



14 JS RFMF Aussois- 23-26 Novembre 2021

Etude métabolomique de la réponse au stress de lins déficients en lignanes

Kamar Hamade

Laboratoire BIOPI
(Biologie des Plantes et Innovation)
de l'Unité Mixte de Recherche BioEcoAgro
(UMR Transfrontalière INRAE 1158)
UFR de Pharmacie de l'Université de Picardie Jules Verne

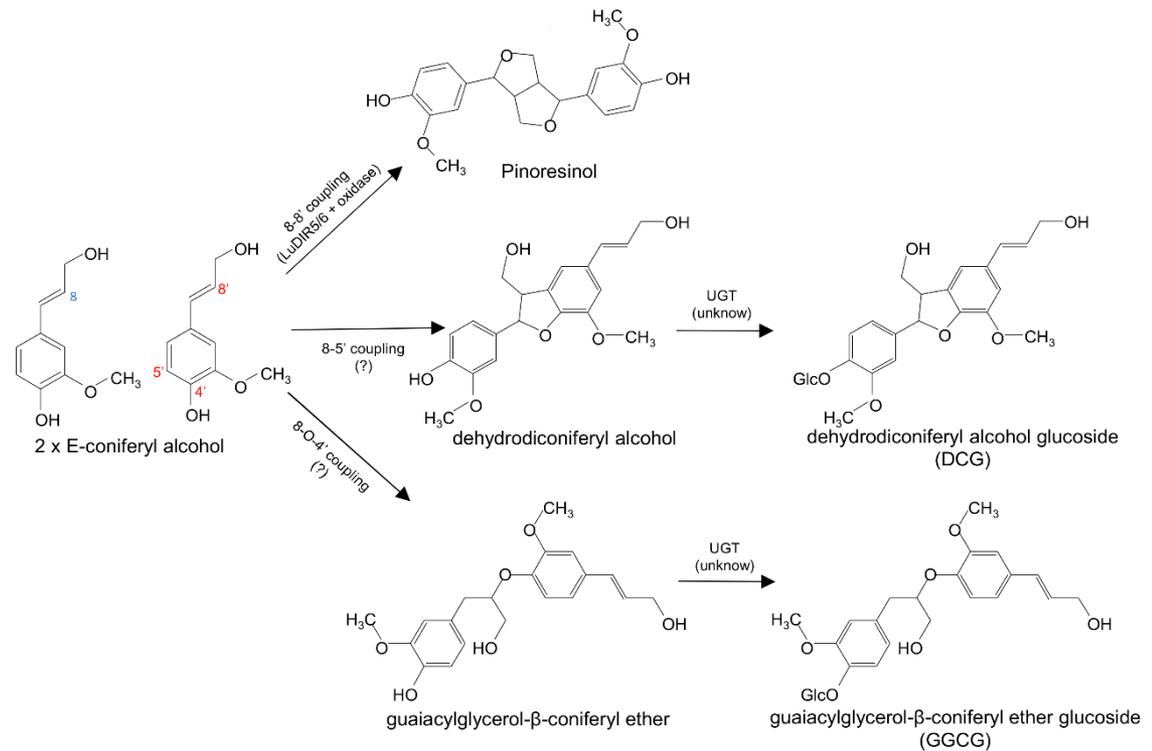


Lignanes

Phénylpropanoïdes; dimères > Sécoisolaricirésinol diglucoside SDG

Lignanes:

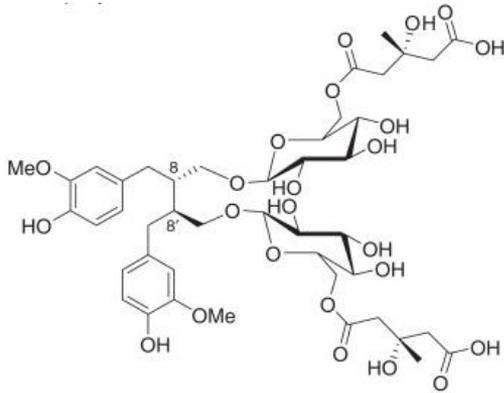
- ➔ Métabolites secondaires
- ➔ Polyphénols
- ➔ Dimères de phénylpropanoïdes
- ➔ Liaison 8-8'



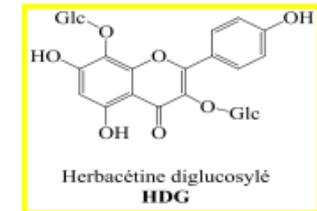
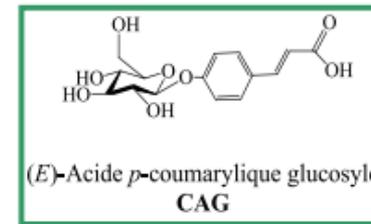
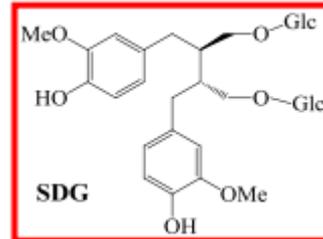
Lignanes

Phénylpropanoïdes; dimères > Sécoisolaricirésinol diglucoside SDG

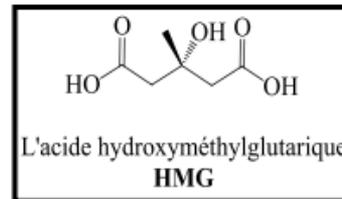
Sous forme complexée



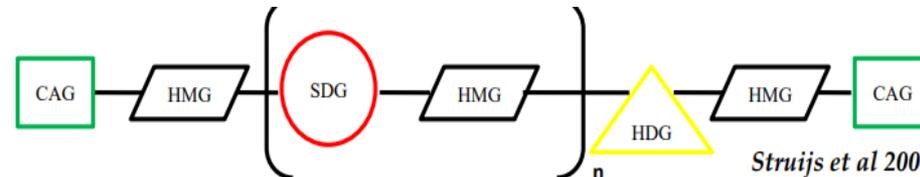
Polymère constituée de lignanes, d'acides hydroxycinnamiques et de flavonoïdes



associés par des liaisons ester avec l'acide 3-hydroxy 3-méthyl glutarique (HMG)



