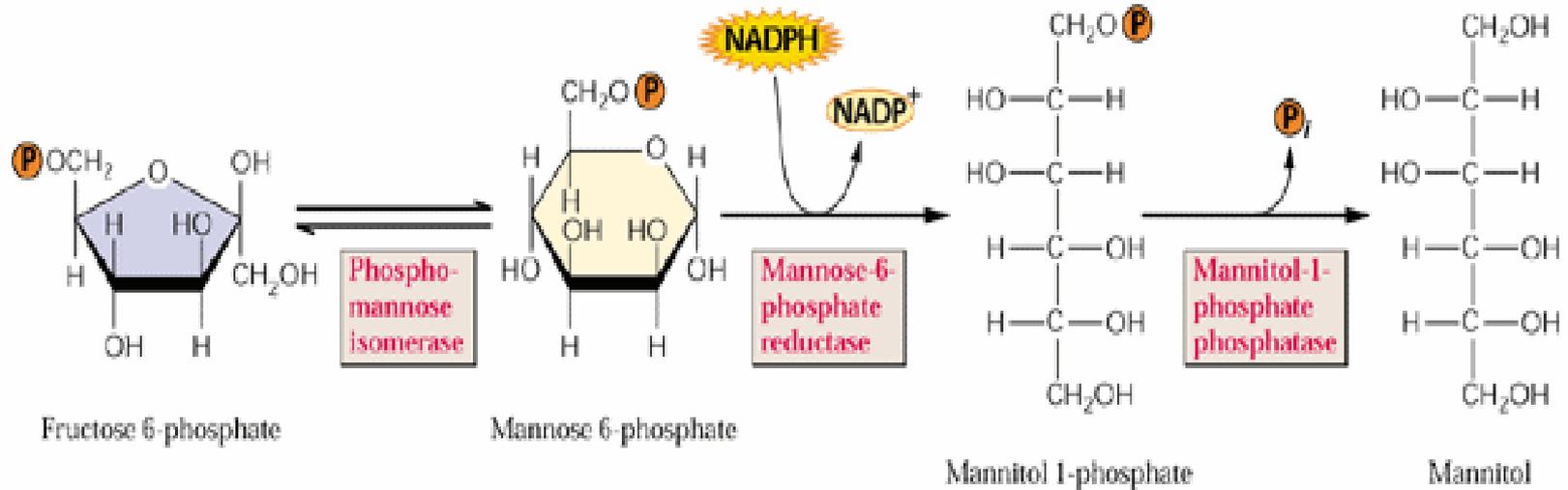


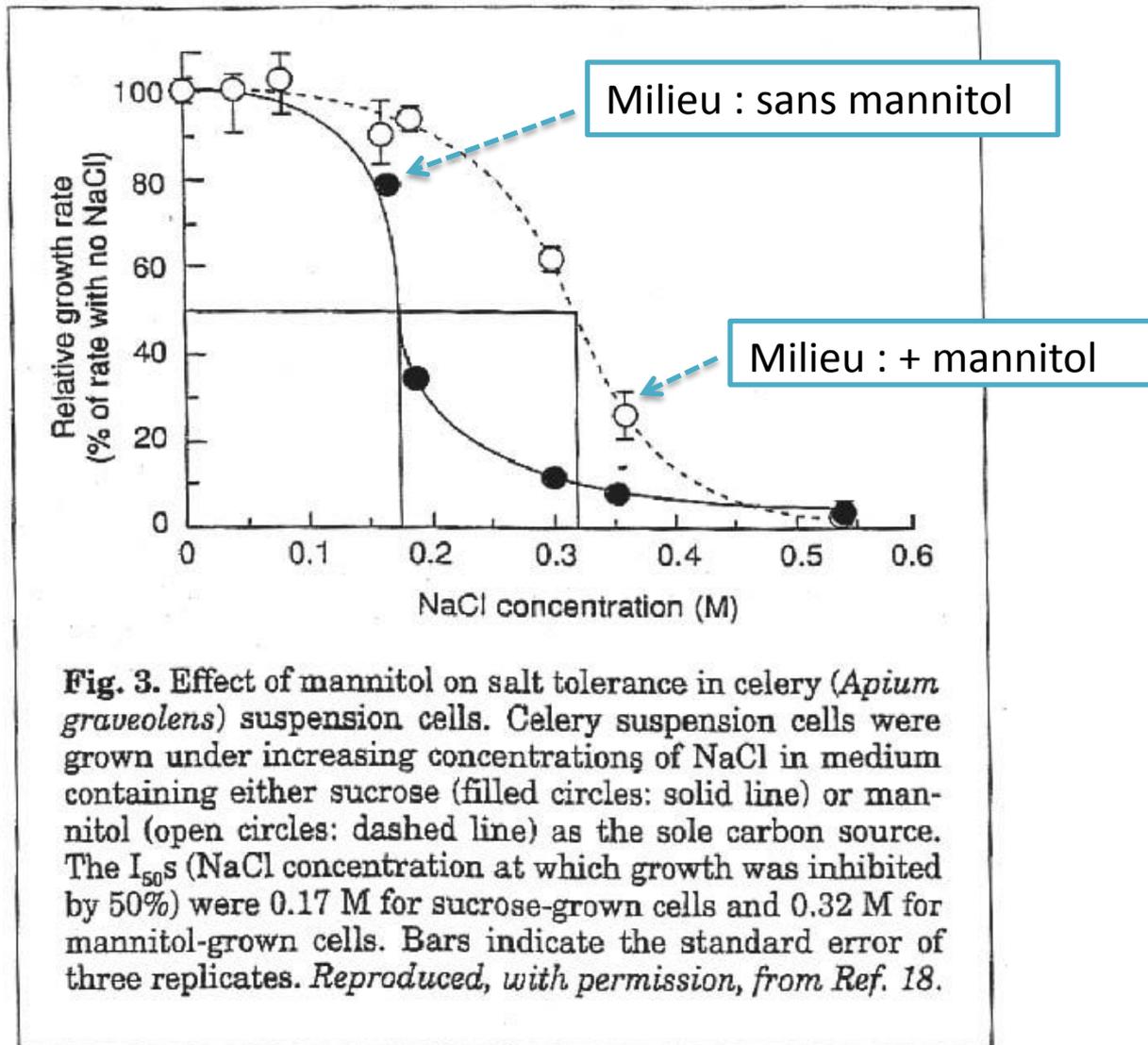
→ Le plus représenté dans les espèces végétales

