

Observation de la phénologie : Signaux moléculaires & tissulaires



Qui sommes-nous ?

Bénédicte Wenden

- Floraison
- Plantes annuelles
- Arbres fruitiers
- Phénologie
- Dormance
- Biologie moléculaire
- Réseaux de gènes
- Modélisation
- Analyse et visualisation de données

Guillaume Charrier

- Résistance au gel
- (Eco)Physiologie des arbres
- Métabolisme carboné
- Dormance
- Phénologie
- Nucléation / Propagation de la glace
- Conductivité hydraulique
- Stress abiotique
- Modélisation mécaniste



Qu'entendons-nous par signaux biologiques?



Contexte de l'atelier

Phénologie : on pense souvent à des stades visibles

→ Echelle BBCH, ateliers signaux optiques

MAIS certains stades sont invisibles à l'œil nu ou difficiles à observer

- Initiation florale
- Levée de dormance
- Sénescence

Méthodes pour suivre ces stades:

⇒ Echelle moléculaire (Béné)

⇒ Echelle Tissulaire (Gui)



Contexte de l'atelier

Modèles biologiques

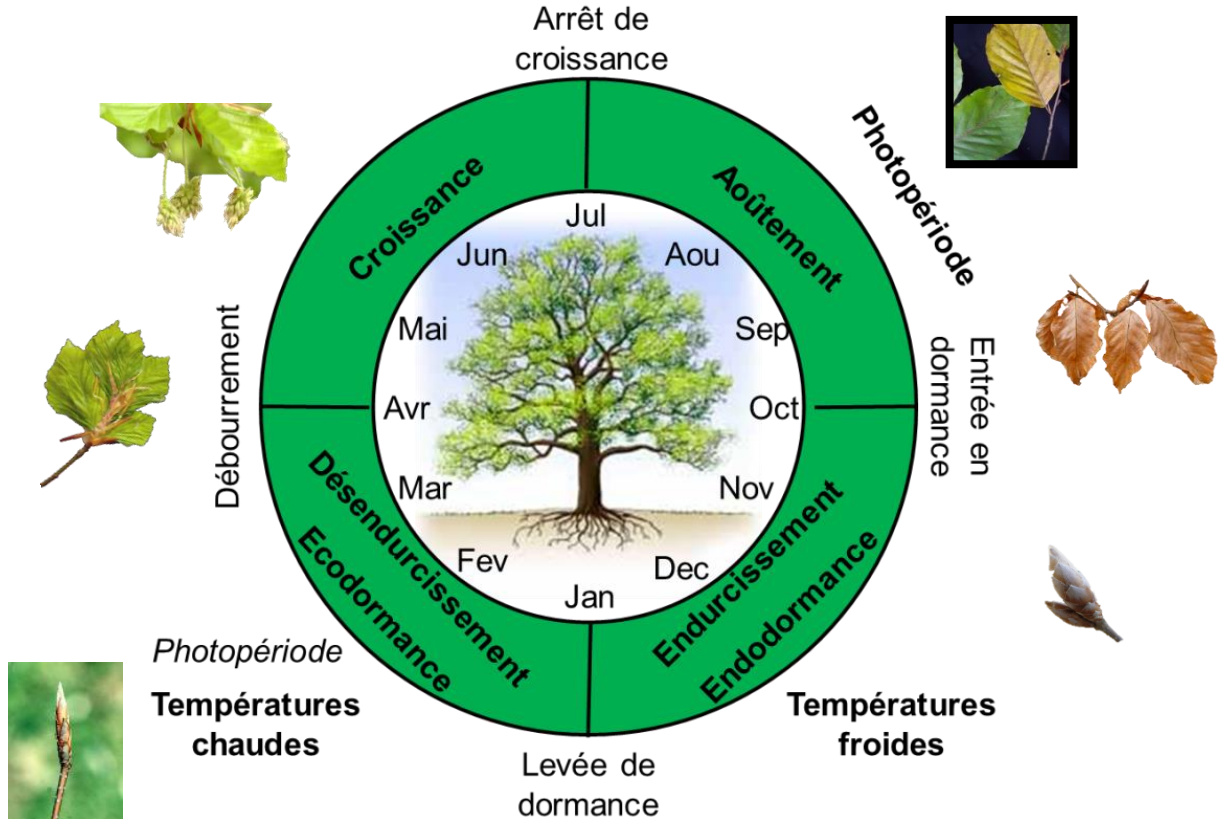
- ⇒ Microorganismes
- ⇒ Animaux
- ⇒ Plantes en général (dormance graines)
- ⇒ Plantes annuelles (vernalisation)
- ⇒ Plantes pérennes (dormance)
 - ⇒ Herbacés
 - ⇒ **Ligneux**



Paradormance : inhibitions de croissance extérieure au bourgeon (ex. présence des feuilles)

Endodormance : inhibition intrinsèque : levée par température froide

Ecodormance : inhibition liée aux conditions environnementales : levée par température chaude et/ou jours longs





Question scientifique sous-jacente

➔ Peut-on suivre les stades phénologiques cachés en analysant les signaux internes aux organismes au cours de leur cycle ?



Question scientifique sous-jacente

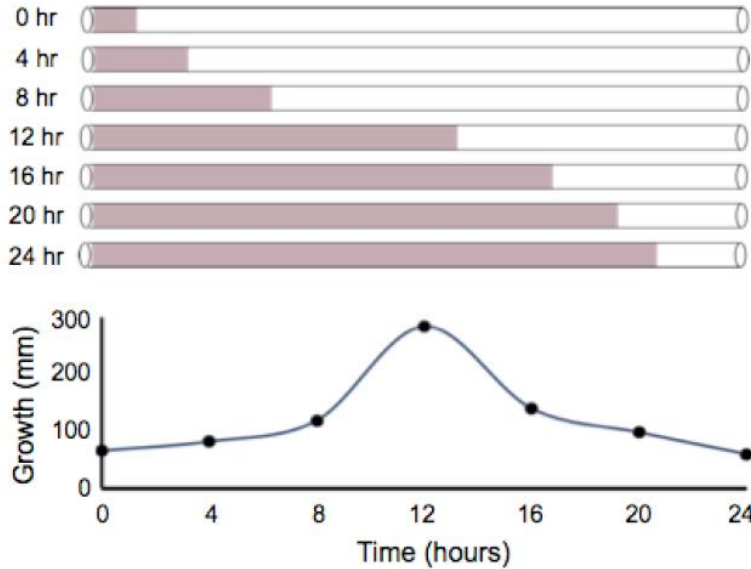
- ➔ Peut-on suivre les stades phénologiques cachés en analysant les signaux internes aux organismes au cours de leur cycle ?
 - ➔ Quels marqueurs ?
 - ➔ Comment ?



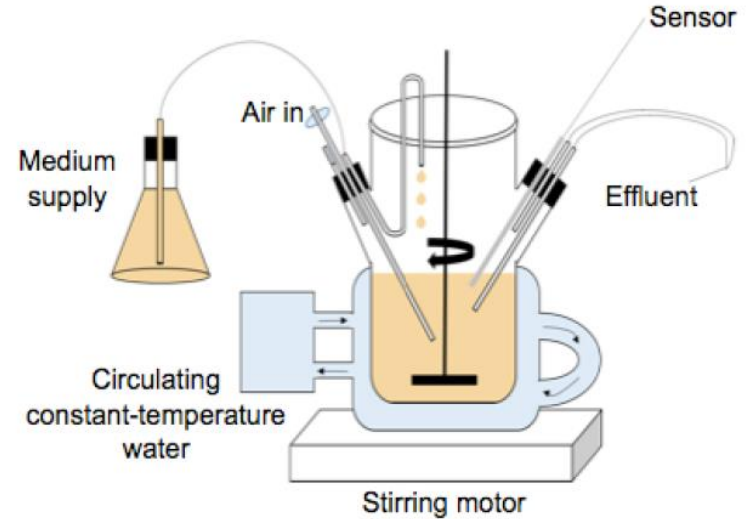
Signaux biologiques aux échelles cellulaire et tissulaire

Horloge circadienne chez les micro-organismes

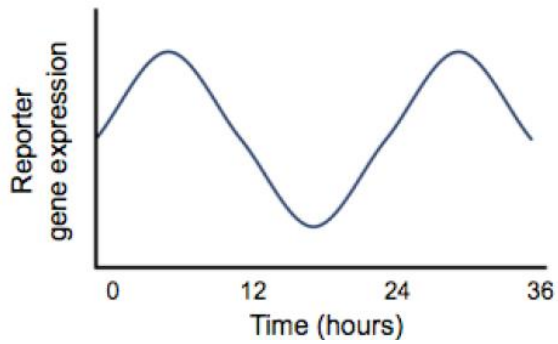
A *E. coli* growth rhythm in culture tubes



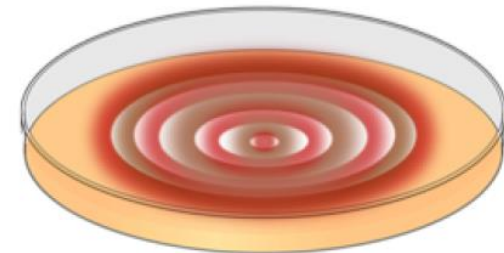
B *K. pneumoniae* growth in a bioreactor



C Reporter gene expression in *K. aerogenes*



D *P. putida* growth on a Petri dish



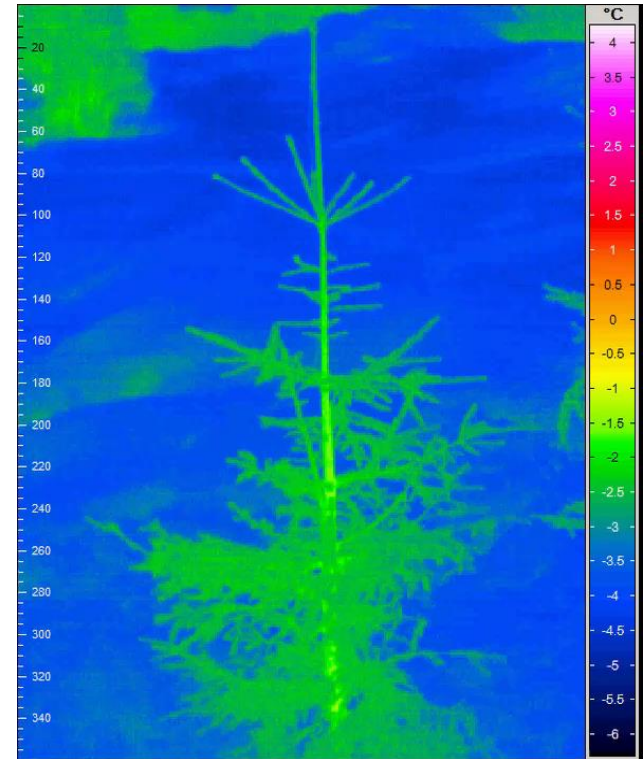
Sartor et al., 2019

Pigmentation saisonnière chez les animaux

Perte de mélanine à -1°C , sous le contrôle de la glande pituitaire, dépendant de la photopériode, de la température et du taux d'hormones.