Structure hypothétique de la macromolécule

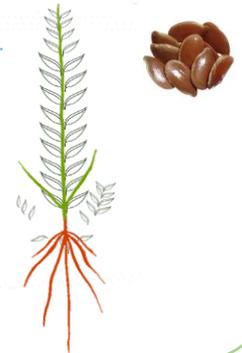
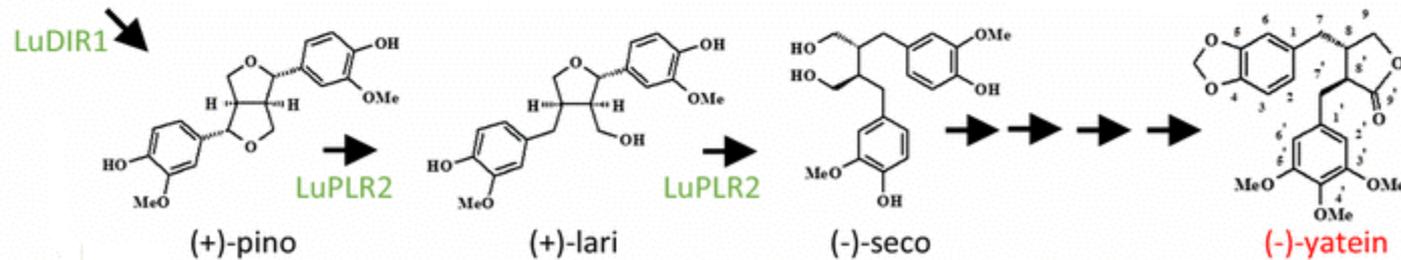
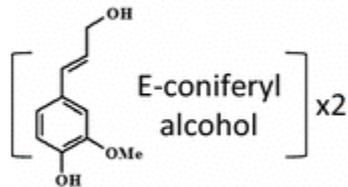
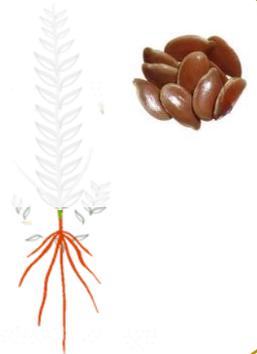
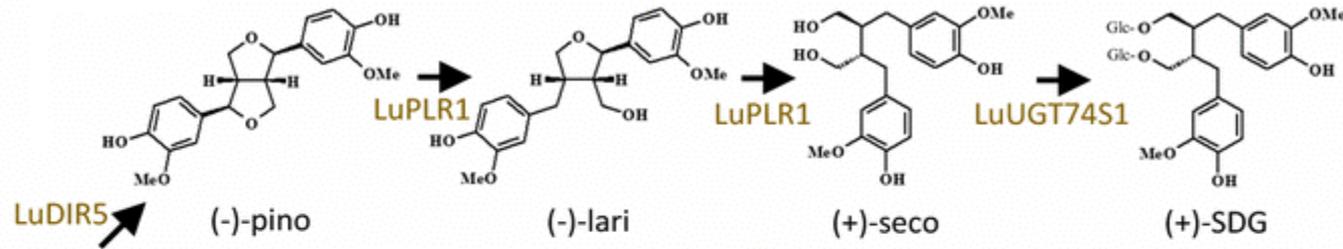


Struijs et al 2007, 2008, 2009

Lignanes

PLR1 et PLR2 : énantiospécificité opposée

Graines et Racines



Feuilles, Tige, Racines, Graines



Objectif des travaux

Rôle in planta des lignanes?

- ✓ Propriétés antioxydantes (*El-Maarouf-Bouteau and Bailly, 2008*)
- ✓ Propriétés antibactériennes (*Gaafar et al., 2013*)
- ✓ Propriétés antifongiques (*Gang, 1999*), (*Nanjundaswamy et al., 2007*)
- ✓ Propriétés antivirales (*Qinghua et al., 2020*)
- ✓ Effets contre des larves des insectes (*Gao et al., 2004*)
- ✓ Régulations moléculaires et métabolique au niveau de la voie de biosynthèse de lignanes en conditions du stress abiotique (*Paniagua et al., 2017*) (*Kermani et al., 2019*) (*Xiao et., 2020*) (*Khan et al., 2018*) (*Nadeem et al., 2019*) (*Chen et., 2015*)



Les lignanes sont-ils impliqués dans la réponse adaptative de plante de Lin face au stress hydrique?



Etude métabolomique par RMN et LC-MS de la réponse au stress hydrique de lins déficients en lignanes



Obtention du matériel végétal



Partie
végétative

LuT (témoin)

Pi1AM



30 jours de culture hydroponique
en serres

(21°C; avec 16h photopériode)

**Stress: 30 mM
PEG 6000**

J0 J1 J5

Contrôle

(Milieu Hoagland n'est
pas supplémentée en
PEG 6000)

Stressées

(Milieu Hoagland
supplémentée en PEG
6000)



Prélèvement:

Tige et Feuilles

-Racines

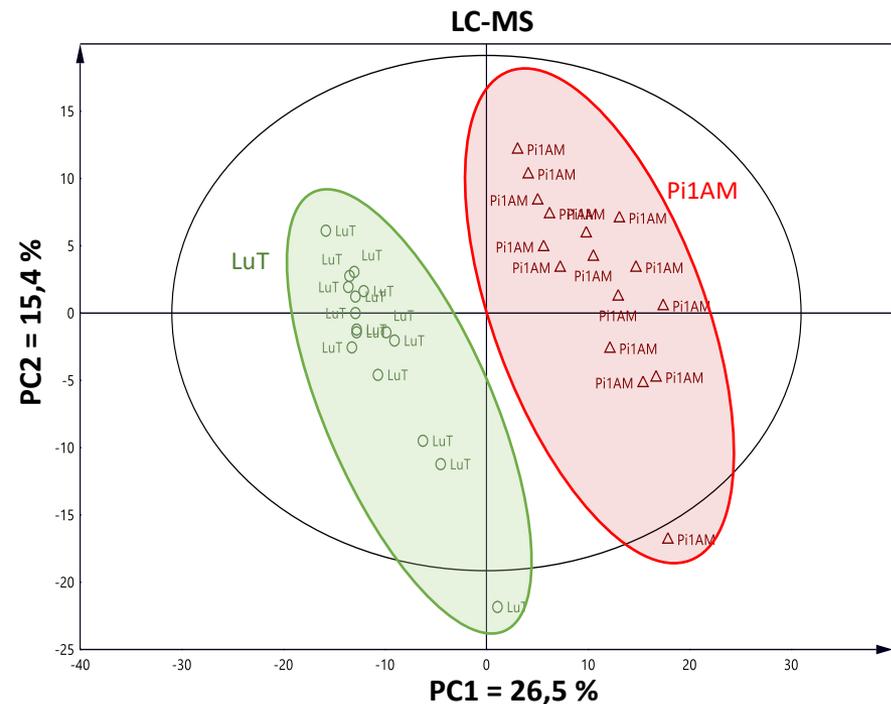
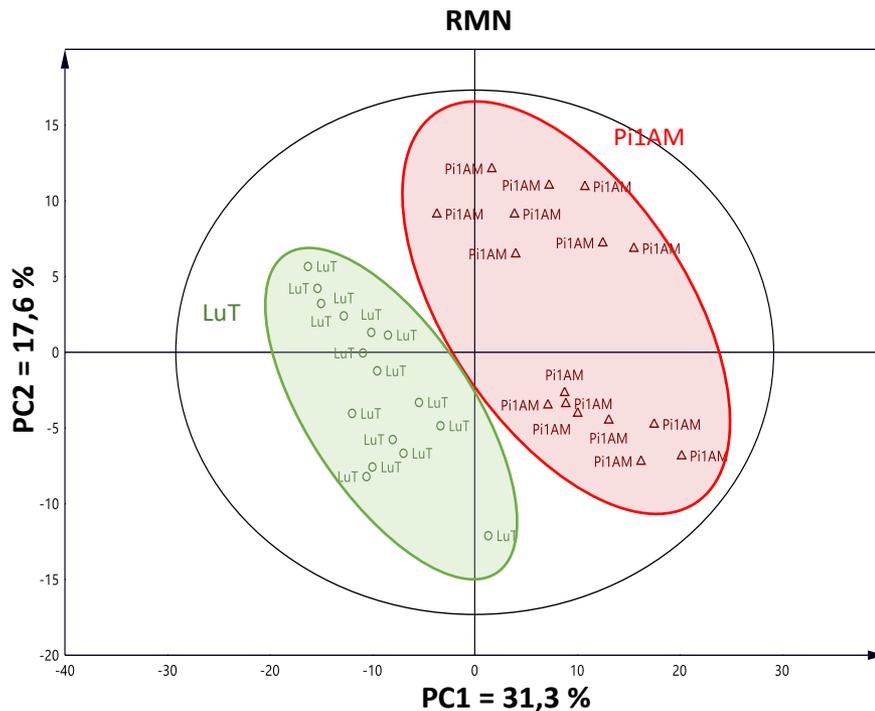