→ Accumulé dans le cytoplasme

→ Peut mimer la structure de l'eau (grâce fonctions hydroxyles –OH)

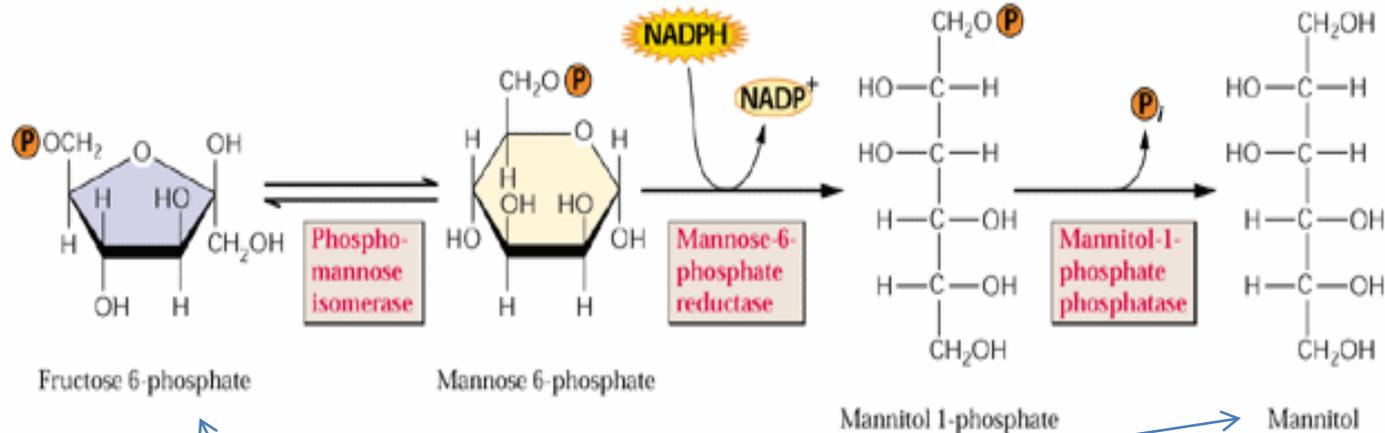
→ Maintenir une sphère d'hydratation autour d'une protéine





Etude sur suspension de cellules de céleris, en stress salin, avec ou sans mannitol

Chez *E. coli* : 1 gène *mtlD* pour 2 réactions



mtlD \rightarrow Mannitol-1-P-déshydrogénase

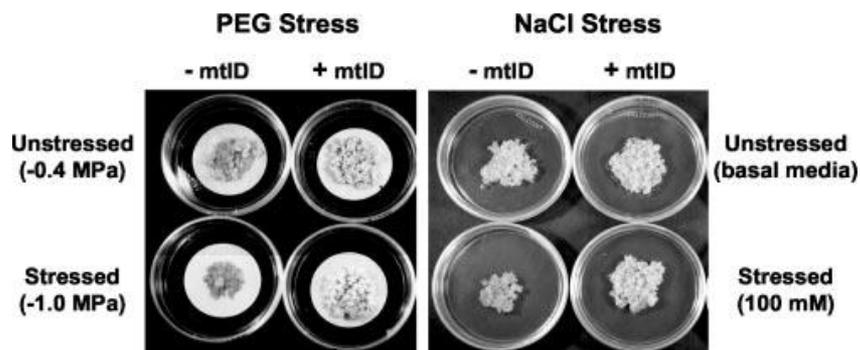
Enzyme activée par une attaque pathogène \rightarrow PR protéine (Pathogenesis Related)

Champignons produisent mannitol pour se protéger des ROS végétaux

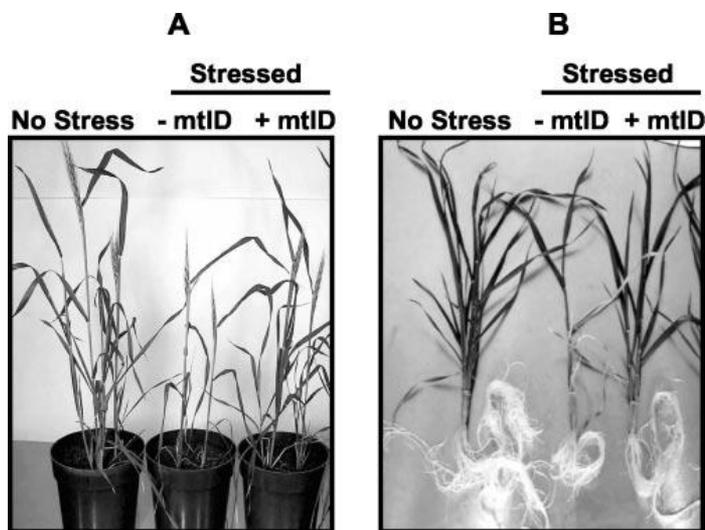
Infection \rightarrow Mannitol déshydrogénase \nearrow \rightarrow Destruction mannitol du champignon

Sensibilité aux ROS \rightarrow Protection contre le pathogène

Introduction du gène *mtlD* chez le blé → Blé ne produit pas mannitol comme source de C



Effect of osmotic stress on the growth of transgenic wheat calli.



Effect of water stress and salinity on the growth of +mtlD and -mtlD plants

Abebe et al., Plant Physiol. (2003)

→ L'expression ectopique du gène *mtlD* de la biosynthèse du mannitol dans le blé améliore la tolérance aux stress hydrique et salin

Régulation de l'accumulation du mannitol

✓ Inhibition des voies métaboliques concurrentes + chute de la vitesse d'utilisation

➤ voies de synthèse du saccharose

➤ Diminution globale de son catabolisme

✓ Inhibition de la mannitol déshydrogénase, selon un mécanisme transcriptionnel

→ chute des ARNm

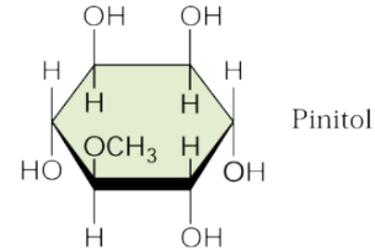
Biosynthèse osmolytes à partir :

