

Premières journées scientifiques du GDR 3544 « Sciences du Bois »

Déterminisme biologique des structures et propriétés

Gilles Pilate
Directeur de recherche, INRA Orléans



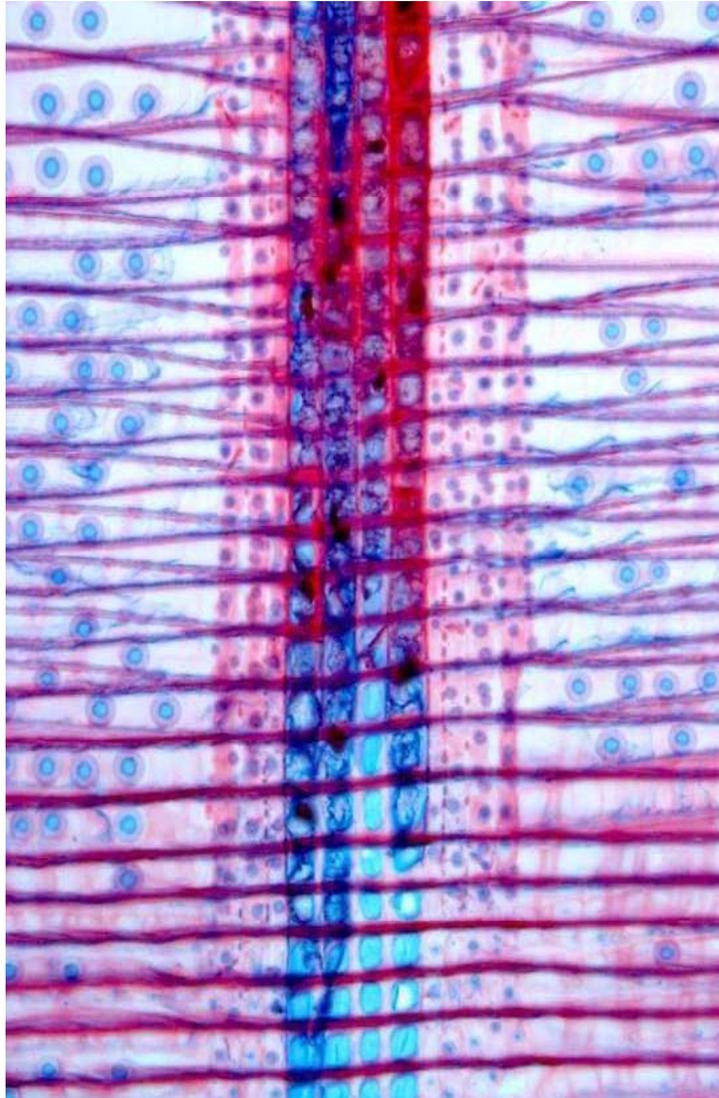
Mardi 27 Novembre 2012, Montpellier

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT





Unité Amélioration, Génétique et
Physiologie Forestières
Centre INRA - Orléans



Projet d'Unité : valorisation des ressources génétiques forestières en vue d'une production durable de bois d'œuvre et de biomasse ; impact écologique des populations domestiquées sur l'écosystème dans un contexte climatique changeant.

Groupe fonctionnel « Biomasse & Propriétés du Bois »

Approches en physiologie moléculaire, génétique
et génomique
sur le déterminisme des propriétés du bois

Plan

En introduction, quelques rappels sur la formation du bois et la forte variabilité qui en découle

Quelques exemples de recherche sur le déterminisme biologique des structures et propriétés

Définition d'un arbre : plante terrestre capable de se développer en hauteur, en général au delà de plusieurs mètres, grâce à une structure rigide composée d'un tronc qui peut éventuellement se ramifier en formant des branches...



Séquoïas (100 m , 2000 ans)



Le pin de Bristlecone
Mathusalem,
Californie, USA, 4850 ans



L'arbre de la connaissance.

Tableau de Lucas Cranach l'Ancien.

Notion de biodiversité : le bois de chaque arbre possède des propriétés très variables, résultant de l'interaction de son patrimoine génétique avec l'environnement



A quoi sert le bois...

Sawn timber, plywood, particle board, oriented strand board...



For building, construction, joinery, wood furniture...



Extractives for chemical industry, "ligno-chemical" industry



Pulpwood for paper



Energy



...pour l'homme ?

A quoi sert le bois...



... pour l'arbre?