Partie végétative: Racines de lin

Effet transgène (Pi1AM vs LuT)

Analyses statistiques : PLS-DA– Analyse des variations métaboliques de 2 lignées en condition contrôle

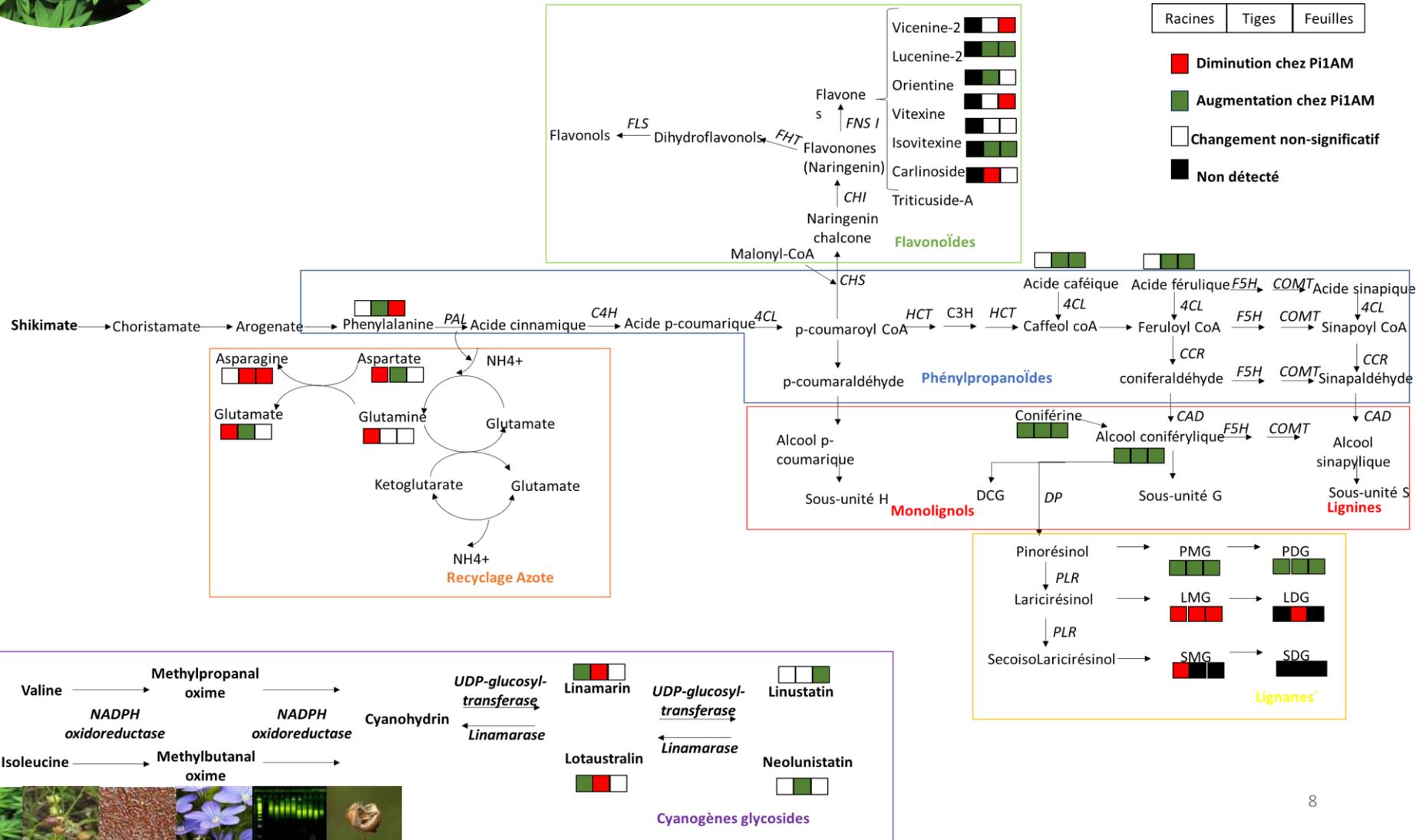


- Deux groupes distincts **Pi1AM/LuT**
- LuT et **Pi1AM** sont différents métaboliquement
- Réorganisation au niveau des métabolismes primaire et secondaire dans les racines du lin.