- 1- Les acides aminés et leurs dérivés
- 2- Des sucres et divers alcools

2- A partir des sucres et divers alcools

2-2 Le pinitol

→ Polyol cyclique ----->



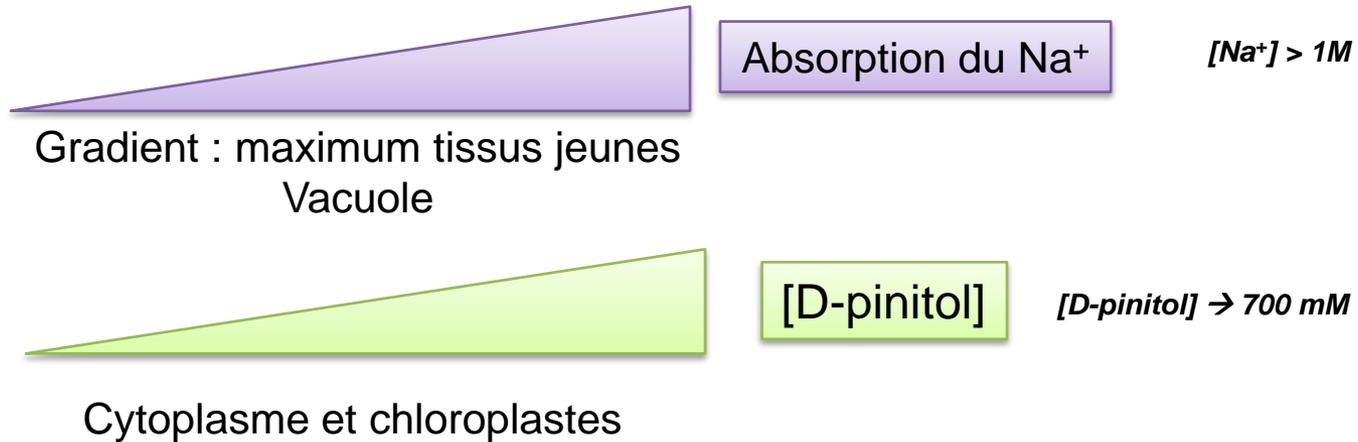
Accumulé pendant le stress osmotique chez certaines familles (Pinacee, Fabacee, Caryophyllacee)

Induction très forte de la myo-inositol-6-O-méthyl transferase en condition de stress salin (*60) → par régulation transcriptionnelle.

Retrouvé en gdes qtés chez les halophytes *exp* : *Mesembryanthemum cristallinum*

Mesembryanthemum cristallinum Ice plant (Halophyte)

Désert de Namibie
Croissance en milieu sec, salin et froid
Modèle d'étude du stress hydrique



En clair : Elle stocke les ions dans la vacuole et compense avec le pinitol dans le cytoplasme

Stockage de Na^+ dans les cellules épidermiques : ↗ Taille → Polyploïdie

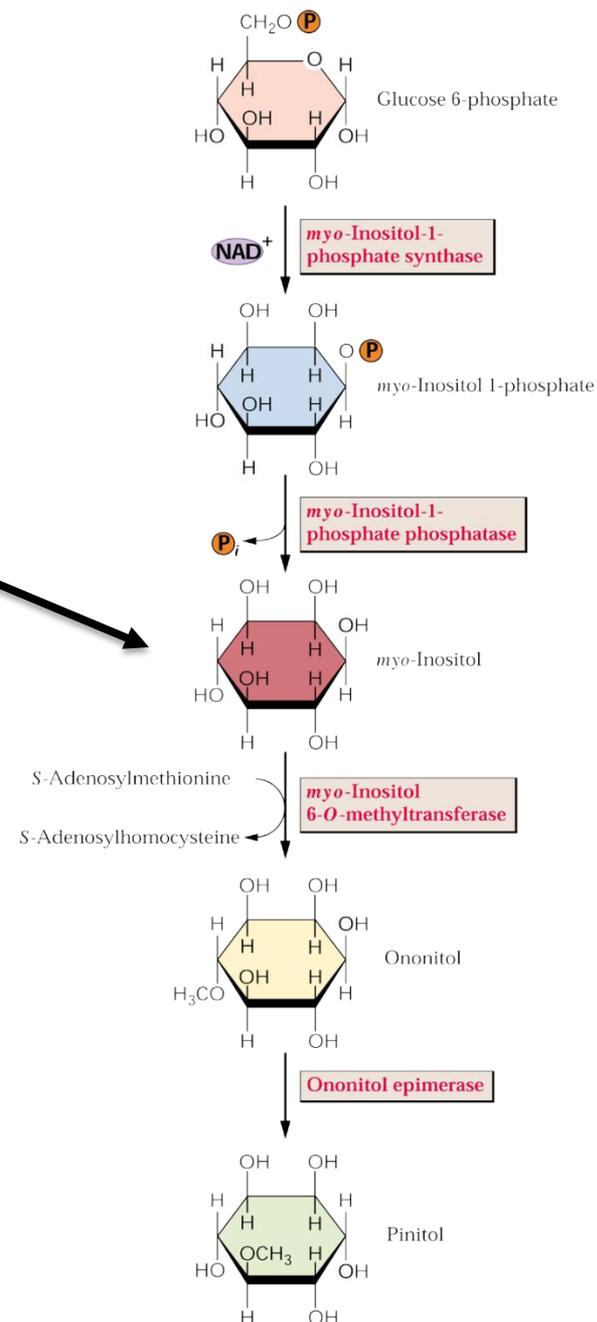
Biosynthèse du pinitol : voie induite par le stress

