

Génomique et *biotechnologies végétales*

Témoignage de

Ana Cristina Miranda Brasileiro

“ **LA CROISSANCE DÉMOGRAPHIQUE** mondiale, en particulier dans les pays pauvres, la dégradation continue des terres arables, la diminution de l'accès à l'eau potable et le changement climatique, représentent des défis considérables pour les productions agricoles et la sécurité alimentaire. De nombreux efforts ont été réalisés à ce jour pour améliorer la tolérance des plantes cultivées aux différents types de stress abiotique— entre autres la sécheresse, la salinité, le froid, la pollution aux métaux lourds. Cependant, cette tolérance reste un caractère très difficile à améliorer dans le cadre de programmes de sélection génétique classiques.

Une meilleure connaissance au niveau moléculaire des gènes impliqués dans la résistance/sensibilité aux stress abiotiques devrait aider au développement de nouvelles variétés mieux adaptées aux contraintes environnementales. Par ailleurs, l'adaptation des plantes aux différents stress abiotiques est un phénomène complexe, impliquant directement ou indirectement de nombreux gènes dans les chaînes de perception et de transduction des signaux ainsi que dans les mécanismes de régulation de l'expression d'autres gènes.

Les outils de la génomique fonctionnelle permettent aujourd'hui d'analyser la plante en tant que système, dans son intégralité et, en conséquence, contribuent à mieux comprendre la fonction biologique et les interactions des gènes exprimés dans certaines conditions de stress, comme le déficit hydrique et la salinité. L'Embrapa, avec sa longue tradition de recherches en amélioration des plantes et conservation des ressources génétiques, a une position d'avant-garde et de leadership dans les recherches scientifiques de génomique végétale au Brésil.

Dans le cadre du Labex Europe, un projet d'intérêt commun (PIC) intitulé « Génomique fonctionnelle de la réponse aux stress abiotiques chez le riz » a ainsi été conduit conjointement par l'Embrapa et l'UMR DAP (Développement et Amélioration des Plantes) pendant 4 ans (2002-2006) au sein du programme BIOTROP à Montpellier (Biotechnologies et ressources génétiques végétales). L'objectif principal du projet était d'identifier et de caractériser les gènes impliqués dans la réponse aux stress abiotiques—sécheresse et salinité—avec le riz comme plante modèle pour les céréales.

Ana Cristina Miranda Brasileiro (Embrapa, Brésil)

« Une mécanique a été lancée »



Jean-Christophe Glaszmann, est aujourd'hui le Directeur du Département « Systèmes Biologiques » (BIOS) du Cirad.

Pendant quatre ans, une chercheuse brésilienne a été accueillie par l'une de ses équipes. Il nous livre sa vision du Labex Europe.

1. Est-ce que vous collaborez avec le Brésil en général, et avec l'Embrapa en particulier, avant la venue d'un chercheur du Labex dans votre équipe ?

Le Cirad collaborait depuis longtemps avec l'Embrapa dans des domaines divers, comme l'amélioration variétale du riz, la génétique de l'eucalyptus ou la gestion des ressources naturelles en Amazonie. Mais l'Embrapa (comme le Cirad mais à plus grande échelle encore), est un organisme complexe avec des centres spécialisés, certains par espèces, d'autres par thèmes. Nos relations étaient peu coordonnées et surtout plus opportunistes que stratégiques.

2. Quel bilan tirez-vous de l'expérience ? Qu'est-ce que cette collaboration a apporté à votre équipe ?

Il serait trop long de faire la liste de toutes les interactions et collaborations engagées. Elles portent sur la génétique et la génomique de plus d'une dizaine de plantes ; des projets ont été développés, certains, trop peu encore, ont trouvé des financements internationaux. Une mécanique a été lancée. Nous avons organisé à plusieurs reprises des rencontres à Montpellier ou à Brasília ; les deux communautés ont appris à se connaître. Pour tout sujet porteur de collaboration éventuelle, un chercheur français sait maintenant où s'adresser et qui contacter à l'Embrapa, et réciproquement. (suite page suivante...)

Identification des gènes impliqués dans la réponse aux stress abiotiques chez le riz

© A. Brasileiro et QH. Le, C. Périn



Le projet d'intérêt commun « Génomique fonctionnelle de la réponse aux stress abiotiques chez le riz » a été conduit pendant 4 ans au sein du programme BIOTROP (Cirad, Montpellier). Son objectif principal était d'identifier et caractériser les gènes impliqués dans la réponse à la sécheresse et la salinité chez le riz. Les conclusions de ce travail sont les suivantes :

■ Ce projet est considéré comme pilote pour l'équipe de Génomique végétale du Cirad car un

certain nombre de méthodologies mises en place ont ensuite permis à l'équipe d'initier d'autres projets de génomique fonctionnelle. Citons sans être exhaustifs le système d'hydroponie pour le traitement osmotique et salin à grande échelle, l'obtention et la validation des banques soustratives, le marquage de sondes pour les microarrays, etc.

■ Au total, 101 séquences du génome du riz ont été identifiées comme étant exprimées de manière différentielle et précoce en réponse à un stress hydrique. Ces gènes candidats codent pour des protéines impliquées dans la réponse au stress abiotique comme transduction du signal, stress oxydatif et processus adaptatifs. Par ailleurs, deux gènes putatifs ont été identifiés comme codant des protéines impliquées dans la réponse adaptative de l'architecture racinaire au stress osmotique, qui n'avaient pas encore été décrits dans le riz.

■ Des 43 gènes candidats validés par RT-PCRq et par l'étude d'association entre l'architecture racinaire (phénotypage), les quatre gènes candidats les plus intéressants ont été sélectionnés pour la dernière étape de validation par transgénèse.