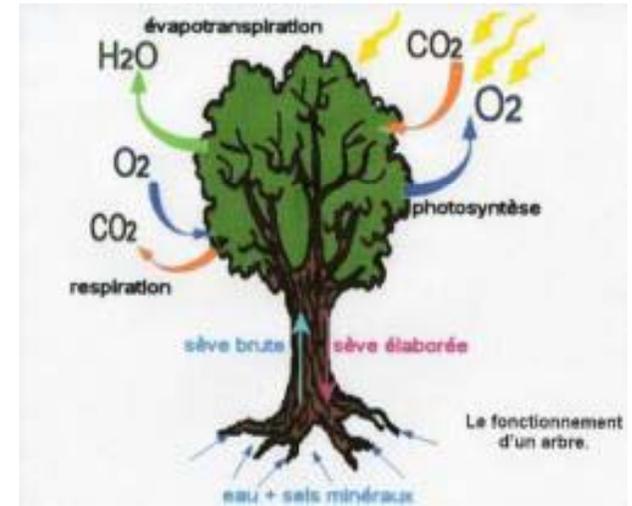
A quoi sert le bois pour l'arbre?

Conduire la sève brute des racines jusqu'au houppier

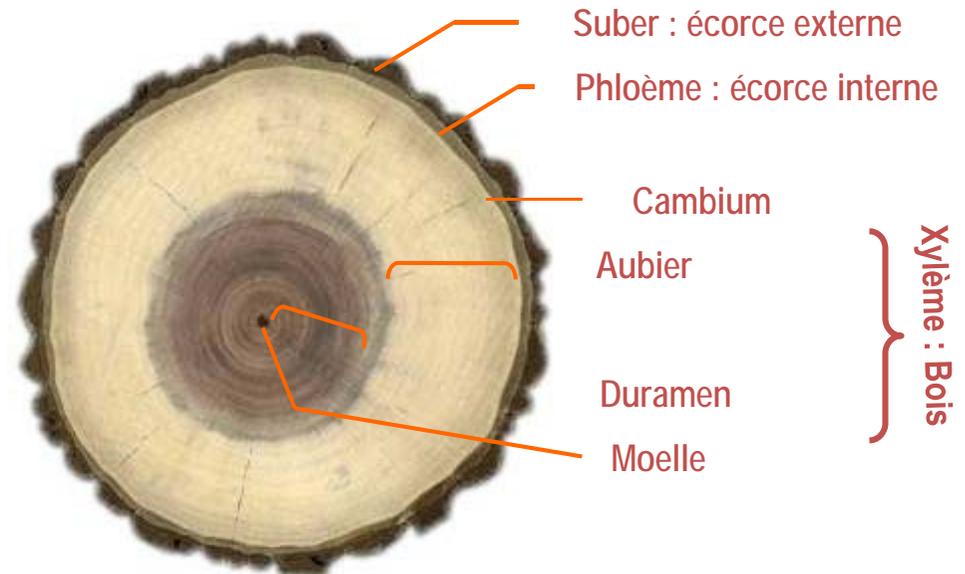
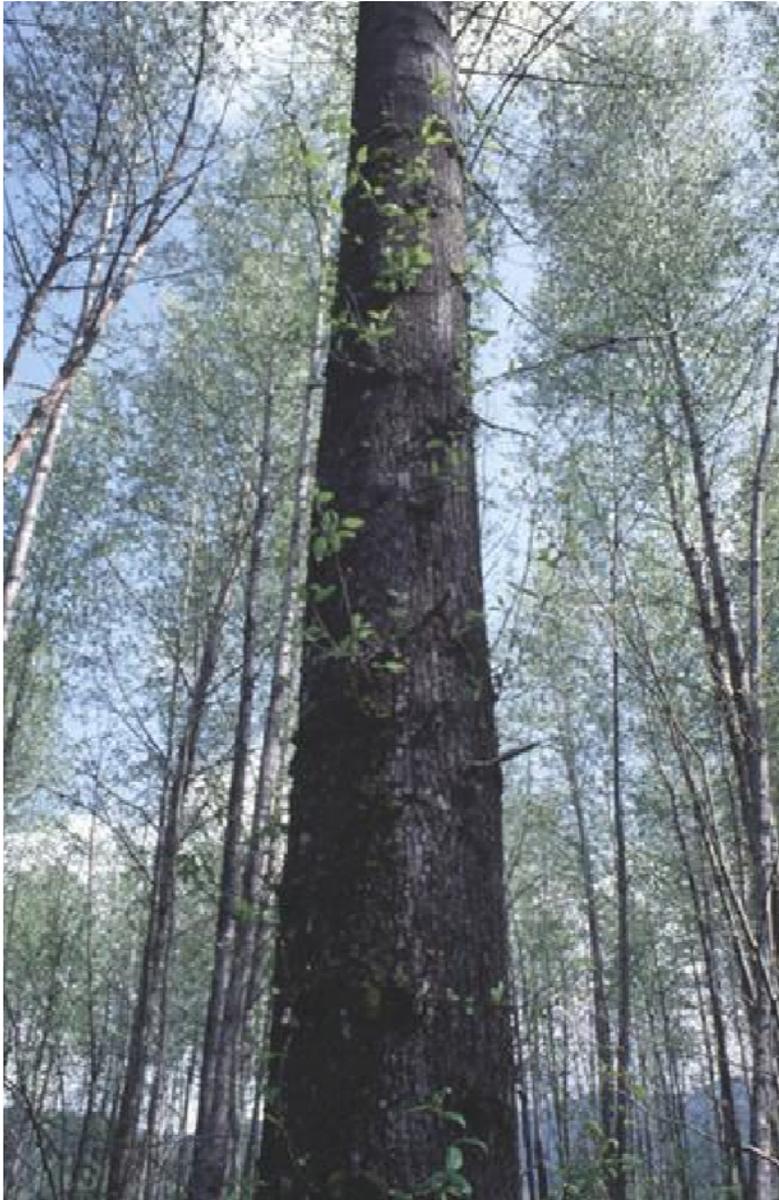
Supporter la masse en constante croissance de l'arbre