Le myo-inositol est un carrefour métabolique

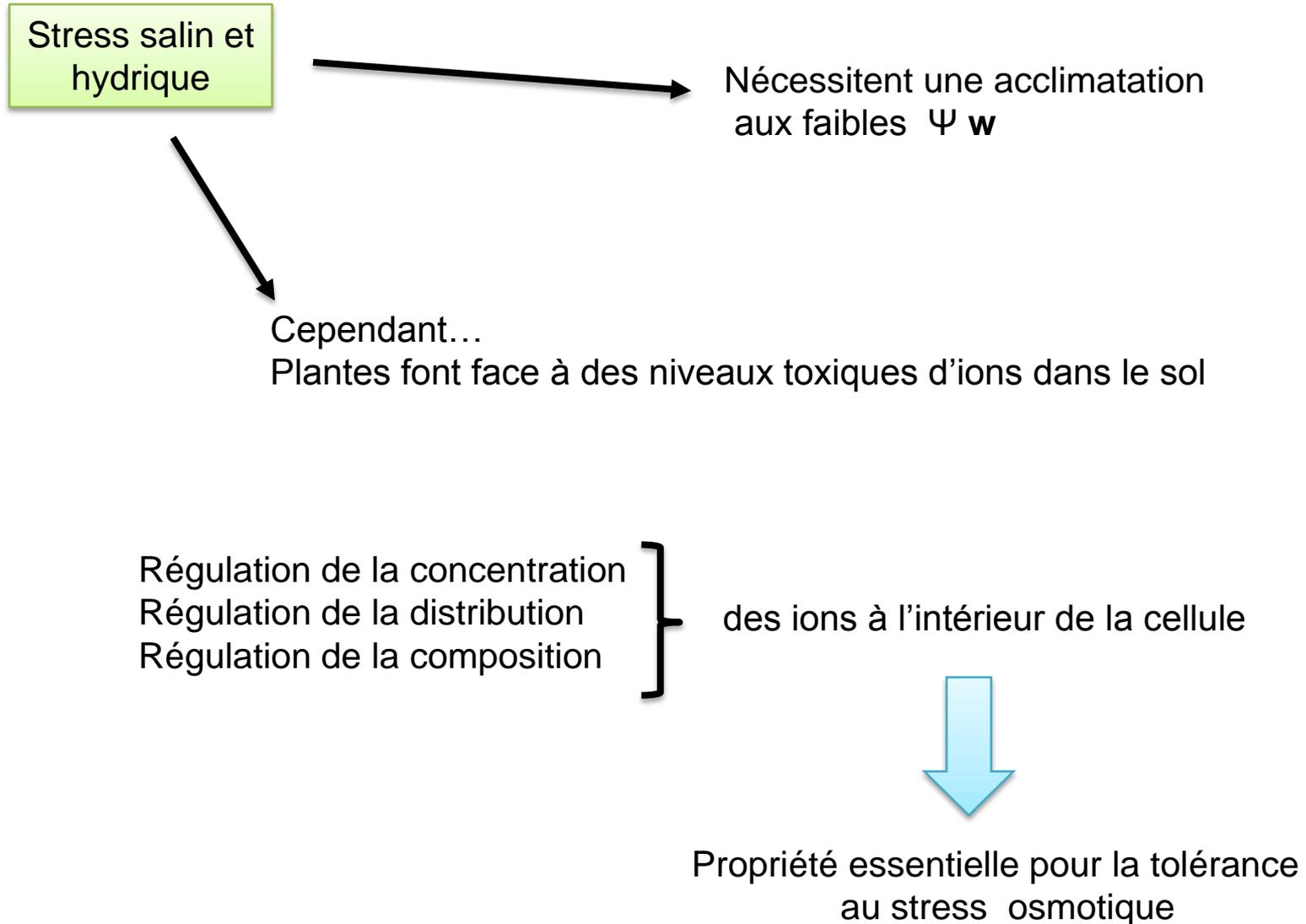
→ Synthèse de nombreux composés essentiels à la croissance normale des plantes

→ Synthétisé à partir du glucose6P

→ Cette voie est constitutive, quelque soit l'état de stress de la plante

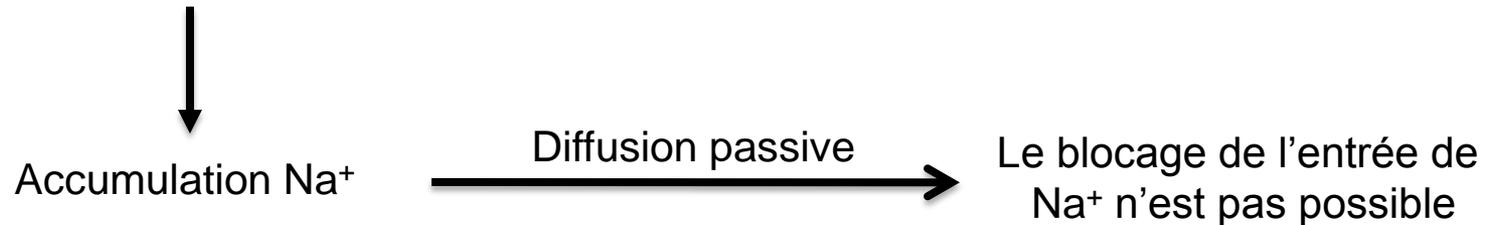


Comment la sécheresse et le sel affectent-ils les mouvements d'eau et d'ions à travers la membrane?



Rôles des transporteurs, des pompes et des canaux dans la tolérance aux stress

Croissance sur environnement riche en sel



HKT1 (orge): (High-Affinity transporter for K⁺ uptake)

Co-transport K⁺-Na⁺:

qd [Na⁺] ↑, l'entrée de K⁺ est bloquée

→ HKT1 devient un transporteur de Na⁺ de faible affinité



Principale raison de toxicité de Na⁺ : blocage de l'entrée de K⁺
(K⁺ macronutriment essentiel)

Accumulation passive (et inévitable)
de Na^+ dans les cellules

Peut être (en partie) évitée par :

- ✓ Expulsion active de Na^+ à l'extérieur de la cell
- ✓ Séquestration dans la vacuole

Il a été montré que le traitement salin
↗ l'activité de antiports H^+/Na^+ chez
plusieurs plantes

Ces transporteurs nécessitent un potentiel (gradient)
électrochimique à travers la mb plasmique

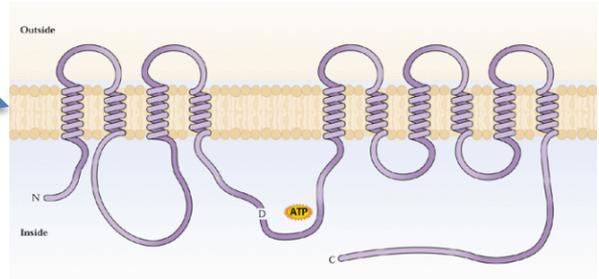
Les Pompes qui fournissent l'énergie aux antiports H⁺/Na⁺

- ATP s'accroche sur la région hydrophobe
- Résidus Asp nécessaire pour la phosphorylation
- Protons s'accrochent ds la région entre les hélices 6-10
- Boucle hydrophobe entre hélices 2 and 3 catalyse la dé-phosphorylation de Asp