Populations septentrionales mais pas méridionales, pop intermédiaires: pelage pie

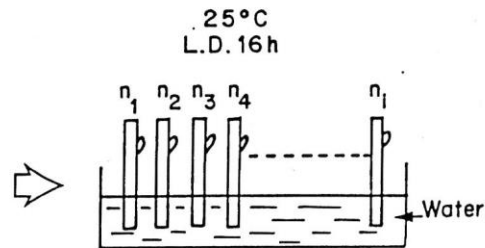
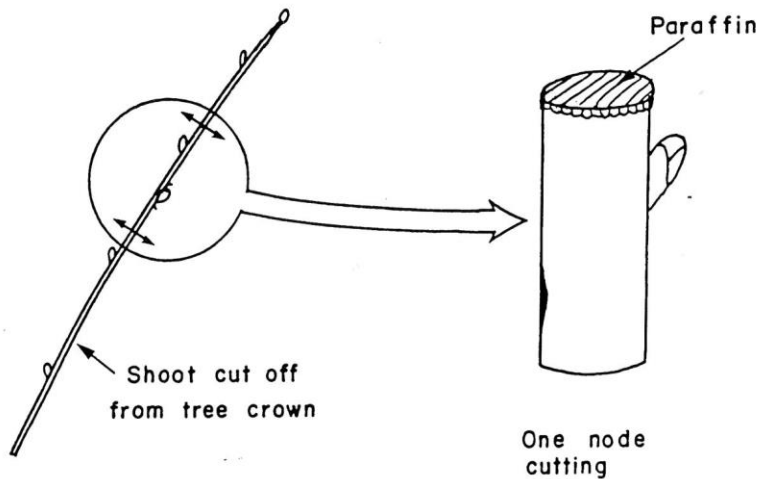


Charrier et al., 2017

wikipedia

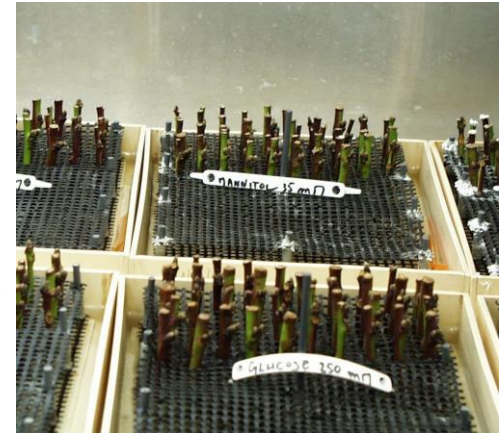
Rappel: comment mesurer la dormance? levée d'inhibition de croissance par test de forçage

METHOD OF ESTIMATING THE STATE OF DORMANCY



Calculation of M.T.B.

$$\text{M.T.B.} = \frac{\sum_i n_i \text{ M.T.B.}_i}{\sum_i n_i}$$



Mauget, 1982

Rappel: comment mesurer la dormance? levée d'inhibition de croissance par test de forçage

1500 - 2000h => 60-80 jours !!!

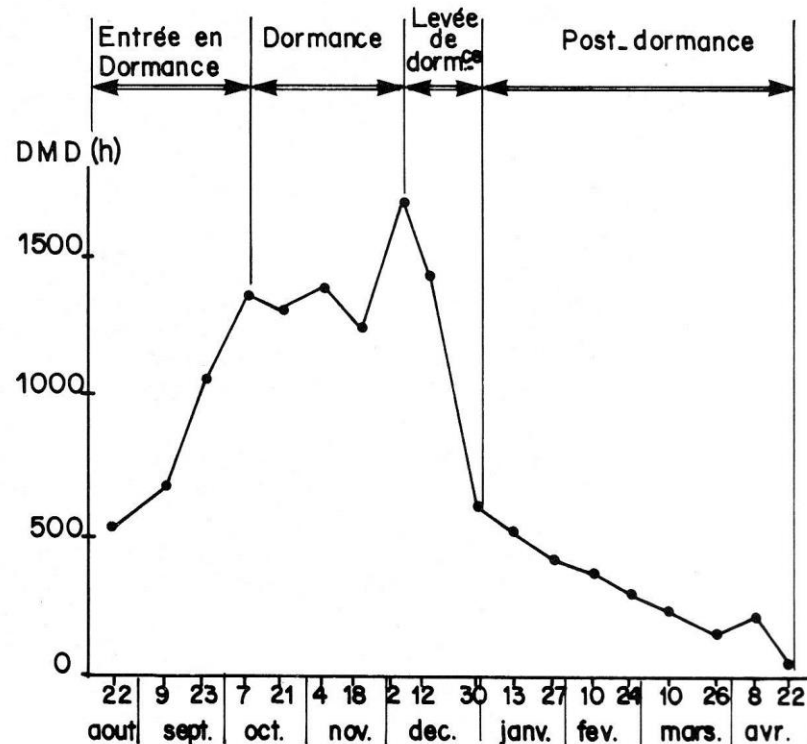


FIG. 1 - Evolution en fonction de la date de prélèvement du délai moyen de débourrement des bourgeons de la variété "Franquette" cultivée à Clermont-Ferrand.

Rappel: comment mesurer la dormance? levée d'inhibition de croissance par test de forçage

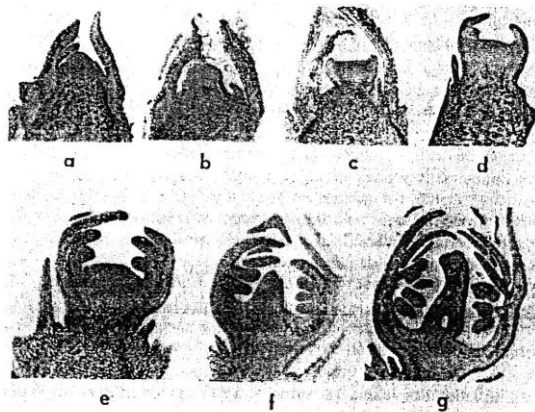
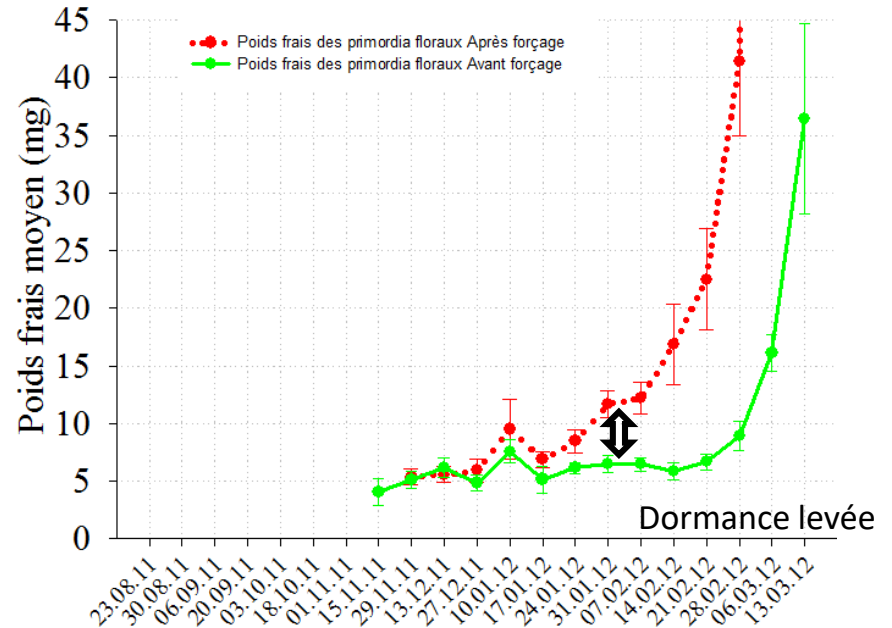


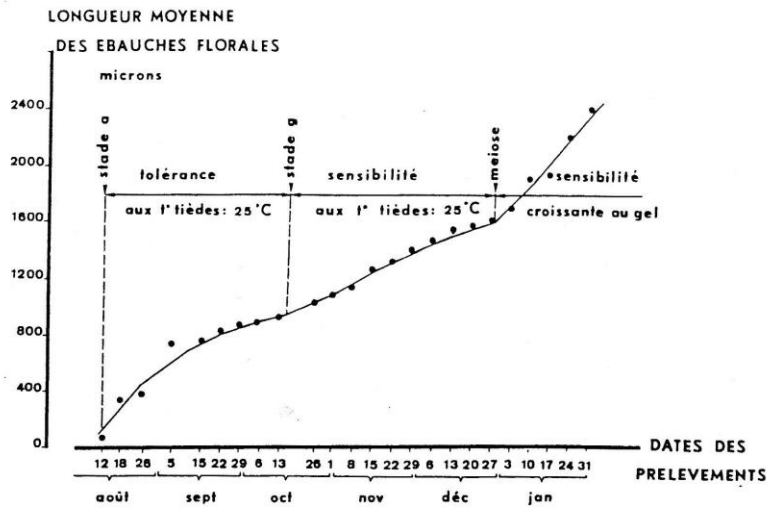
Figure 11 : Morphogénèse du bourgeon floral de pêcher, les 7 stades de développement définis par Monet (1983)

- a stade pré-floral
- b formation du réceptacle
- c ébauche des sépales
- d ébauche des pétales
- e ébauche des étamines
- f ébauche du pistil
- g formation du plateau staminal, fleur totalement ébauchée (octobre).