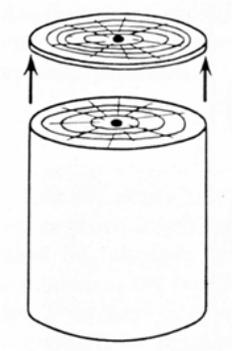
Orienter (ou réorienter) son tronc et ses branches

Stocker des réserves...

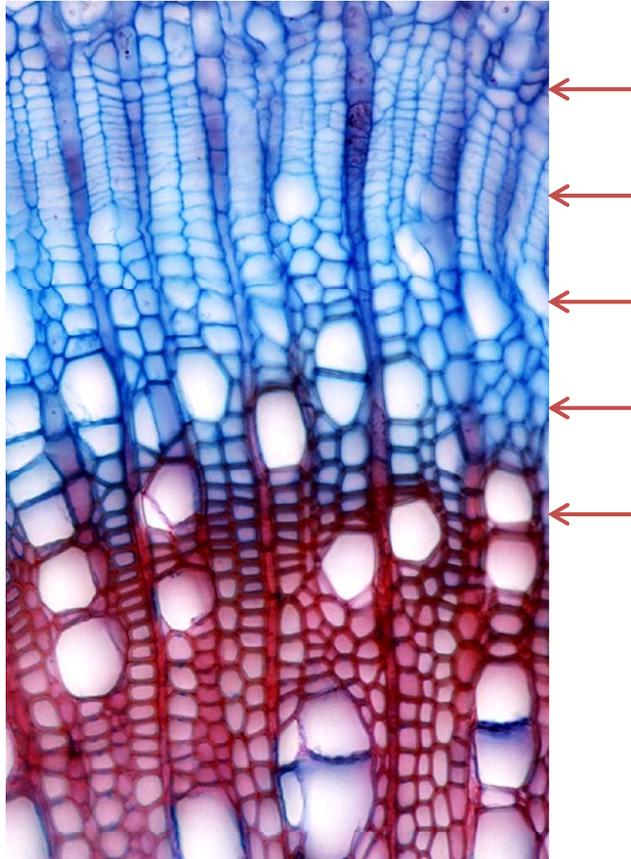


Comment ça marche ?