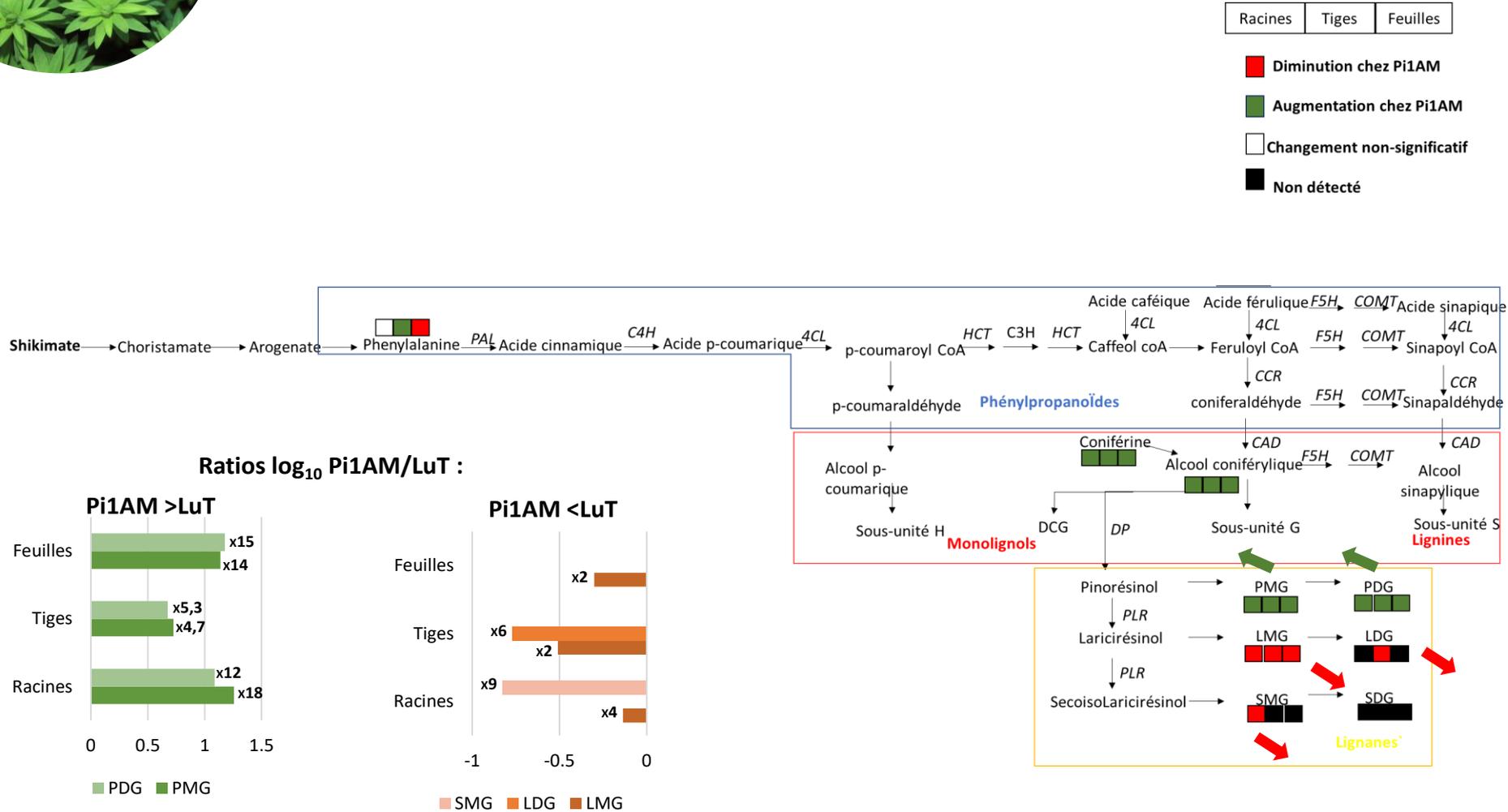


Partie végétative: Effet du transgène-Schéma bilan

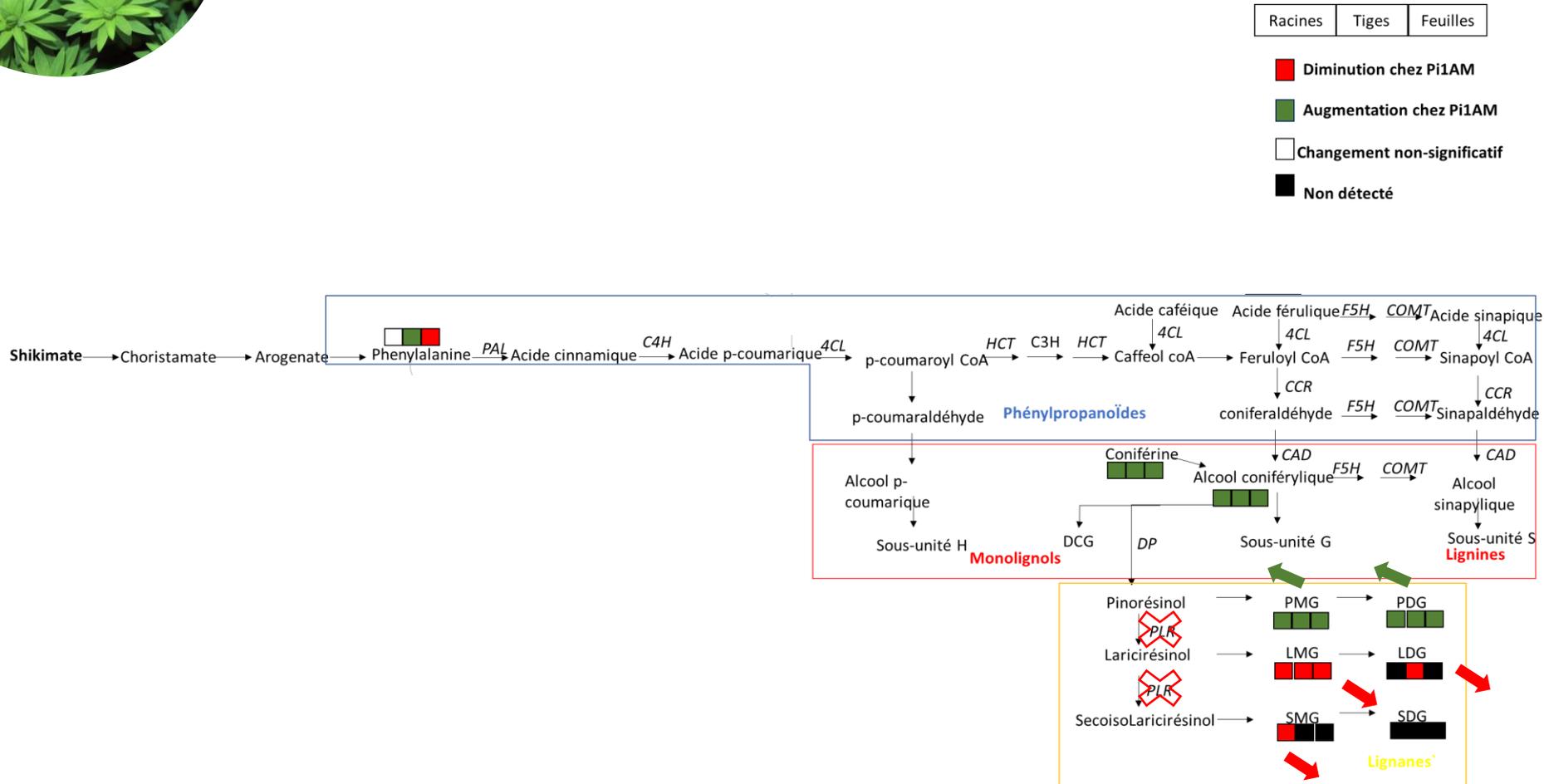




Effet du transgène : modifications et régulations observées au niveau de la voie de biosynthèse des lignanes et des phénylpropanoïdes