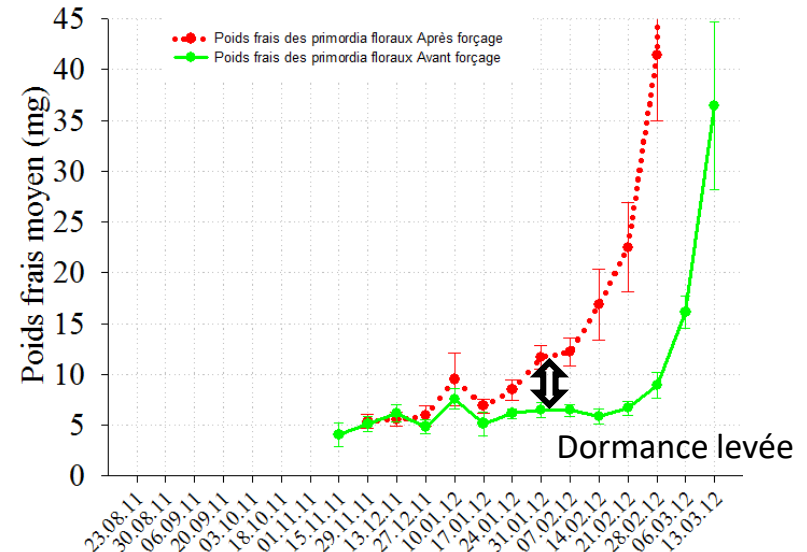


Malagi, 2014

Rappel: comment mesurer la dormance? levée d'inhibition de croissance par test de forçage



Monet, 1983

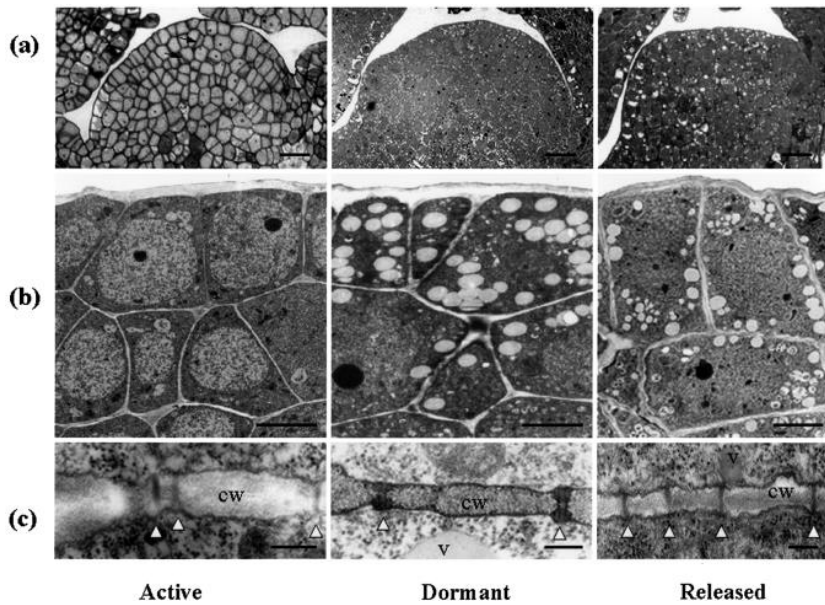


Malagi, 2014

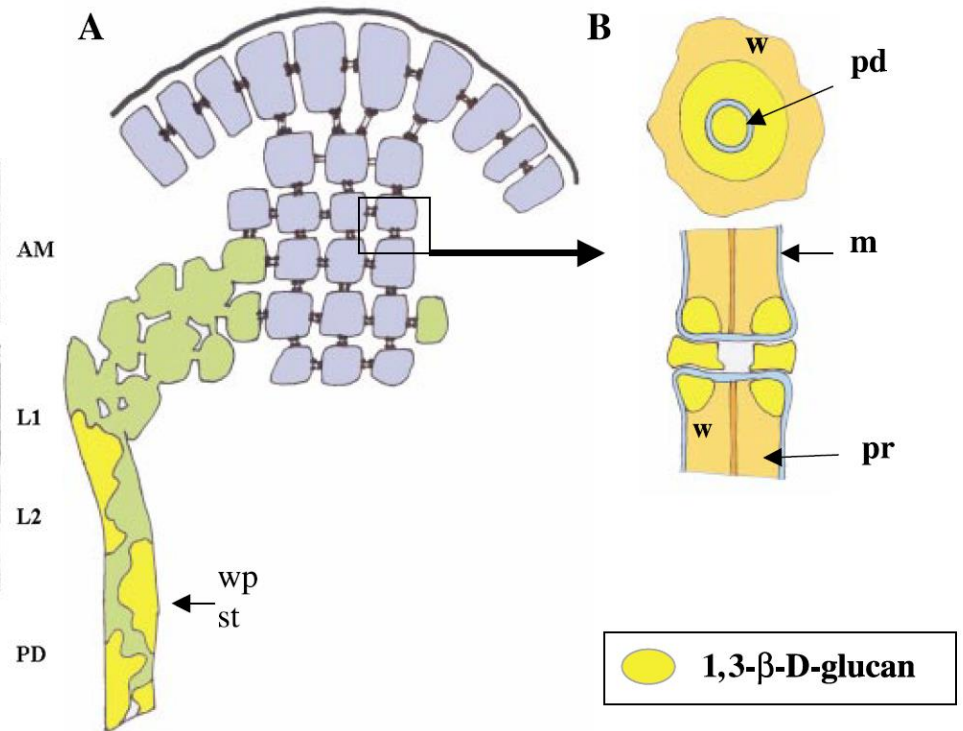
Mesure le rétablissement des flux entre tissus conducteurs et bourgeons

Rétablissement des flux phloémiens: Mesure de la migration de fluoresceine

- Cas d'étude présenté par Isabelle Farrera



Rinne & van der Schoot, 2001

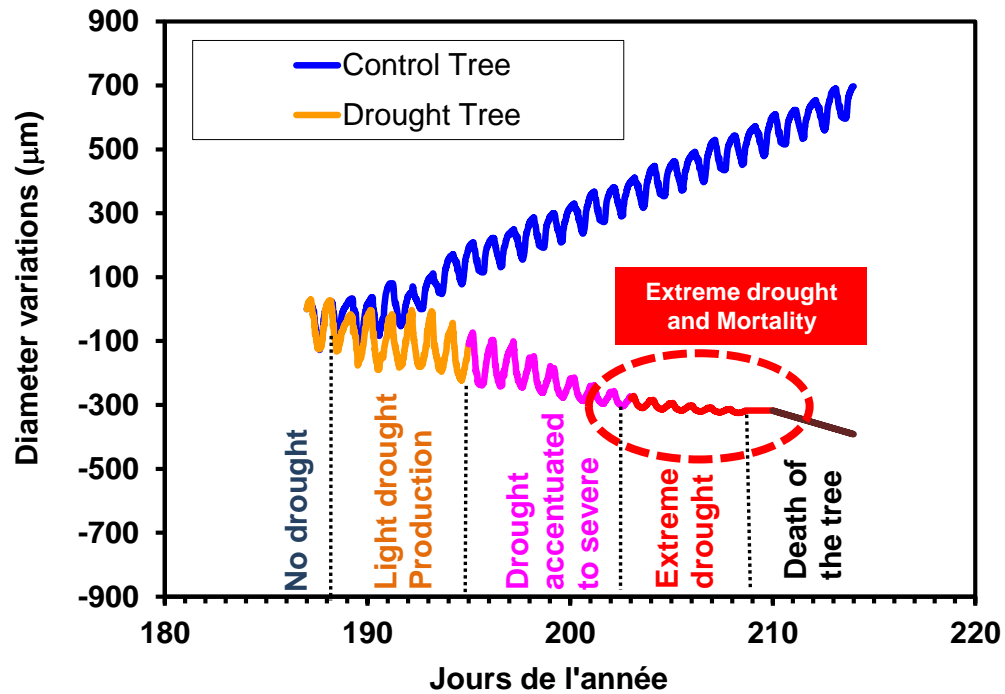


Rinne & van der Schoot, 2004

Rétablissement du fonctionnement physiologique in situ: microvariations de diamètre