■ La validation de la fonction biologique des gènes candidats a été poursuivie par la construction de vecteurs du type ARNi pour les quatre gènes candidats et leur introduction via *Agrobacterium* dans des plantes de riz transgéniques (variétés Nipponbare et Nona Bokra). Les lignées T1 de ces plantes sont actuellement analysées au niveau moléculaire pour confirmer la suppression de l'expression des gènes respectifs.

■ Dernière étape de ce travail, les lignées de riz génétiquement modifiées sélectionnées seront phénotypées en conditions contrôlées en serre au Brésil et au Vietnam pour évaluer les effets phénotypiques de la suppression de l'expression des quatre gènes candidats et donc confirmer leur rôle dans la réponse de la plante aux stress hydriques et salins.

Contact : Ana Brasileiro, brasileiro@cenargen.embrapa.br

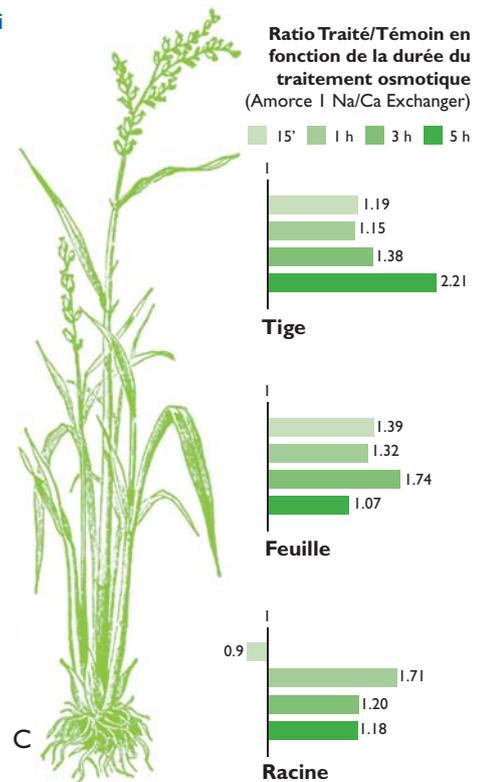
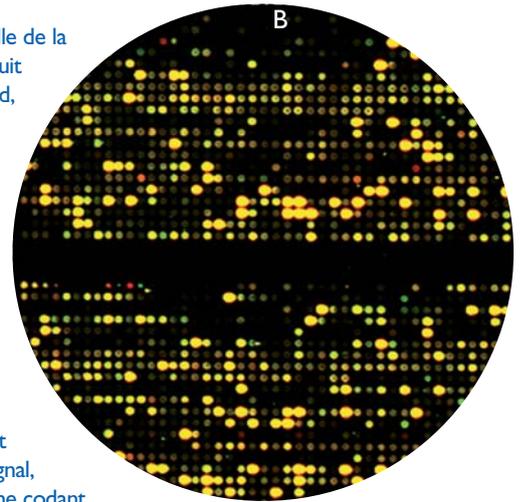
Quatre étapes d'identification de gènes impliqués dans la réponse du riz à un choc osmotique (100 mM mannitol)

① Photo A - Plantes de riz cv. Nipponbare cultivées en condition hydroponique 6 jours après leur transfert sur une solution nutritive contenant ou non 100mM de mannitol

② Inserts clonés correspondant à des transcrits de gènes différemment exprimés entre les deux traitements (méthode SSH)

③ Photo B- Visualisation des transcrits sur (rouge) et sous exprimés (vert) en condition de choc osmotique par analyse microarray sur lame de verre (réalisé sur la plateforme transcriptomique de l'IGH) D: Les transcrits différemment régulés sont apposés comme une couche d'annotation sur la séquence génomique du riz

④ Illustration C - La régulation des gènes candidats par le stress osmotique est confirmée par Q-RT PCR avant leur validation fonctionnelle par analyse de mutants et/ou de surexprimeurs.



3. Y a-t-il aujourd'hui—le chercheur brésilien étant reparti chez lui—un suivi, et/ou des conséquences en termes de partenariats entre votre équipe et des institutions brésiliennes ?

Nous avons créé le Consortium International en Biologie Avancée (CIBA). Celui-ci assure un suivi régulier et ses animateurs appartiennent à notre unité. Par ailleurs, Ana Brasileiro fait partie du comité de programme du département Cirad sur les « Systèmes biologiques ». Certains projets continuent, d'autres sont en préparation.

Au final, cette initiative durera si les équipes y trouvent leur intérêt, si elles peuvent décrocher des financements, si elles trouvent des partenariats d'un nouveau type—triangulaires avec des partenaires africains, par exemple—et surtout si un flux d'étudiants se crée pour

renforcer les liens et établir les fondements des nouveaux réseaux pour l'avenir.

Contact : Jean-Christophe Glaszmann, jean-christophe.glaszmann@cirad.fr

Le chercheur brésilien accueilli

Ana Brasileiro, chercheuse (Département « Ressources Génétiques et Biotechnologie », Embrapa-Cenargen) a effectué un séjour de près de quatre ans au sein de l'UMR PIA (mai 2002 – avril 2006) en biologie moléculaire et génomique, sur l'analyse fonctionnelle de la tolérance à la sécheresse et la salinité chez le riz.

Contact : brasileiro@cenargen.embrapa.br

Le laboratoire d'accueil

UMR DAP

Développement et Amélioration des Plantes (ex UMR PIA)
(Cirad, Montpellier SupAgro, Inra, UM2)
68 scientifiques

Directeur : Emmanuel Guiderdoni,
emmanuel.guiderdoni@cirad.fr
<http://umr-dap.cirad.fr>

Correspondant scientifique :
Pascal Gantet, pascal.gantet@univ-montp2.fr