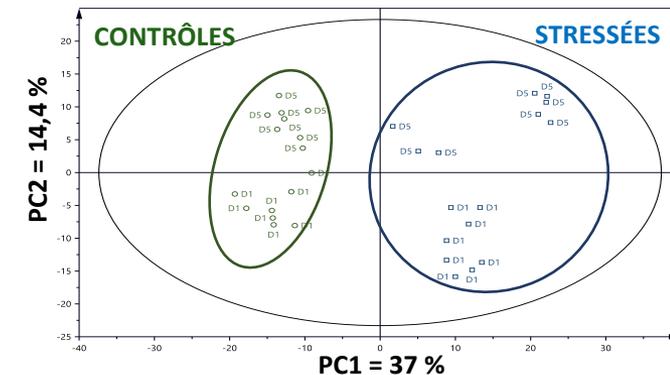
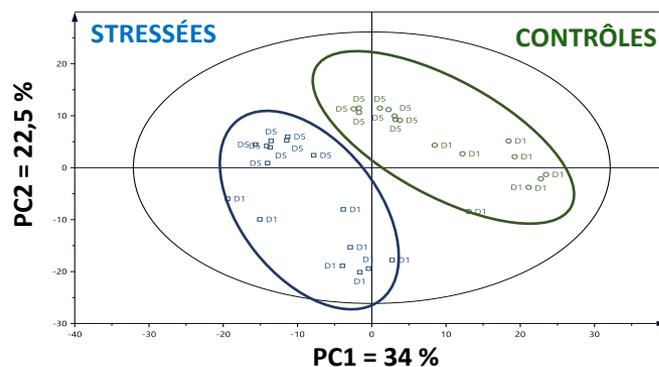
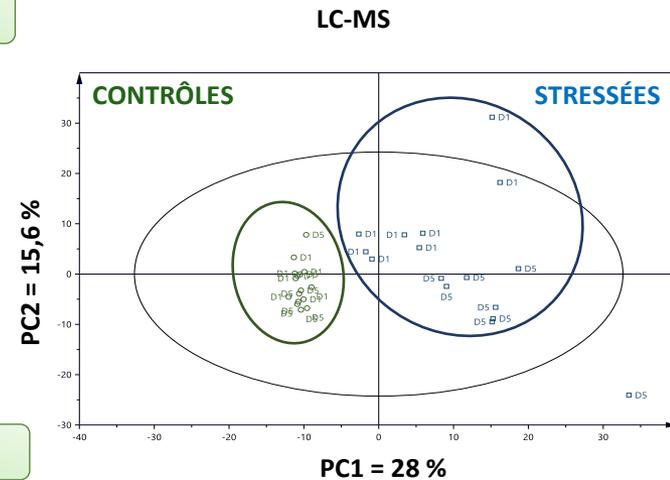
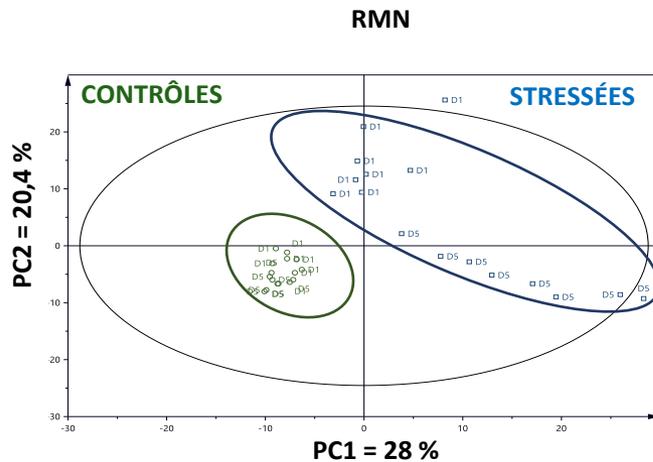


Effet du transgène : modifications et régulations observées au niveau de la voie de biosynthèse des lignanes et des phénylpropanoïdes



Partie végétative : Racines de lin

Analyses statistiques : ACP – Analyse globale des variations métaboliques



- **Séparation** des échantillons stressés et contrôles.
- Pour les deux lignées, le **stress osmotique affecte le métabolisme primaire et secondaire** des racines de lin.



Partie végétative : Racines de lin

Variations métaboliques responsables de la séparation des données ?

Analyses statistiques :
Test de Wilcoxon pour
analyse semi-quantitative
(p value < 0,05)

- Intégration signal
caractéristique/molécules
discriminantes

LuT: 31 métabolites présentent des variations significatives

Pi1AM: 30 métabolites présentent des variations significatives

LuT / Pi1AM

Réponse métabolique différente après avoir été soumises
à des conditions de stress osmotique