Extreme drought conditions and mortality

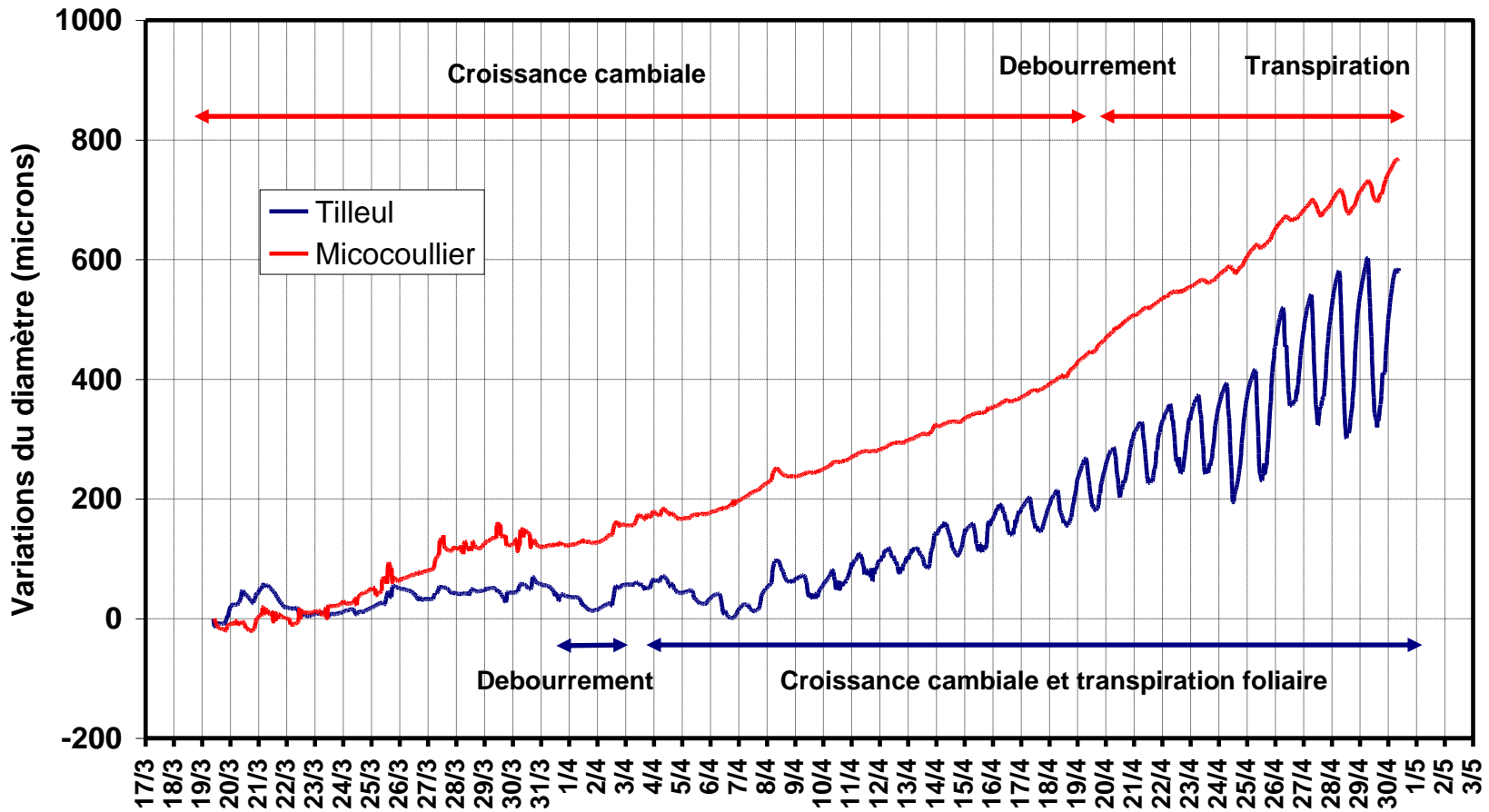


Rétablissement du fonctionnement physiologique *in situ* variations de diameter, croissance et transpiration

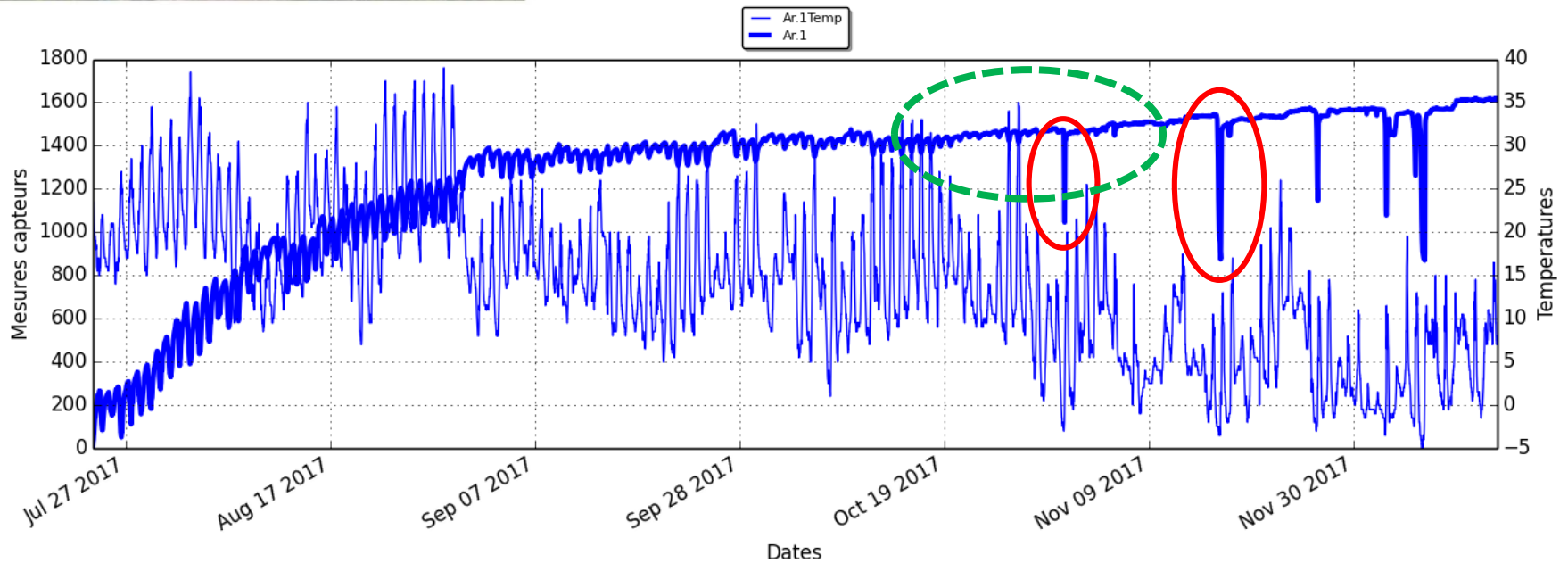
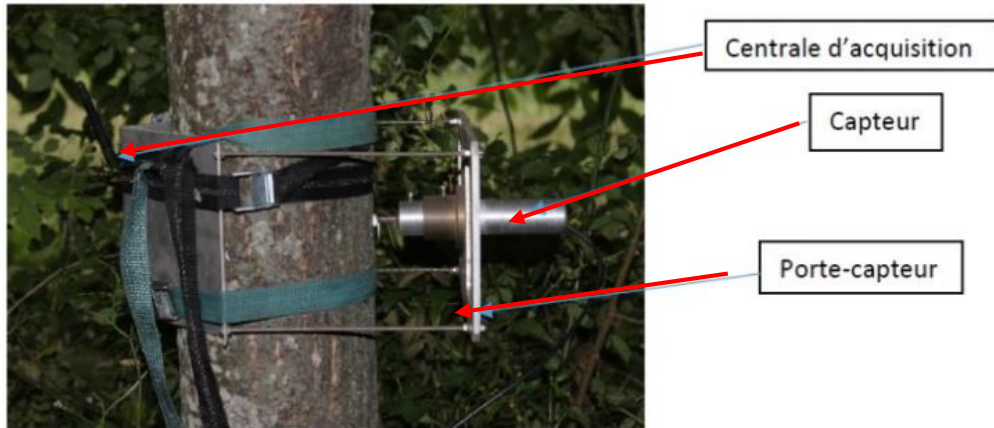


Photos MAIRIE DE PARIS

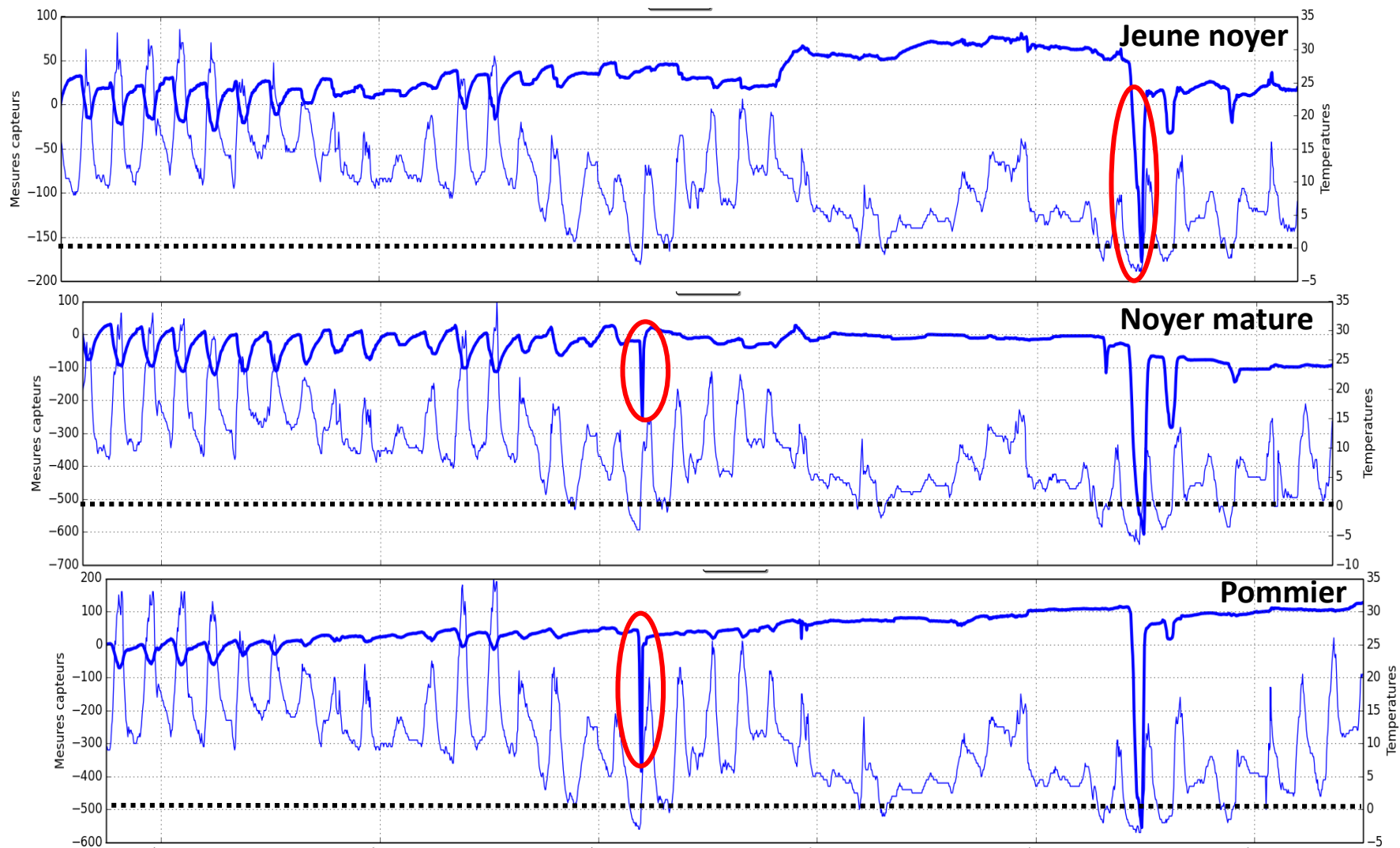
Arbres d'alignement - Ville de Paris



Arrêt du fonctionnement physiologique *in situ* variations de diameter, croissance et transpiration



