

Séminaires

**Les séminaires ont lieu sur le Campus Montpellier SupAgro/INRA de La Gaillarde
(2, place P. Viala Montpellier)**

Contact UMR B&PMP :

Sabine Zimmermann (zimmerma@supagro.inra.fr)

Marc Lepetit (lepetit@supagro.inra.fr)

Corinne Dasen (dasen@supagro.inra.fr)

Chantal Baracco (baracco@supagro.inra.fr)

Ne pas diffuser à l'extérieur

Jeudi 05 février 2009
Amphi 206 (Cœur d'Ecole) à 14h00
(3 présentations)

Florent Deloge

(Doctorant B&PMP – Equipe Dynamique)

Study of an *A.thaliana* vacuolar sorting receptor and its regulation under salt stress

Protein transport between organites allows the cell and thus the plant to acquire its functional specificities. One of the cellular compartments, the vacuole, is very dynamic and undergoes modifications in response to environmental stresses. The targeting of certain vacuolar proteins is achieved from the Golgi apparatus to the PVC via sorting determinants and their receivers, VSRs. My PhD study relates to the *Arabidopsis thaliana* homologs of a VSR identified and characterized in pea: BP80. Interestingly these AtVSR2, according to current data bases which do not differentiate AtVSR2.1 and AtVSR2.2, would be induced under saline stress condition. To integrate the data gathered on BP80 in a homologous system, I will explore the protein localization, gene expression profile, and physiological function of both VSR2s. So far AtVSR2 were cloned and fused with a citrine fluorescent tagg. Our results indicate a correct localization of the fusion protein in PVCs. The functionality of the fusion protein is being tested, however its expression under native promoter control remains out of reach. In order to study the expression profile of these two genes in response to a saline stress, specific primers for each variant were used in Q-PCR and the results were compared with former data. The ongoing development of my approach also involves T-DNA-knocked-out lines characterization, stable homologous expression of the fusion protein and RNA interference.

Ali Sassi

(Doctorant B&PMP – Equipe Canaux ioniques)

Adaptation des plantes à la salinité : analyse de la diversité fonctionnelle au sein d'une famille de transporteurs de Na⁺ chez le riz

La résistance au stress salin met en jeu des mécanismes complexes incluant le contrôle des transports de Na⁺ et K⁺. Les espèces tolérantes au sel se caractérisent par la capacité d'accumuler efficacement K⁺ même en présence de fortes concentrations de Na⁺, et le contrôle

de l'accumulation de Na⁺ dans les parties aériennes. Des transporteurs de Na⁺ de la famille HKT font partie des systèmes de transports identifiés comme jouant un rôle important dans la résistance au stress salin. AtHKT1 empêche l'accumulation de Na⁺ dans les parties aériennes en permettant la recirculation de Na⁺ des feuilles vers les racines via le phloème, OsHKT8 est impliqué dans l'homéostasie Na⁺/K⁺ des feuilles en dessalant la sève xylémique. Alors qu'un seul transporteur HKT est présent chez *Arabidopsis*, 9 HKT existent chez le riz. Les premières analyses fonctionnelles effectuées sur 3 membres de la famille chez le riz montrent une diversité importante, notamment en ce qui concerne les propriétés de sélectivité ionique et affinité pour Na⁺ de ces transporteurs. Les rôles des différents membres de la famille chez le riz sont donc probablement différents.

Les objectifs du projet de thèse seront les suivants :

1- Analyser la diversité fonctionnelle au sein de la famille HKT du riz. Les ADNc des transporteurs non encore caractérisés seront sous-clonés dans un vecteur optimisé pour l'expression hétérologue dans les ovocytes de xénope. Les propriétés fonctionnelles des transporteurs seront analysées dans les ovocytes par voltage-clamp à deux électrodes. Les propriétés analysées seront principalement la sélectivité, le sens du transport et l'affinité pour Na⁺.

2- Analyser le rôle dans la plante de l'un des transporteurs caractérisés sur le plan fonctionnel. Nous possédons des lignées d'insertion du rétrotransposon *tos17* dans différents gènes HKT, certaines non purifiées, d'autres partiellement purifiées. La purification des lignées choisies sera effectuée/terminée par rétrocroisements successifs (génotypage par PCR). Le phénotype des lignées mutantes sera alors comparé à celui des plantes sauvages : croissance, résistance au stress salin, ratios Na⁺/K⁺ dans les tissus foliaires et racinaires (analyses par spectrométrie de flamme), teneur des sèves en K⁺ et Na⁺, influx racinaire de Na⁺ et K⁺ (détermination par électrodes ion-sélectives) Des analyses d'expression (variation du niveau de transcrits en fonction des conditions de culture) seront également effectuées (sur les plantes sauvages) par PCR en temps réel.

Magali Di Piéto

(Doctorante B&PMP – Equipe Aquaporines)

Phosphorylation des aquaporines et réponse de la racine d'*Arabidopsis* à des stimuli abiotiques et nutritionnels

L'absorption de l'eau du sol par les racines est un processus central de maintien du statut hydrique des plantes. La conductivité hydraulique racinaire, *L_{pr}*, traduit la facilité du passage de l'eau au travers des racines. Il s'agit d'un paramètre modulable par des facteurs hormonaux et environnementaux. Au niveau moléculaire, la *L_{pr}* est déterminée par l'activité de canaux à eau ou aquaporines. Chez les plantes, les aquaporines forment une famille multigénique avec, par exemple, 35 membres chez *Arabidopsis thaliana*. Des études récentes montrent qu'elles sont des déterminants majeurs de la régulation du transport racinaire d'eau.

L'équipe Aquaporines a précédemment étudié les mécanismes de régulation des aquaporines dans les racines en réponse à un stress hypoxique, salin ou oxydant. En particulier, il a été mis en évidence un rôle original de la phosphorylation C-terminale de l'aquaporine PIP2;1 dans la re-localisation sub-cellulaire de cette aquaporine en réponse aux traitements salin et oxydant.

Les objectifs de ma thèse sont de caractériser de nouvelles situations environnementales ou nutritionnelles qui conduisent à moduler la *L_{pr}* et impliquant une variation de l'abondance et du taux de phosphorylation des aquaporines. Pour cela, il s'agira de caractériser les effets sur la *L_{pr}* de différents stimuli reflétant diverses contraintes biotiques, abiotiques ou différents états nutritionnels de la plante. On s'intéressera en particulier aux effets de formes activées de l'oxygène (H₂O₂, NO), de stress hydrique (NaCl, mannitol), d'un stress biotique (flagelline), de carence et réalimentation en nutriments minéraux (nitrate, phosphate) et en saccharose. Des approches de protéomique et de phosphoprotéomique quantitatives seront utilisées pour avoir

une vision globale de la phosphorylation des aquaporines au cours des variations cinétiques de la Lpr.

A terme, cette étude vise à obtenir une représentation intégrée du réseau de relations existant entre les stimuli étudiés, l'abondance des aquaporines et le degré de phosphorylation de leurs sites multiples. La fonction des sites de phosphorylation identifiés comme les plus réactifs aux stimuli sera caractérisée par des approches fonctionnelles et de biologie cellulaire.

Séminaires à venir :

Jeudi 26 février : Jean Philippe Rechheld, LGDP Perpignan (contact : Lionel Verdoucq verdoucq@supagro.inra.fr)

Jeudi 05 mars : Robert Blanvillain, PGEC Berkeley (contact : Grégory Vert vertg@supagro.inra.fr)