Schéma bilan: Effet du stress

Au niveau de la partie végétative de la plante

	Racines	Tiges	Feuilles
LuT			
Pi1AM			

Augmentation
 Diminution
 Changement non significatif

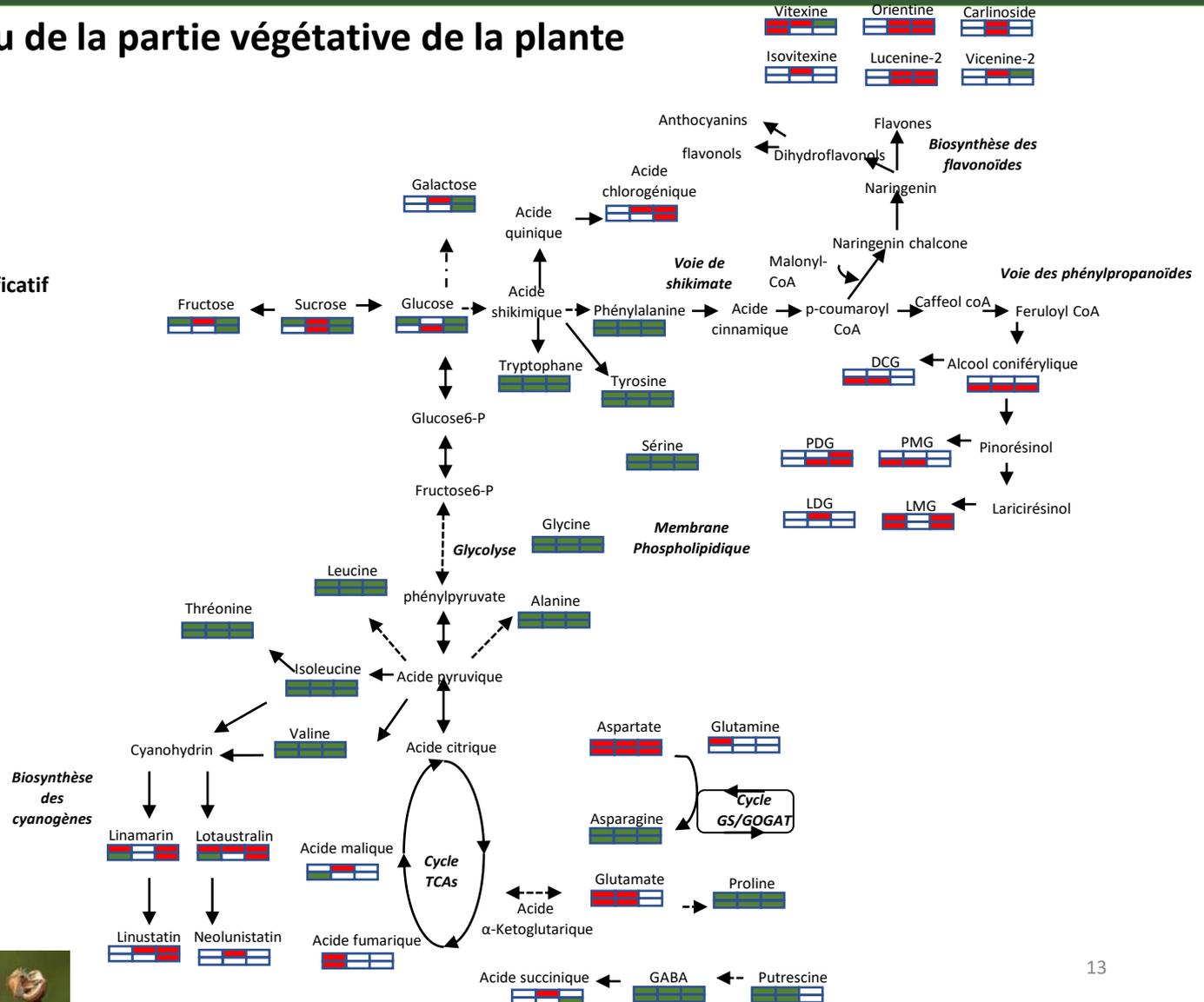




Schéma bilan: Effet du stress

Au niveau de la partie végétative de la plante

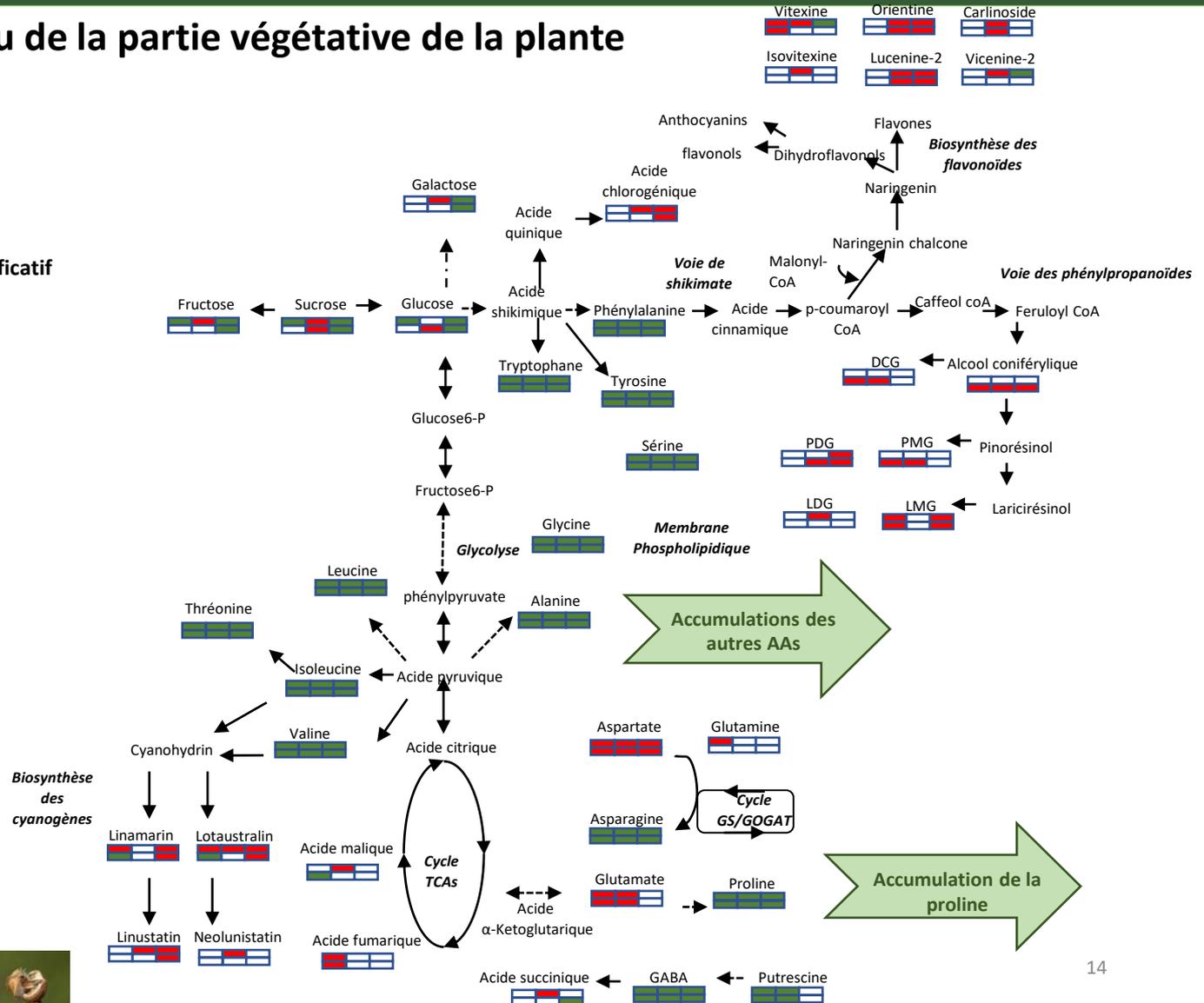
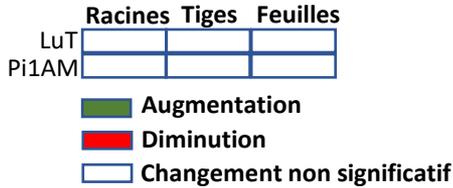