Arrêt du fonctionnement physiologique *in situ* variations de diameter, croissance et transpiration



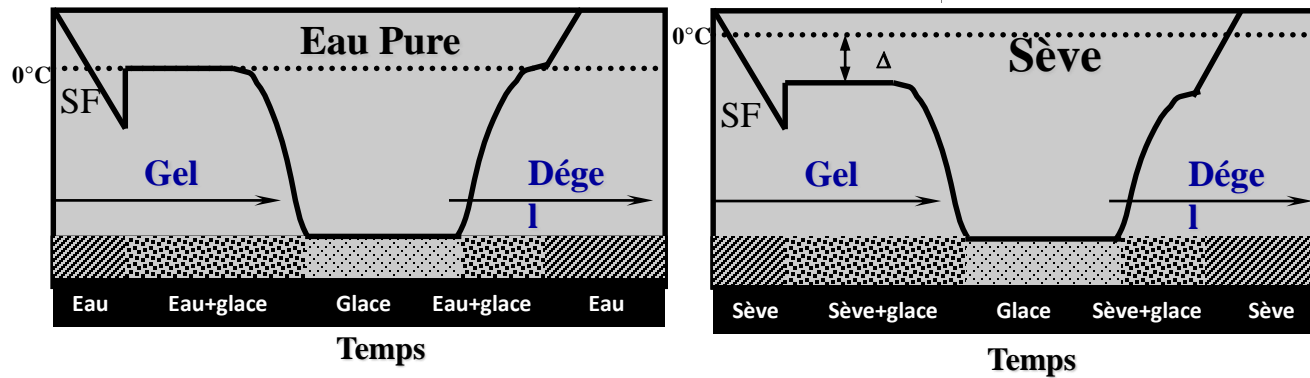
Mesure de la reprise de croissance et de la transpiration à l'échelle de la branche

- Analyse du signal temporel

Cas d'étude présenté par Jérôme Ngao



Mesure de la formation et propagation de glace



Exotherme au moment de la prise en glace
Endotherme au dégel

Ice nucleation: In nature, generally occurs at relatively high sub-freezing temperatures ; ~ -1 to -2.5 °C

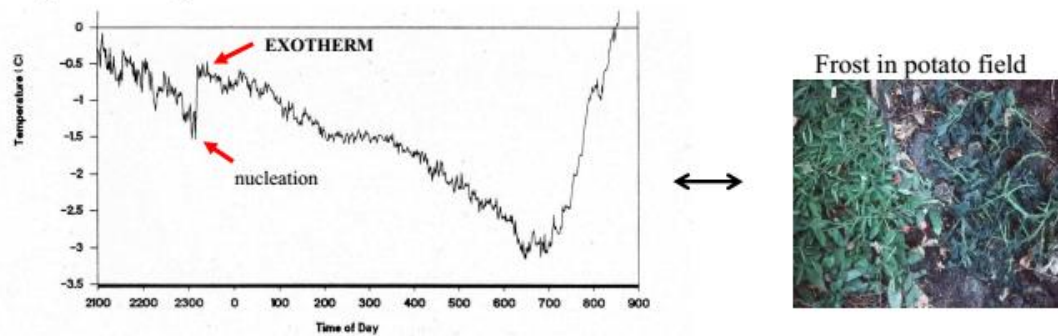
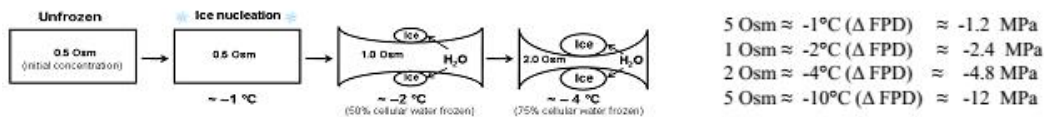


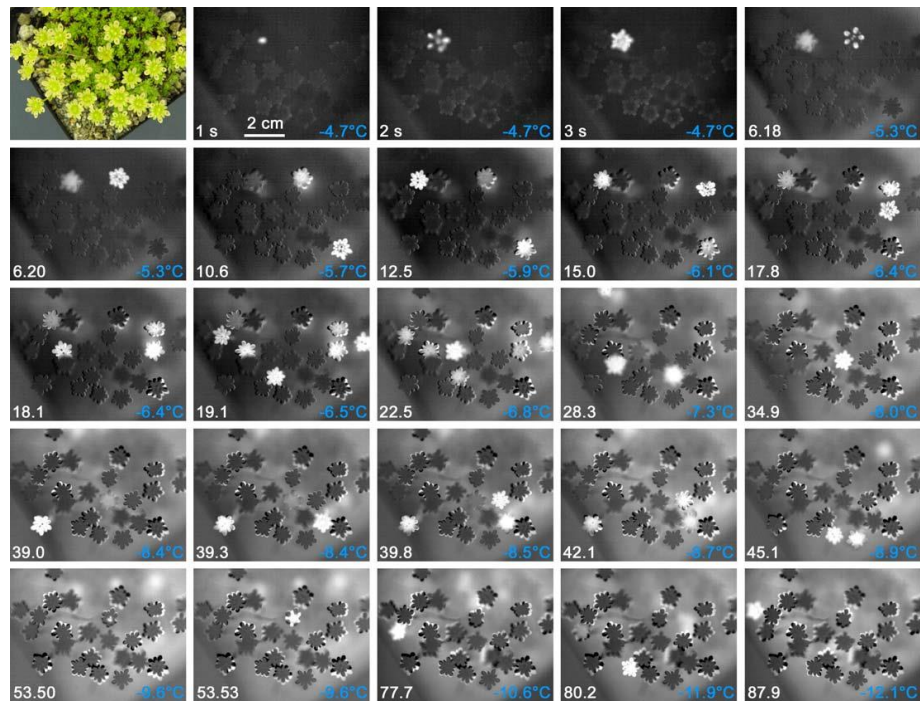
FIGURE 1. A continuous record of potato (*Solanum tuberosum*) leaf temperature during a frost episode in the fall of 1991. Temperature was monitored with a data logger and a copper-constantan thermocouple.



The water potential of ice declines ~ 1.2 MPa $^\circ\text{C}^{-1}$; and since ice is drier than water at a given temperature it pulls water out and requires equivalent increase in cell sap concentration of ~ 0.5 Osm $^\circ\text{C}^{-1}$ (chemical potential of cell sap remains in **equilibrium** with the freezing temp.)

Net amount of water efflux (**desiccation**) depends on initial solute concentration of cell sap and the freezing temperature which determines water potential / vapor pressure of external ice;

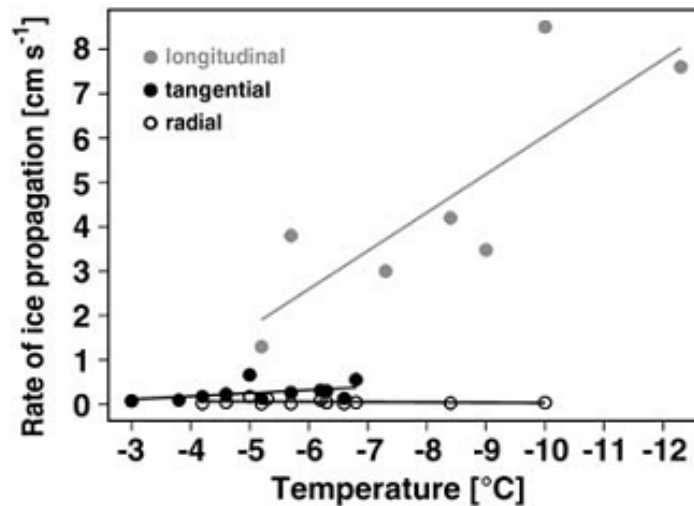
Mesure de la formation et propagation de glace



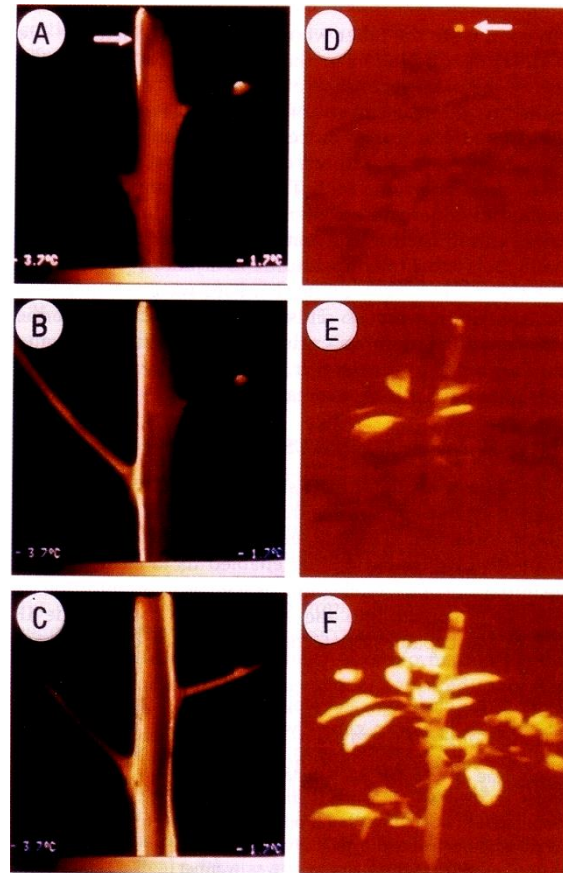
Hacker et al. Plant Science 2011.