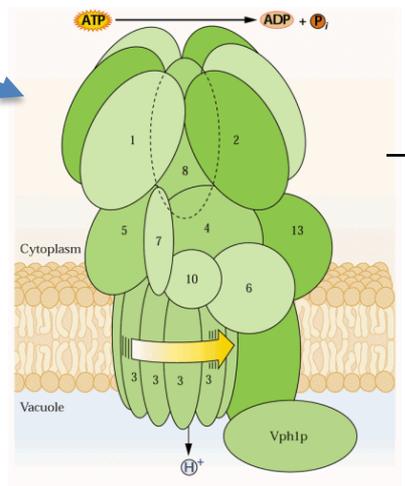
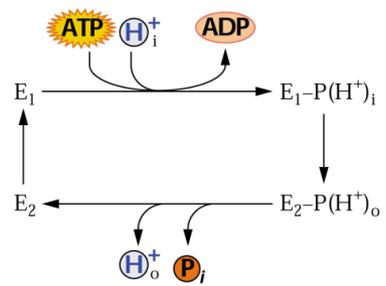
H⁺-ATPase mb plasmique

H⁺-ATPase vacuole

H⁺-pyrophosphatase tonoplaste



Réactions du cycle de ATPase



Catalyse la translocation de H⁺ ds la vacuole à travers l'hydrolyse de l'ATP

Composition polypeptidique très complexe

Applications de ces résultats:
Lignées transgéniques A. thaliana
 Sur-exprimant l'antiport K⁺/Na⁺



Plantes capables de croître sur un milieu + 200 mM NaCl (~1/2 cc de la mer en sels)

Mouvements d'eau entre les compartiments intra/extra – cellulaires de la cell

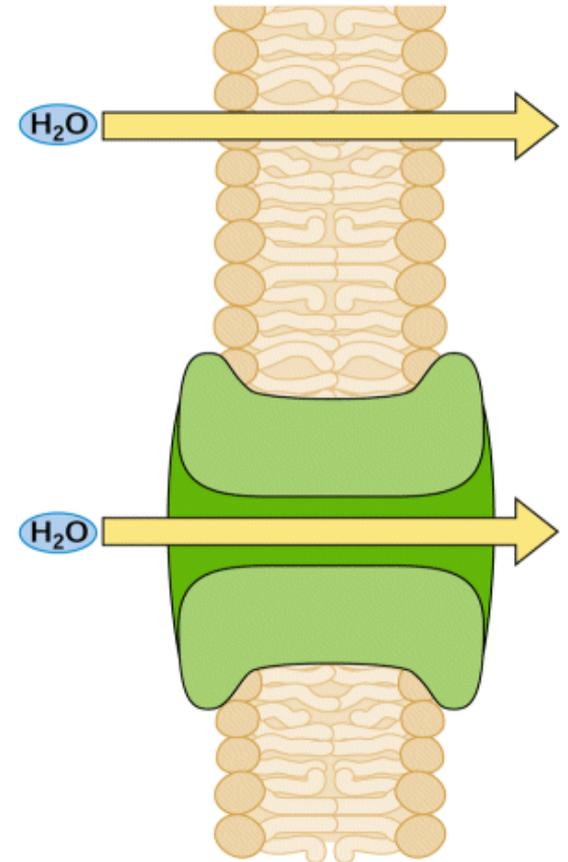
Aquaporines : Canaux trans-membranaires

↗ perméabilité de la bicouche lipidique à l'eau

Moduler la conductivité de l'eau entre les cellules

L'eau traverse la membrane grâce :

- Lipides
- Protéines canaux



Aquaporines :

✓ Appartiennent famille des canaux MIP
(Major Intrinsic Proteins)

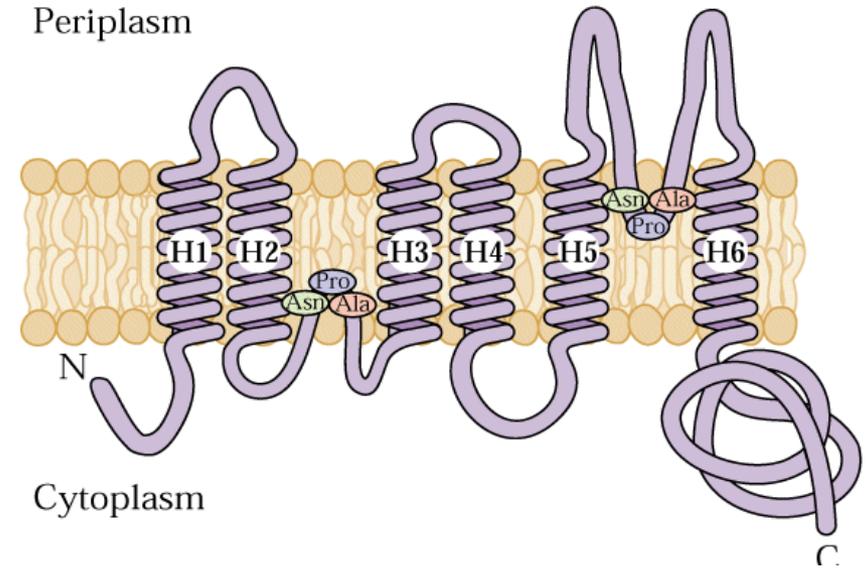
✓ M.W. ~ 25-30 kDa

✓ Motif conservé NPA (Asn-Pro-Ala) en N- et C-terminal

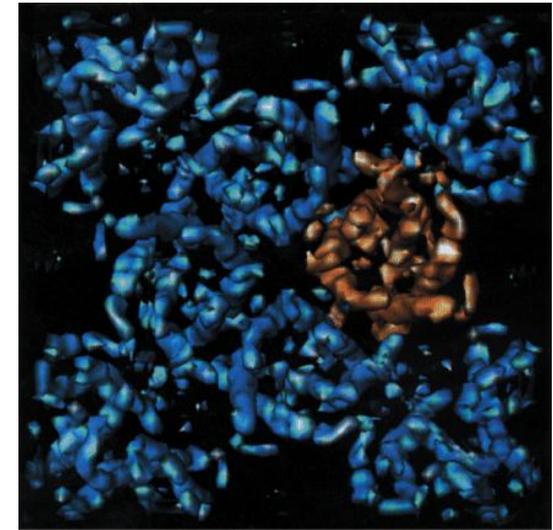
✓ 6 hélices trans-membranaires

✓ 2 sous-familles : tonoplaste (TIP) et mb plasmique (PIP) (IP = integral proteins)