Schéma bilan: Effet du stress

Au niveau de la partie végétative de la plante

	Racines	Tiges	Feuilles
LuT			
Pi1AM			

Augmentation

Diminution

Changement non significatif

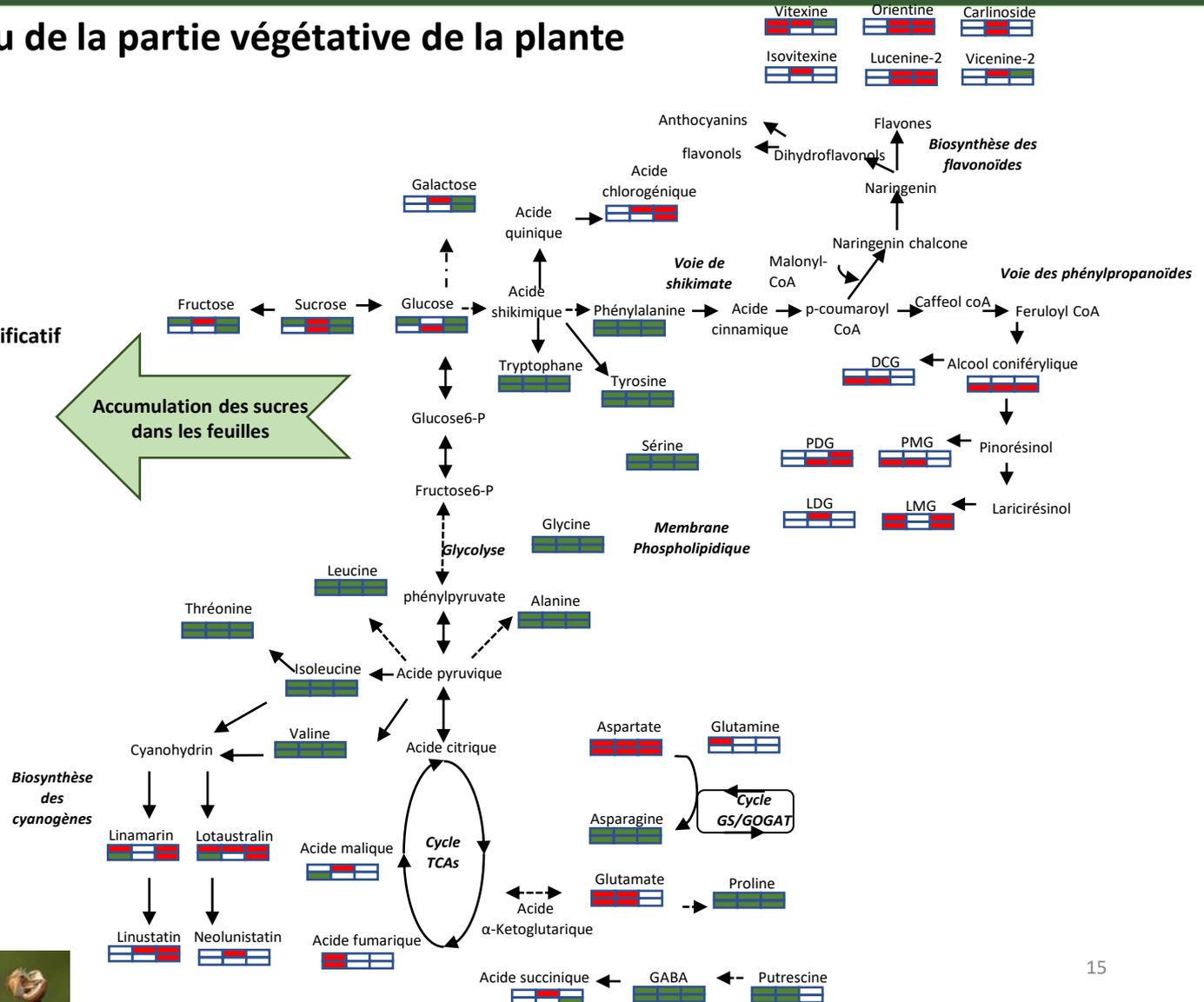
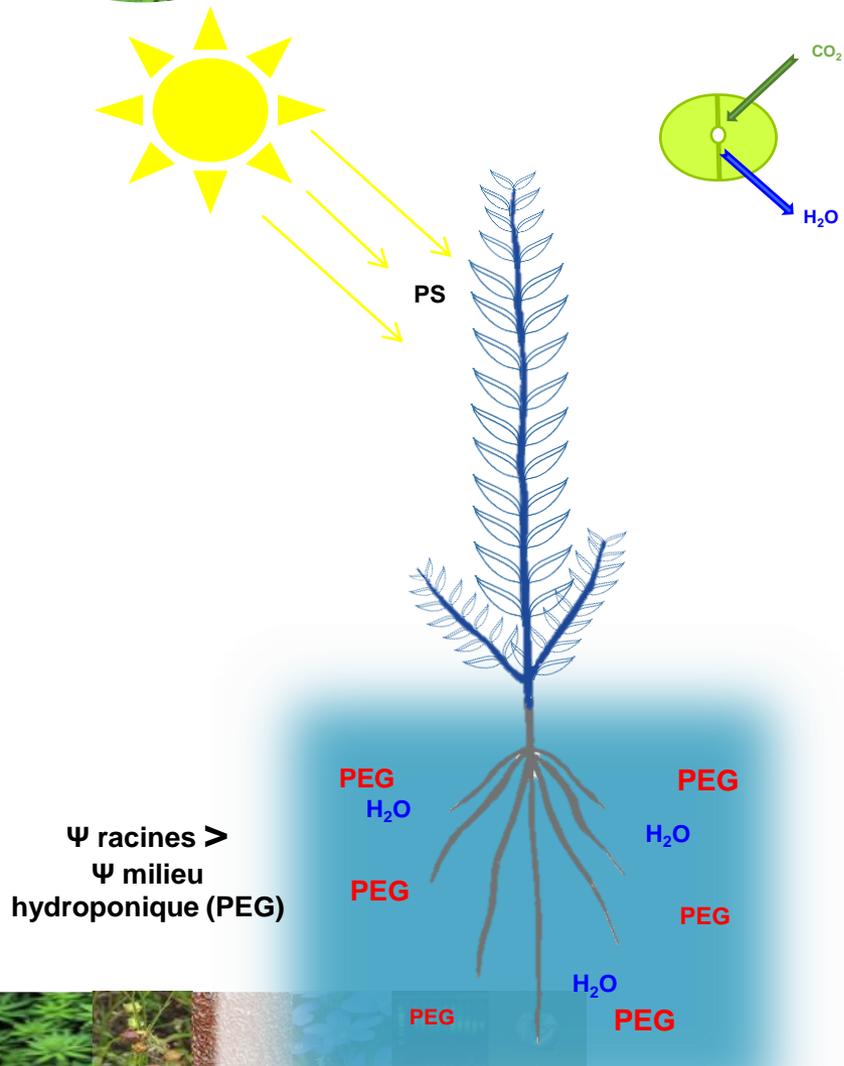


Schéma bilan: Effet du stress

Dans des conditions de sécheresse :