Mesure de la formation et propagation de glace

Longitudinal vs. Lateral Growth of Ice in Woody Plants and Nucleating Activity of Xylem Sap

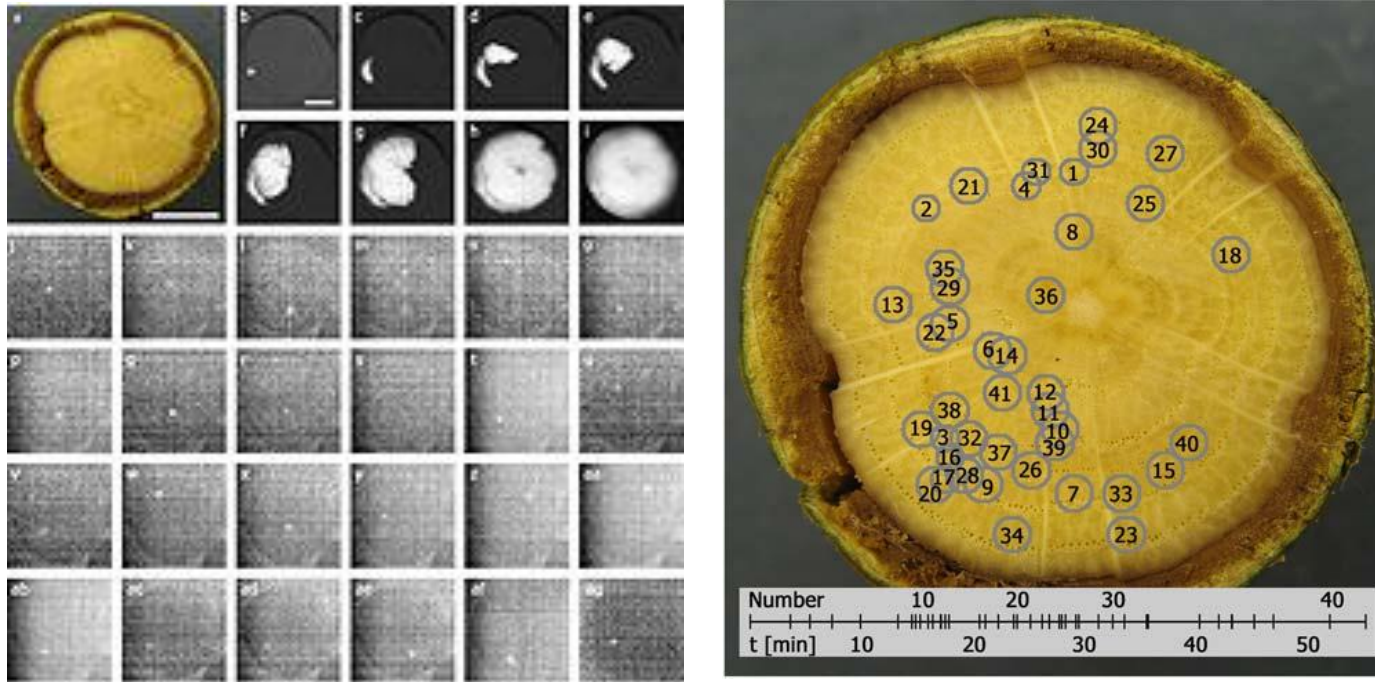


Neuner et al. (2010). *Tree Physiology*



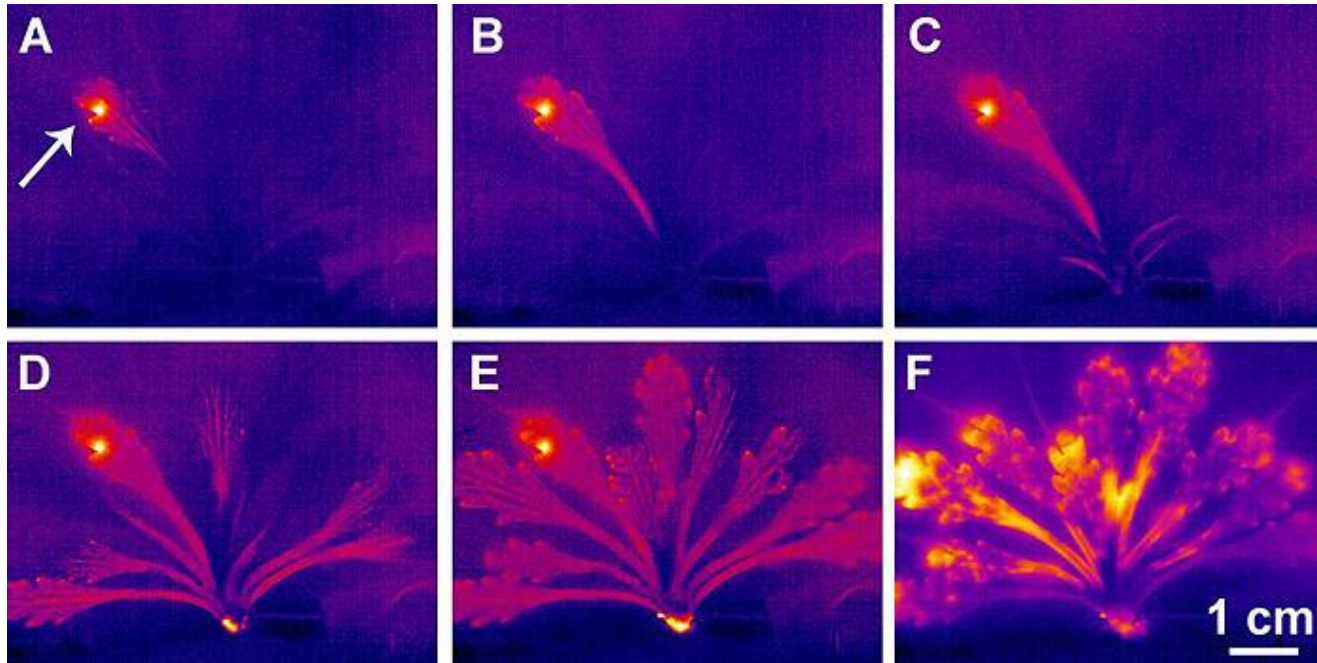
Wisniewski et al. (1997). *Plant Physiology*