✓ Toutes les aquaporines identifiées sont très sélectives à l'eau



*(Aquaporin
of human
erythrocytes)*



Forment des tétramères

Un pore à l'intérieur de chaque sous unité

Distribution tissue-spécifique de chaque isoforme identifié chez les plantes

Certains isoformes sont stimulés par des signaux environnementaux :

e.g. Lumière bleue, ABA et GA₃ ↗ l'expression des aquaporine PIP1b dans les cell de gardes et les tissus en Δ^{ment}

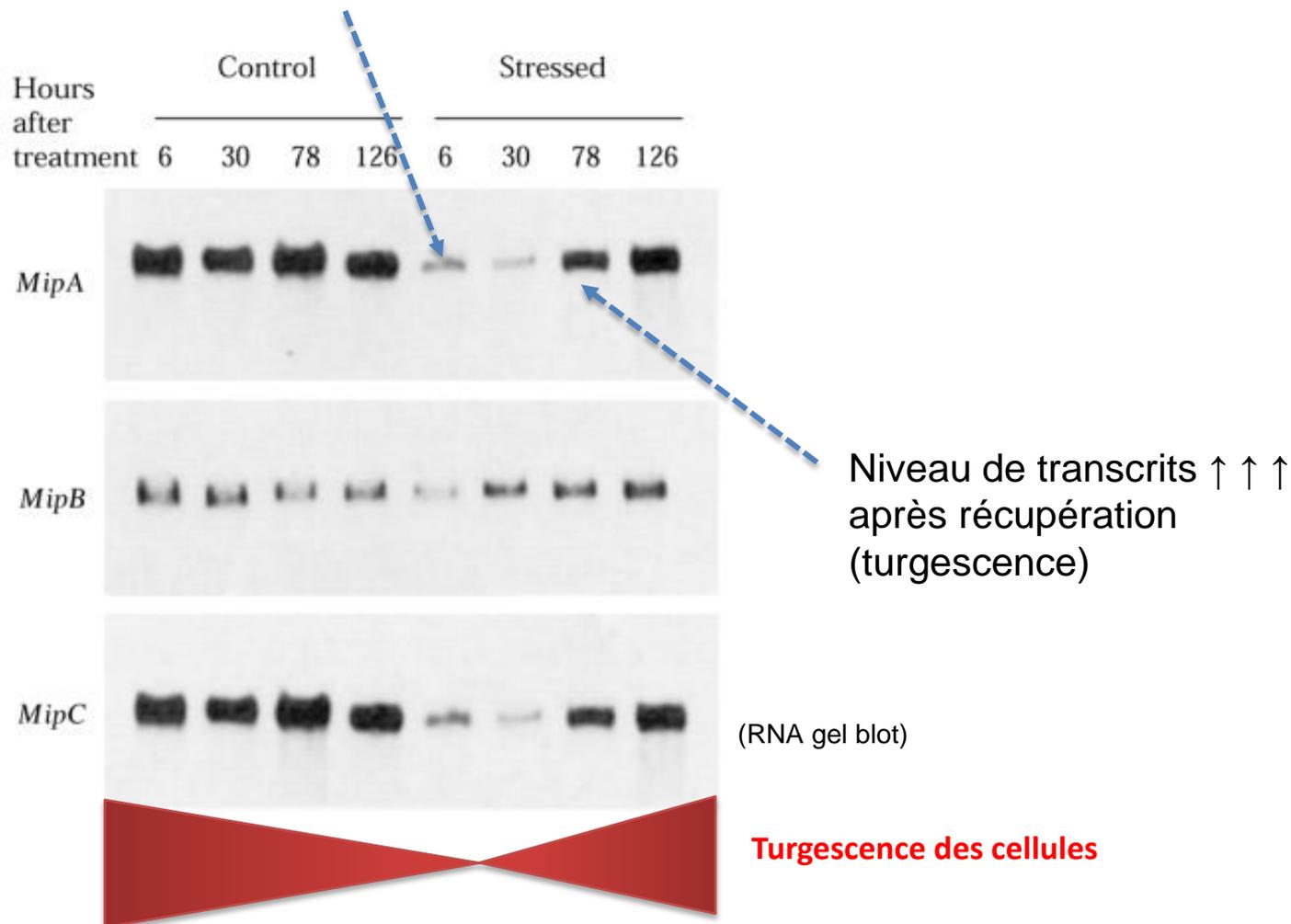
Aquaporines → Facilitent les mouvement d'eau (moins de résistance)

→ Utile qd une forte transpiration est nécessaire ou pour une récupération rapide de la turgescence des cells

Expression du gène codant l'aquaporine RD28 d'*At* → Fortement inhibée par le stress hydrique

Niveaux d'ARNm corrélés avec les changements de la turgescence des feuilles :

Niveau de transcrits ↓ ↓ ↓ après le choc initial



Autres molécules mises en évidence lors d'un stress hydrique

LEA: late embryogenesis abundant proteins

Molécules protectrices, protéines très solubles et très hydrophiles

Mise en évidence

Maturation des graines (phase de dessiccation)

Plantes soumises au stress hydrique

Classification

5 groupes : séquence primaire en acides aminés et conformation

Caractères communs :

Localisation cytoplasmique

Riches en Ala et Gly, pauvres en Cys et Trp

Role *in vivo*: inconnu

Sur-expression de +eurs LEA chez riz et levure : résistance au stress hydrique

Fonctions proposées des LEA

- Rôle structural dans la protection cellulaire aux dommages liés à la dessiccation :
- Liaisons avec des molécules d'eau → maintien d'un état d'hydratation en des sites déterminés (solvatation de structures cytoplasmiques).
- Molécules chaperonnes
 - Aident les prot. À conserver une conformation viable

L'osmotine

Protéine alcaline synthétisée de façon très importante chez le tabac, en particulier lorsqu'il est acclimaté au stress salin [peut survivre à $[\text{NaCl}] > 400 \text{mM}$!]

Il existe au moins 3 isoformes → Toutes des protéines cationiques

La protéine mature (26 kDa) → localisation vacuolaire

Mise en évidence en tant que protéine PR → activité antifongique (démontrée *in vitro*)

Régulation transcriptionnelle du gène → salinité, sécheresse, irradiation UV, stress de blessure, infection fongique ou virale (TMV: virus de la mosaïque du tabac).