Stress osmotique → modifications communes du métabolisme carboné & azoté
→ Stratégie d'adaptation commune aux deux lignées

Osmoprotectants

Ajustement osmotique

Détoxification des ROS

Maintien de la turgescence des feuilles

Prévention de la déshydratation des membranes et des protéines

Réduction de taux de photosynthèses au niveau des feuilles

++++ proline

++ tryptophane

+ asparagine

+ tyrosine

+ glycine

++ isoleucine

+ valine

+ leucine

+ Glucose

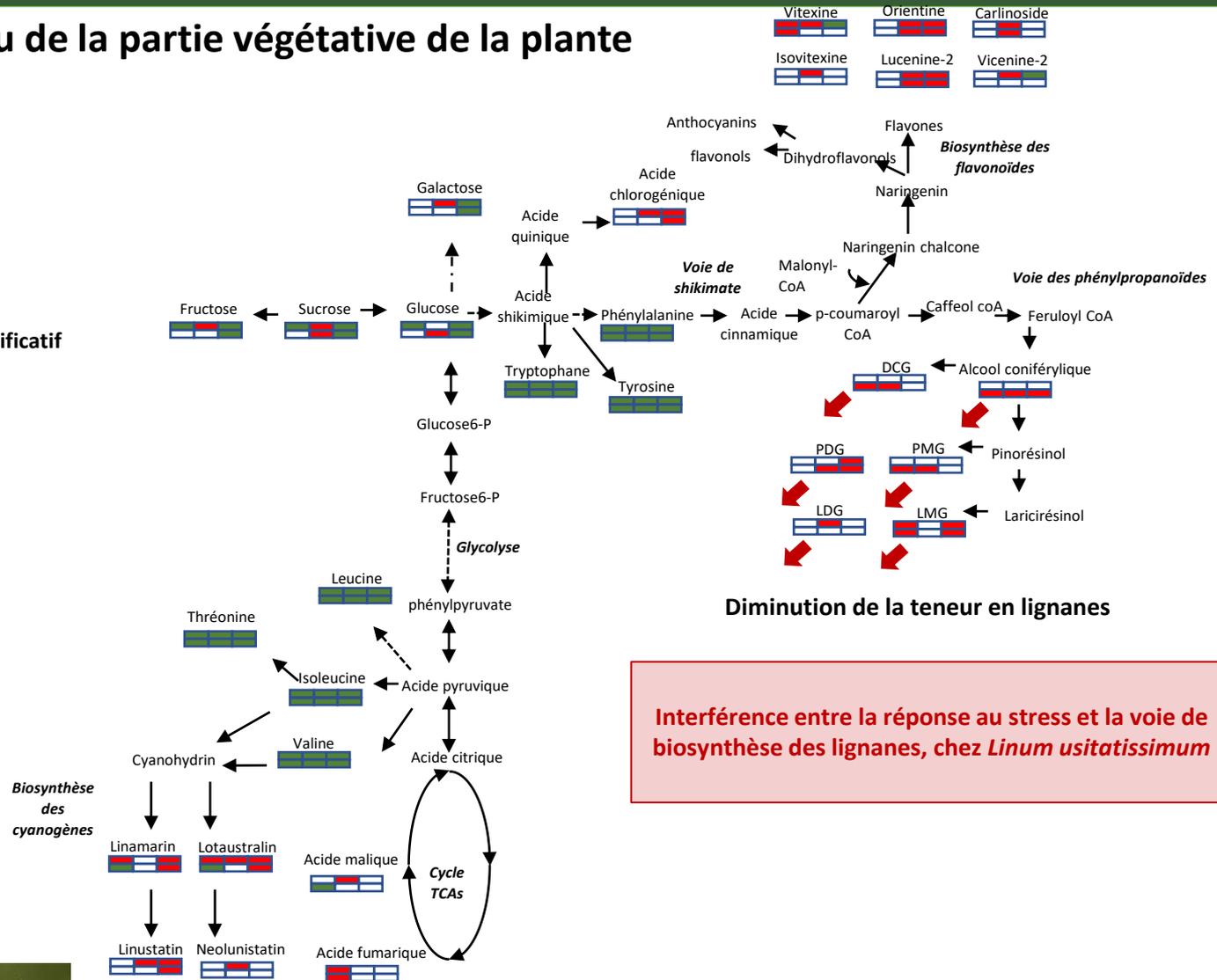
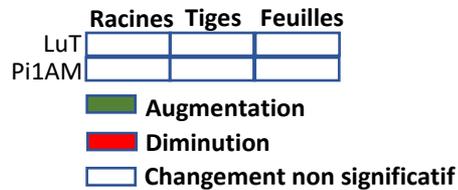
+ Fructose

+ Sucrose

+ Galactose

Schéma bilan: Effet du stress

Au niveau de la partie végétative de la plante



Interférence entre la réponse au stress et la voie de biosynthèse des lignanes, chez *Linum usitatissimum*





Conclusions et Perspectives

X LuT/Pi1AM :

-Métabolome différent au niveau de racines, tiges, et feuilles, en condition contrôle.

-**Réponse métabolique différente** après avoir été soumises à des conditions de stress osmotique.

-**Accumulation des métabolites communs impliqués dans la réponse adaptative (AAS, sucres).**



-**Implication de lignanes** dans les voies métaboliques responsables de **la réponse de lin au stress osmotique.**

X Approfondir les connaissances sur les interactions entre lignanes et autres métabolismes chez le lin

-**Identification complémentaire des métabolites** impactées par l'inhibition de LuPLR (**Utilisation de l'approche des Réseaux moléculaires (GNPS)** pour l'annotation de nouvelles classes de composés).

-**Approches complémentaires de génomique et de transcriptomique**, pour vérifier des voies modulées par l'inhibition de LuPLR.

X Caractériser mieux le rôle de lignane dans les mécanismes intervenant dans la tolérance des plantes au stress

-**Comparaison de degré de tolérance au stress hydrique des différentes lignées :**

- Analyses physiologiques et morphologiques (contenu en eau ; activité PSII, perte de rendement...).
- Analyse de l'expression des gènes régulateurs de la synthèse d'ABA et les gènes fonctionnels impliqués dans la synthèse des protéines, des transporteurs de l'eau (aquaporines), des osmoprotectants et des antioxydants.

-**Etude de comportement face au stress des plantes fortement dépourvues en lignanes.**





Remerciements

BIOPI – UPJV

François Mesnard
Ophélie Fliniaux
Jean-Xavier Fontaine
Roland Molinié
Anthony Quéro
Elvis Otogo Nnang
Solène Bassard

...

Plateforme CRRBM- UPJV

Laurent Gutierrez
Stéphanie Guénin
Hervé Demailly

Plateforme analytique- UPJV

Serge Pilard
Dominique Cailleu

LBLGC-Univ d'Orléans

Christophe Hano
Eric Lainé