Mesure de la formation et propagation de glace



Neuner et al. Tree Physiology 2010

Congélation et propagation dans une plante entière

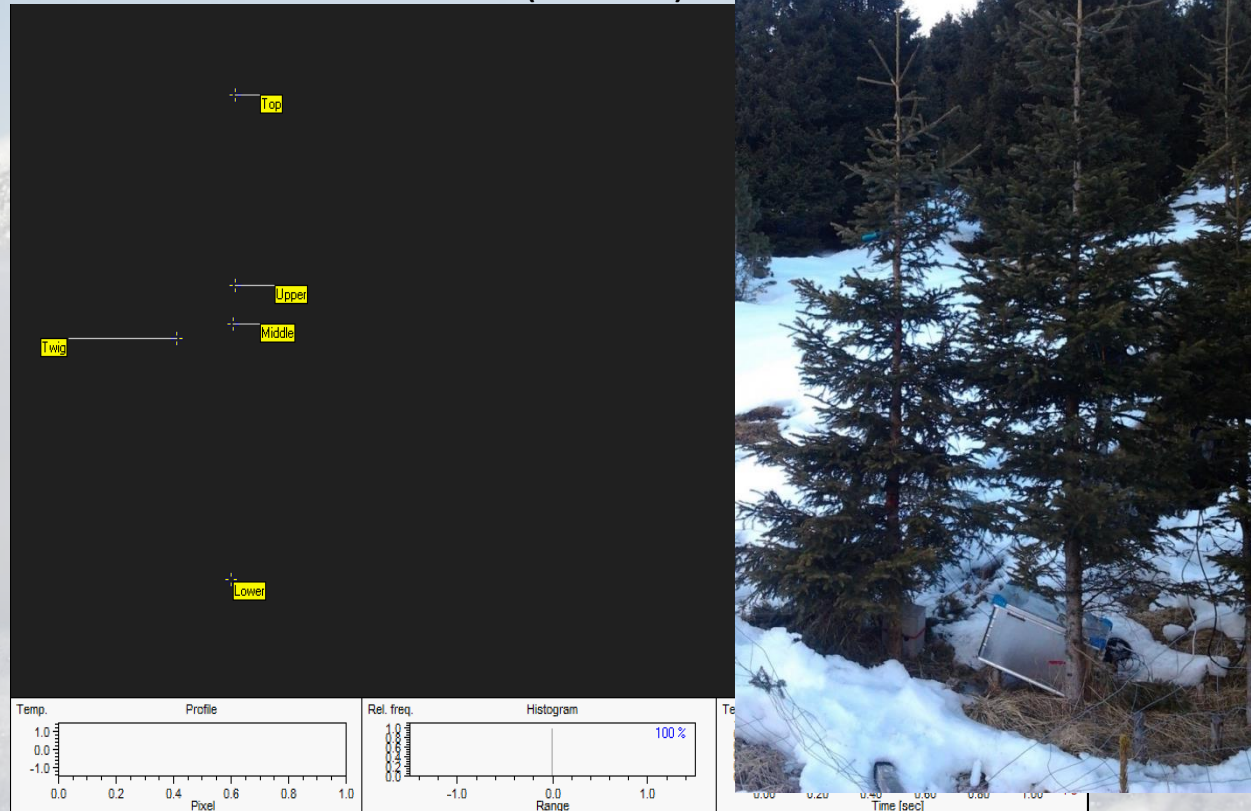


Senecio incanus

Hacker et al. (2008). *Plant, Cell and Environment*

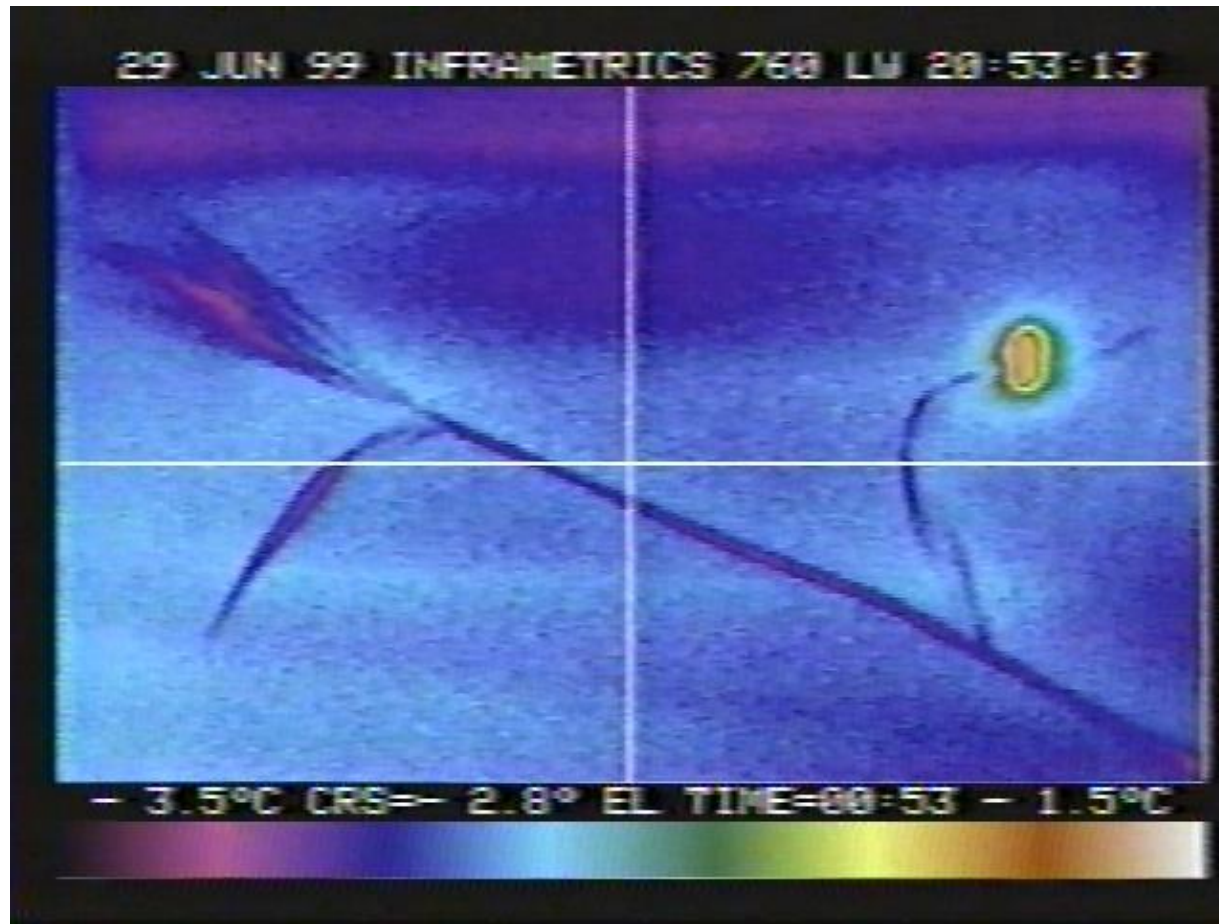
In natura

Picea abies en limite altitudinale (1600m)



Charrier *et al.*, Plant Physiology 2017

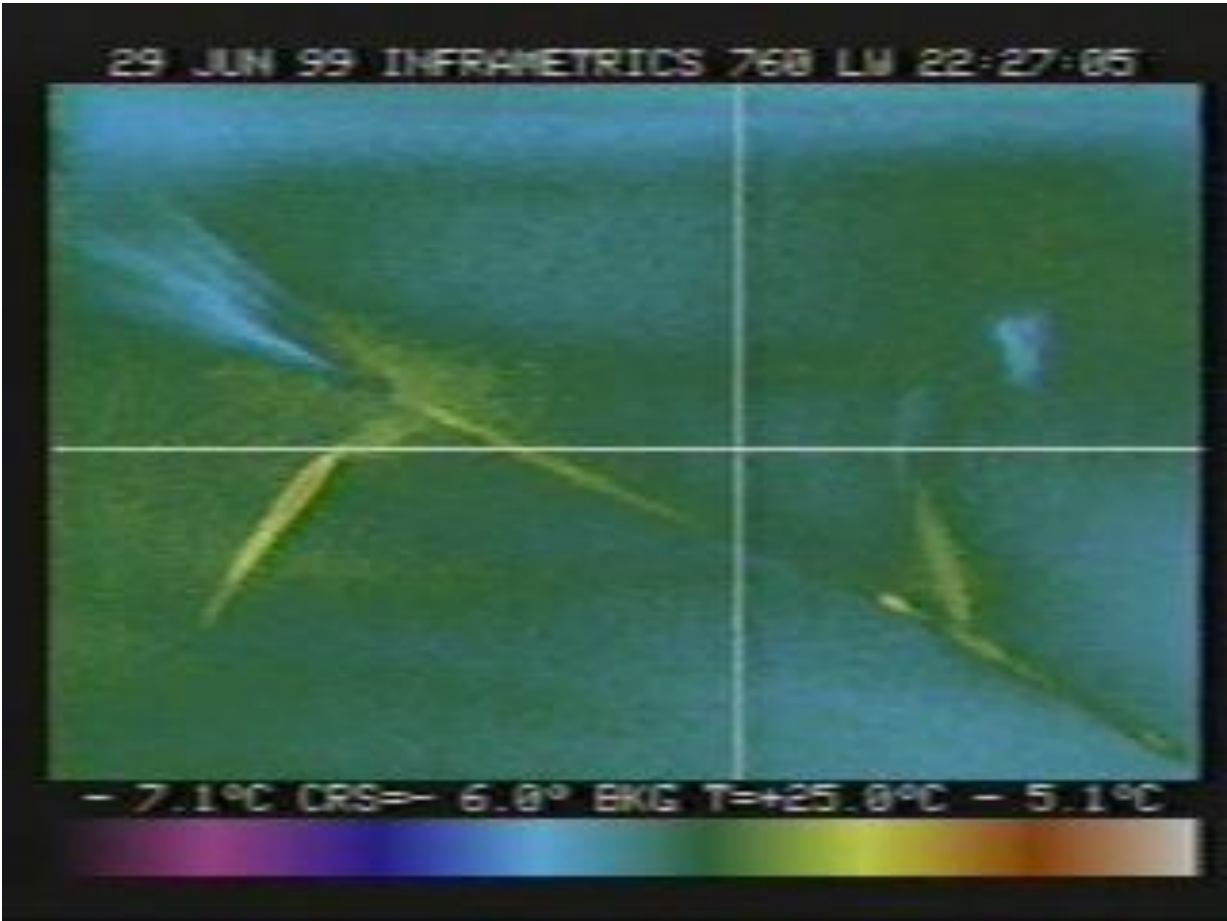
Barley (dry) INA strip freezing at -2.8°C



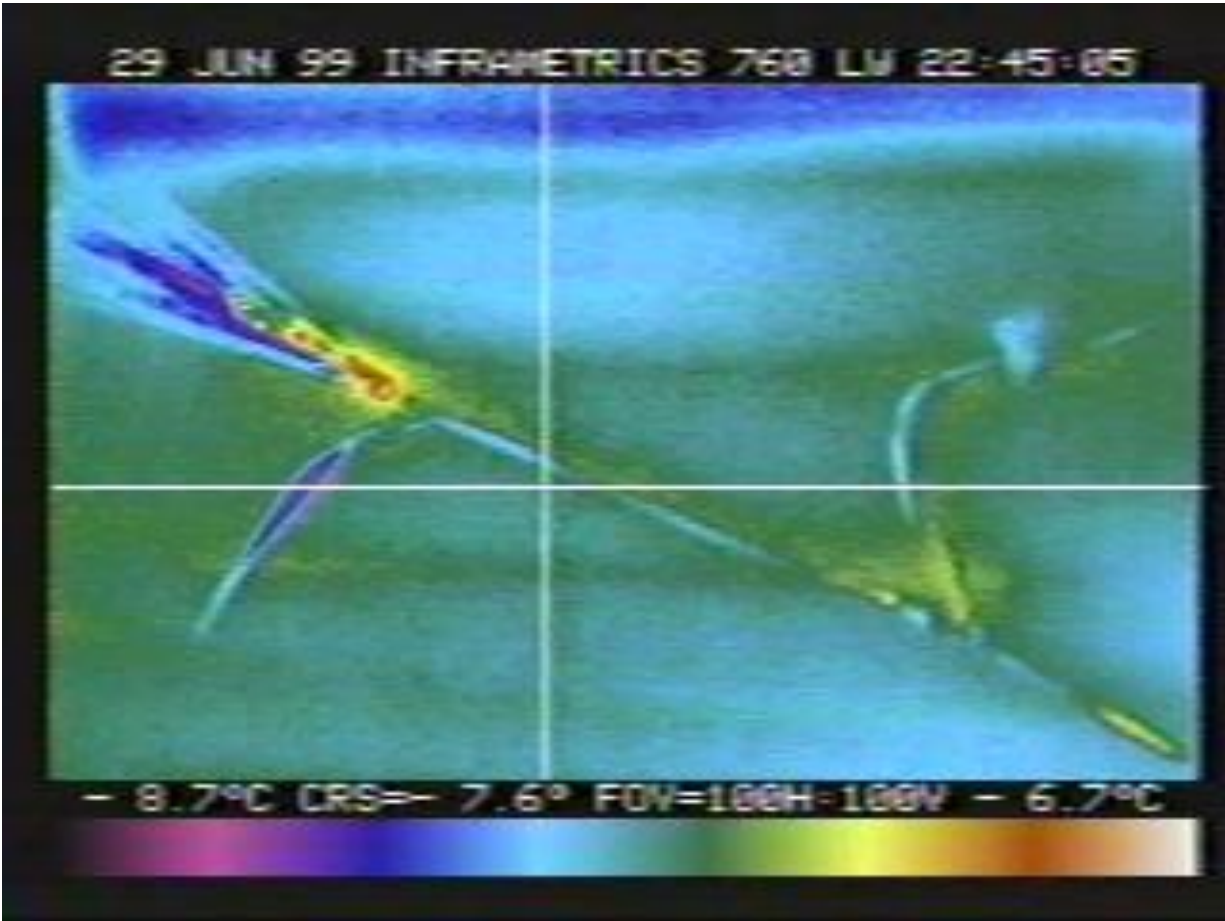
Barley (dry) INA initiating freezing at -4.2°C