Fonction Osmotine ds résistance aux stress abiotiques : inconnue

Implication de l'osmotine dans la résistance aux pathogènes :

Attaque des toxines fongiques perce la membrane plasmique → pression osmotique ✓
→ Transcription Osmotine ↗

Les événements cellulaires conduisant à l'induction de l'expression des gènes lors du stress hydrique...

Perception cellulaire du stress

La plante doit reconnaître le stress pour lutter efficacement

Qd quantité d'H₂O au niveau cellulaire ↓ ↓ ↓

→ Activation de la transduction du signal de déficit hydrique

Un stress physique converti en → signal chimique (mécanisme peu connu !!)

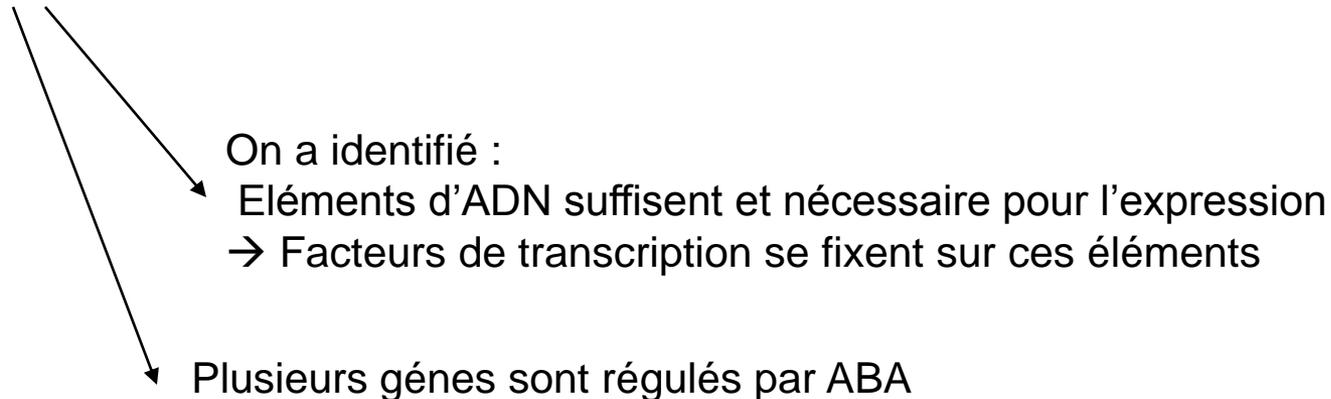
Hypothèses

- ✓ Perception de la baisse de la quantité d'eau ou la perte de turgescence
- ✓ Détection par la perte de la tension membranaire → variations de Vol. vacuole
- ✓ Changements dans "l'activité" de H₂O ou ds le contenu en solutés
- ✓ Par perte des interactions protéines-lipides
- ✓ Par des altérations des interactions entre la paroi et la membrane

Transduction du signal

- Cinétiques d'induction des gènes différentes
- Différences d'induction entre des tissus différents
- Voies de signalisation différentes
- Réponses différentes (niveau spatial et temporel)

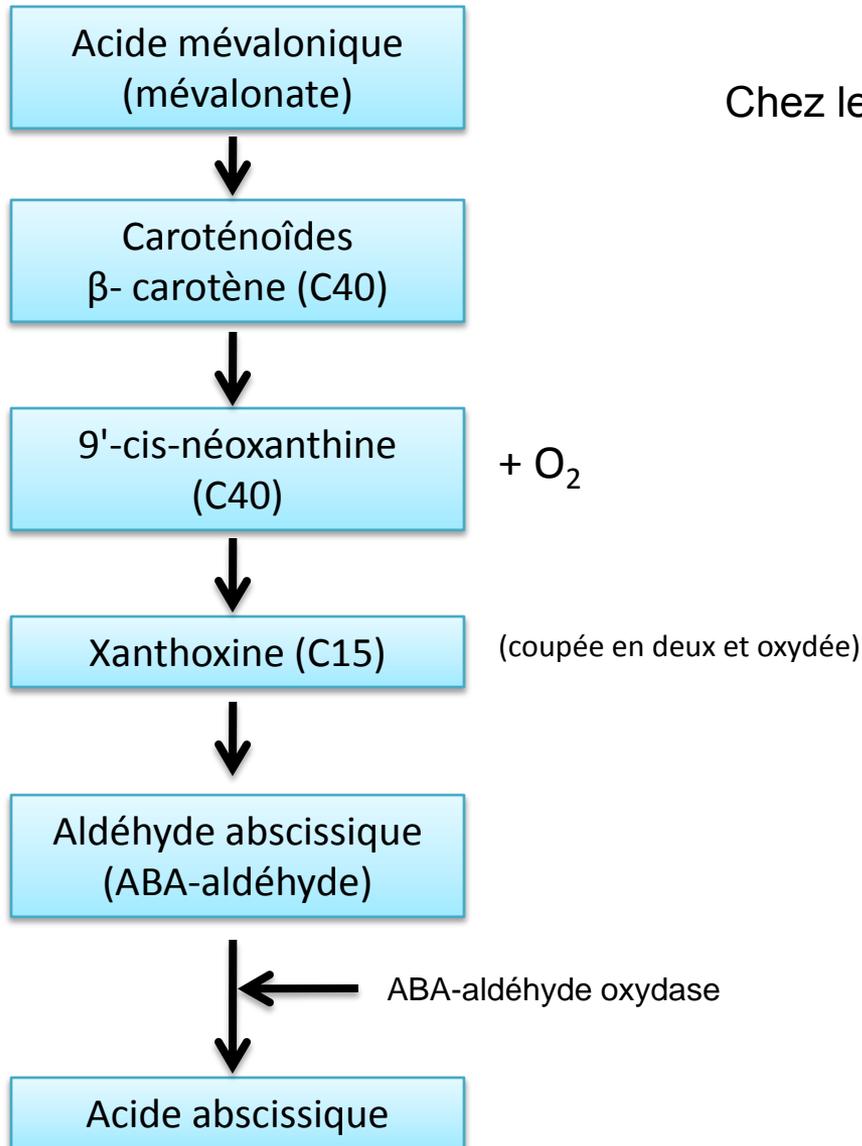
Pour plusieurs gènes exprimés en réponse au stress osmotique



ABA : Hormone impliquée aussi dans la réponse à d'autres stress abiotiques, ie. l'hypoxie (manque d'oxygène), le stress lumineux et le stress de blessure.