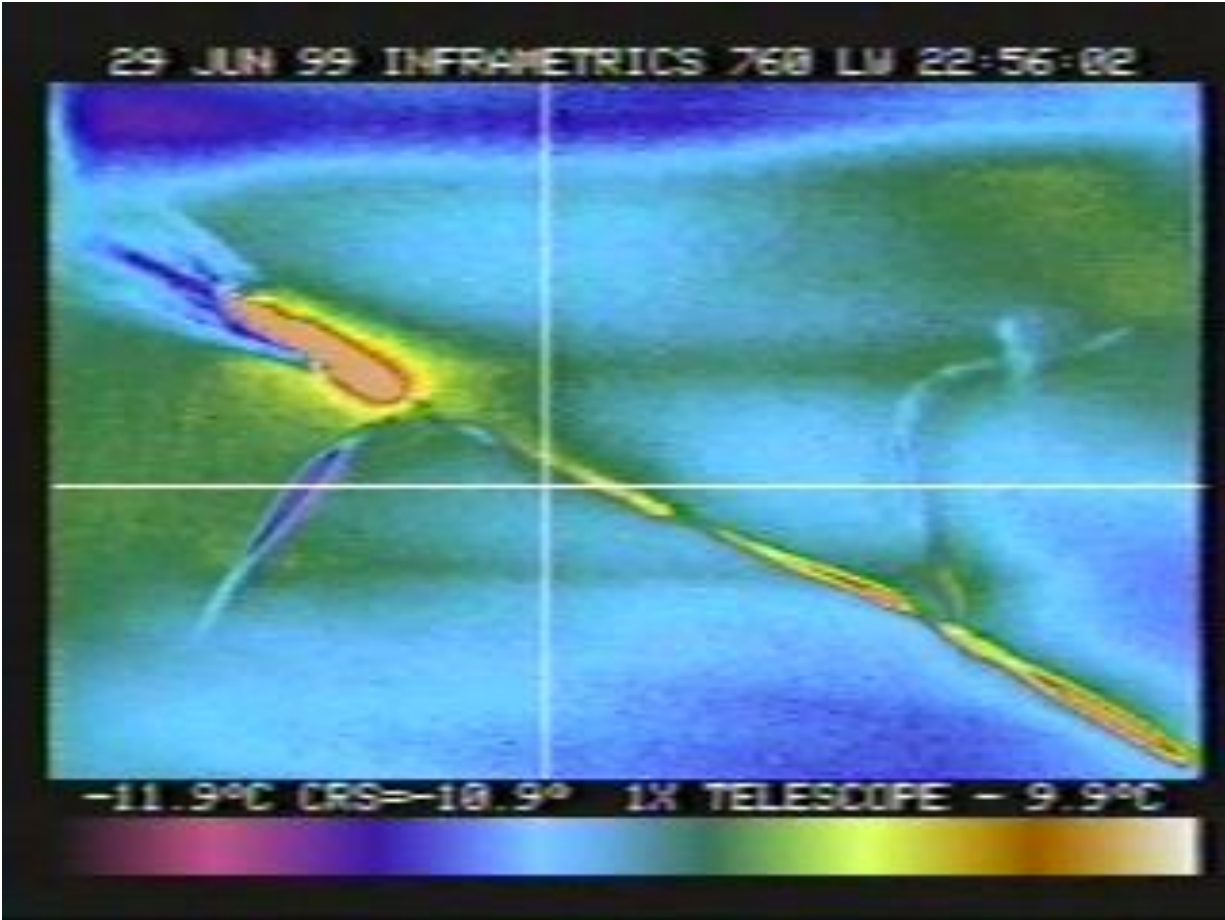
Barley (dry) stem and leaves freezing at -6.0°C



Barley (dry) head freezing at -7.6°C

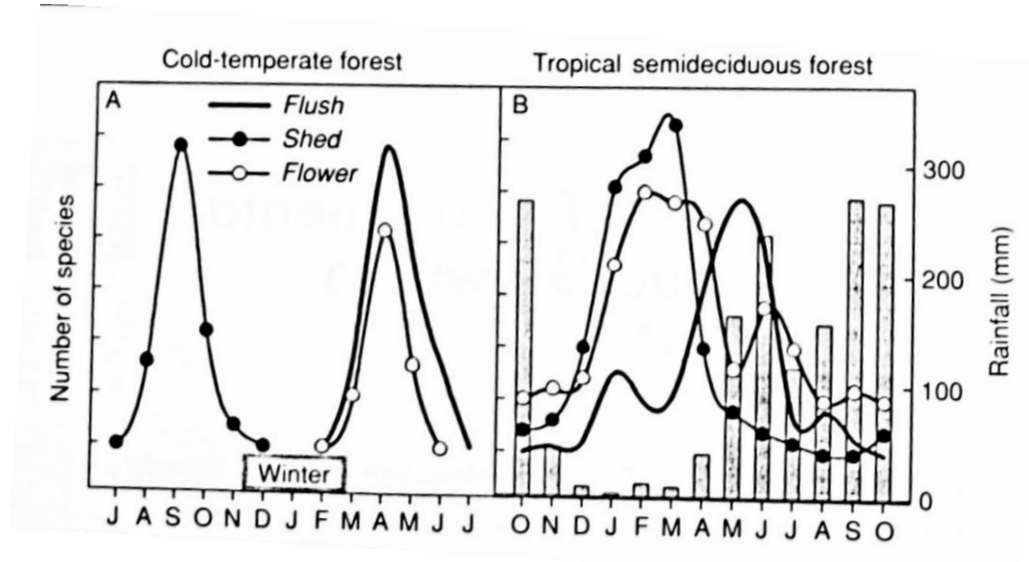


Barley (dry) Symplastic Freezing at -10.9°C





Points de vigilance

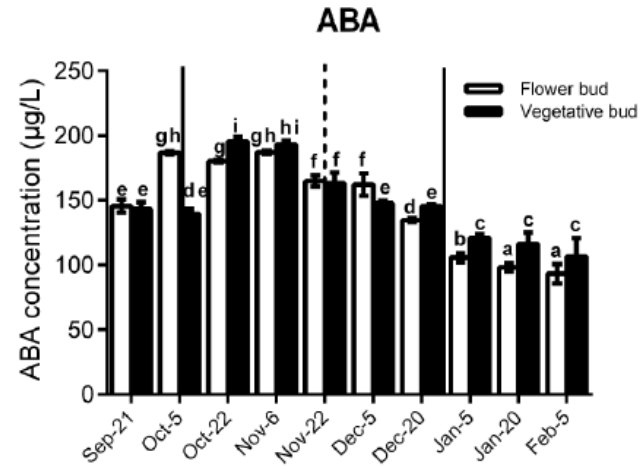
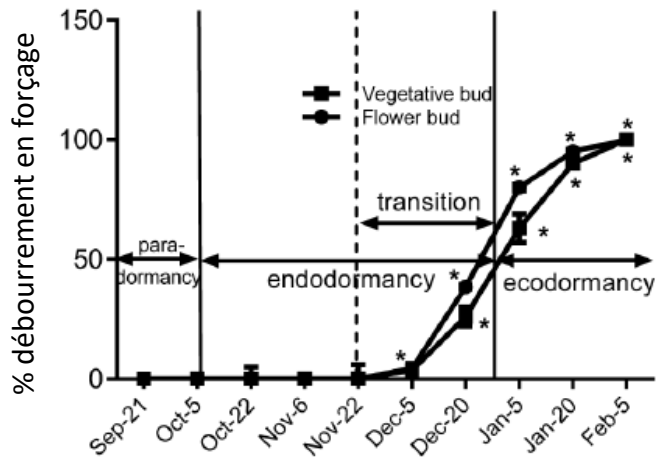


Borchert 1998



Points de vigilance

- Comparaison avec les techniques « classiques » de phénotypage



Pêcher

Wang *et al.*, *Frontiers in Plant Science*, 2016



Points de vigilance

- Quels stimuli environnementaux on veut tester ?
 - ⇒ Lumière
 - ⇒ Quantité
 - ⇒ Qualité
 - ⇒ Température
 - ⇒ Froid
 - ⇒ Chaud
 - ⇒ Mécanique
 - ⇒ Rapport Croissance primaire / secondaire



Points de vigilance

- L'échantillonnage est clé
 - Quels individus ?
 - Quels organes ?
 - Quel calendrier ?
 - Au moins 3 réplicats biologiques !!!



Points de vigilance

- Techniques mises en œuvre
 - Expertise
 - Equipement
 - Plateformes
 - Budget (!)



Points de vigilance

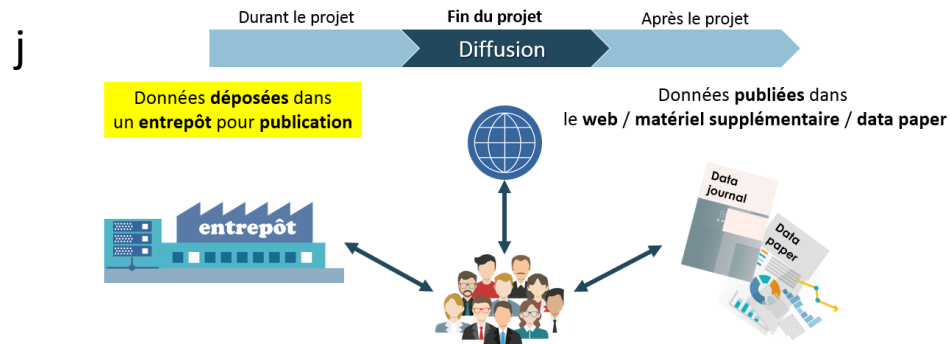
- Traitement des données
 - Expertise
 - Stagiaires ? Post-docs ?
 - Formation personnelle

➡ La visualisation des données est essentielle



Points de vigilance

- Stockage et mise à disposition des données
 - Entrepôts de données (Dryad, Zenodo, data.inra.fr)
 - Mise à disposition de plus en plus demandée par les



La diffusion a un objectif de **partage**, de **publication**. Vous ouvrez vos données pour le processus d'évaluation et de validation (peer review), ou pour permettre l'accès à un public plus large.

La diffusion peut se faire via le dépôt dans un entrepôt de données, la mise en ligne sur le site web du projet de recherche, dans le web des données (linked data), ou encore une publication en matériel supplémentaire d'un article (supplemental data) ou dans un Data paper (d'une revue ou d'un Data journal).



Qu'entendons-nous par signaux biologiques?

Retour sur les mots clés