Acide abscissique ABA → Une voie de signalisation importante

Voie de biosynthèse de l'acide abscissique



Chez les plantes, production d'ABA :

✓ Au niveau du parenchyme des racines et des feuilles matures

✓ Au niveau des plastes

Mutants Arabidopsis → Mutation ds la voie de biosynthèse d'ABA



Certains gènes (normalement induits par le manque d'eau) ne s'expriment pas !

Gènes dont l'expression est induite par ABA :

- ABI1: code une phosphatase impliqué ds la fermeture stomatique
- Tyrosine kinase (similaire à la MAP Kinase), transduction du signal de stress
- autres kinases, dont rôles et voies de transduction du signal est non identifiée



ABA ne régule pas tous les gènes induits par les stress

→ D'autres signaux sont nécessaires dans la réponse des plantes au stress hydrique

Identification des membres potentiels de la chaîne de transduction du signal

Mise en évidence par homologie de séquence d'ADN (homologie chez les animaux ou levure)

✓ ***Phospholipase C***

Catalyse la digestion du phosphatidyl inositol-4,5-diphosphate en inositol-3-phosphate et en diacylglycérol → 2 messagers II^{aires}

✓ ***Protéine kinase Ca²⁺-dépendante***

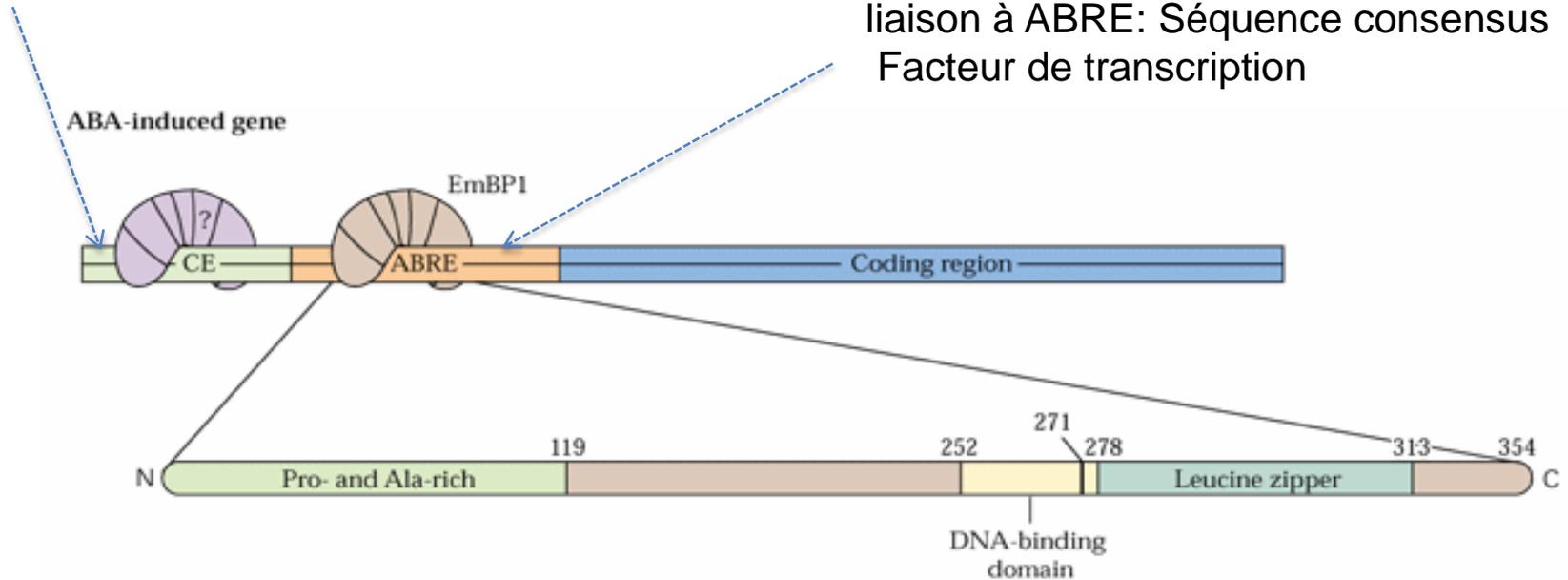
Ca²⁺ → Messenger II^{aire} ? (vrai pour d'autres stress)

✓ ***MAP kinases***

Perception et transduction du signal ABA

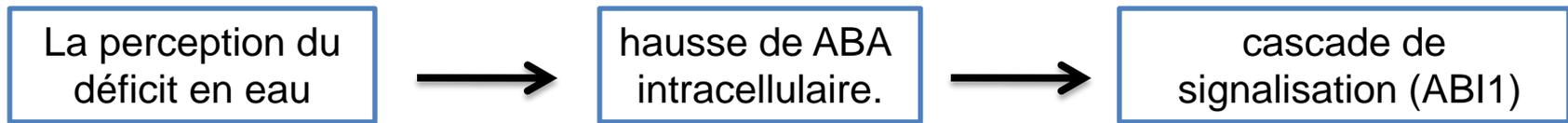
Autres séquences dans le promoteur
élément de couplage CE (coupling element)
peut fixer d'autres facteurs non identifiés.

ABRE binding protein
liaison à ABRE: Séquence consensus
Facteur de transcription



ABRE-BP peut activer seuls certains gènes

D'autres gènes nécessitent ABRE-BP + CE-BP



L'activation de ABRE-BP +/- CE-BP
→ Activation de certains gènes



Gènes ABA dépendants

Cette régulation permet de cibler la réponse dans le temps et dans l'espace, selon les tissus

Certains gènes ne sont pas régulés par ABA.

→ Peuvent posséder un DRE: deshydratation responsive element.



Réponse AbA indépendante

Un facteur DRE-BP régule la transcription de ces gènes

Exp : gènes COR (cold regulated) activé par CBF1 (COR bonding factor 1 = DRE-BP).

Conclusion et questions de recherche

On a mis en évidence de nombreux mécanismes de réponse au stress hydrique...

Mais il reste encore pleins de boulot !

- ❖ Mieux comprendre comment le stress est perçu
- ❖ Comment le stress entraîne une réponse au niveau cellulaire
- ❖ Au niveau de la plante

On a mis en évidence de nombreux gènes impliqués...Mais quels sont les gènes importants dans la résistance au stress?

Quelles particularités des plantes résistantes peuvent être transmises aux plantes d'intérêt agronomique ?