F. LAURANS, INRA, UAGPF



Différenciation des cellules de bois

Vaisseaux

Division

Fibres

Elongation

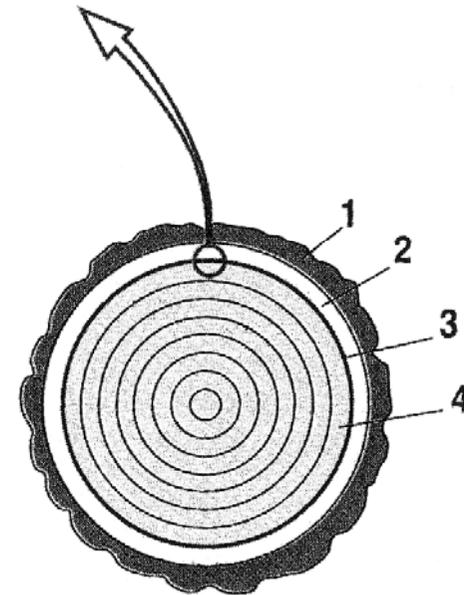
Rayons

Mise en place de la paroi II

Lignification

Mort cellulaire

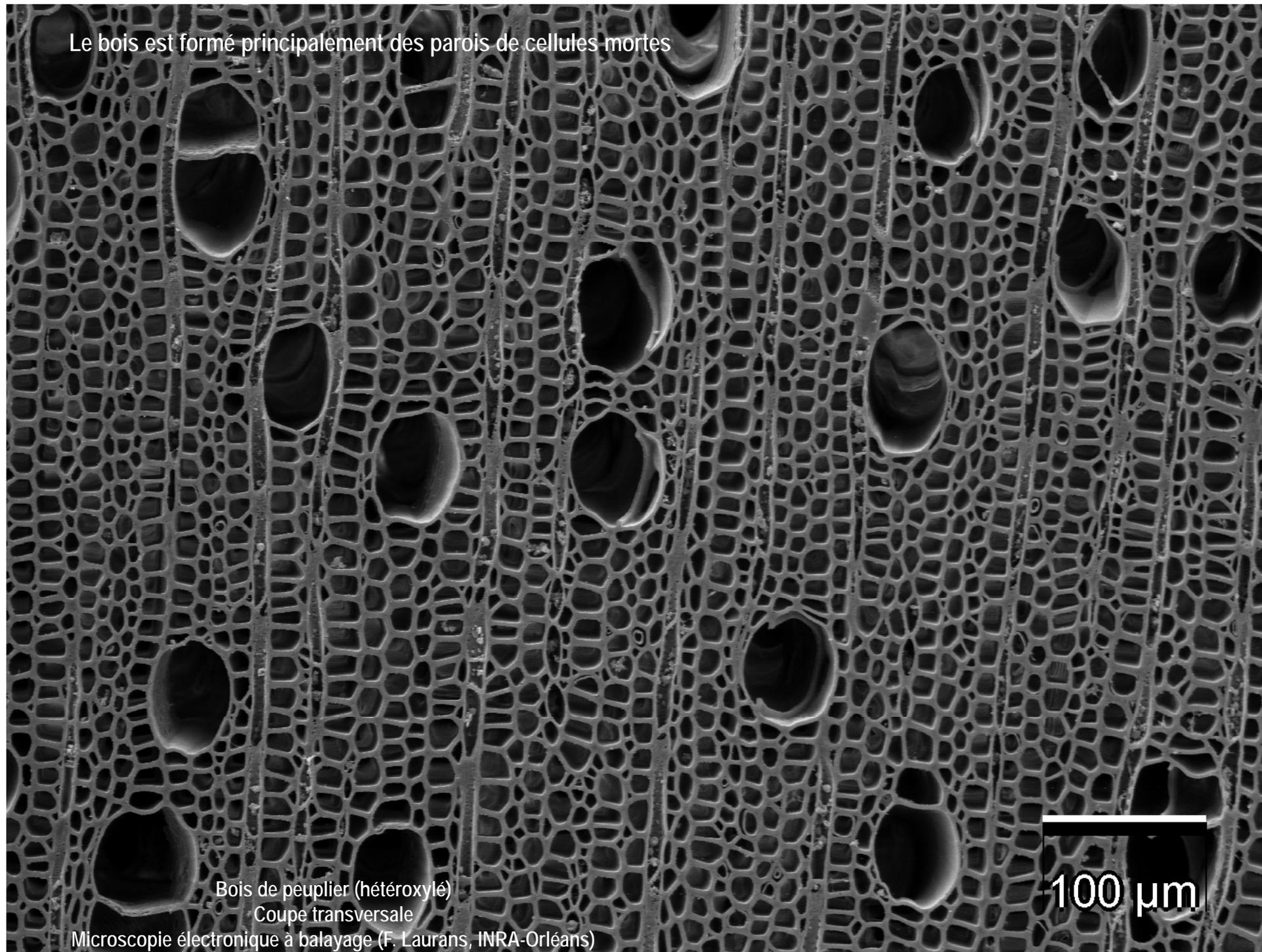
*Coupe transversale de tige de peuplier
coloration safranine / bleu astra*



1 - écorce. 2 - phloème.
3 - cambium. 4 - bois.

C'est pendant cette différenciation que se détermine la plupart des propriétés du bois

Le bois est formé principalement des parois de cellules mortes

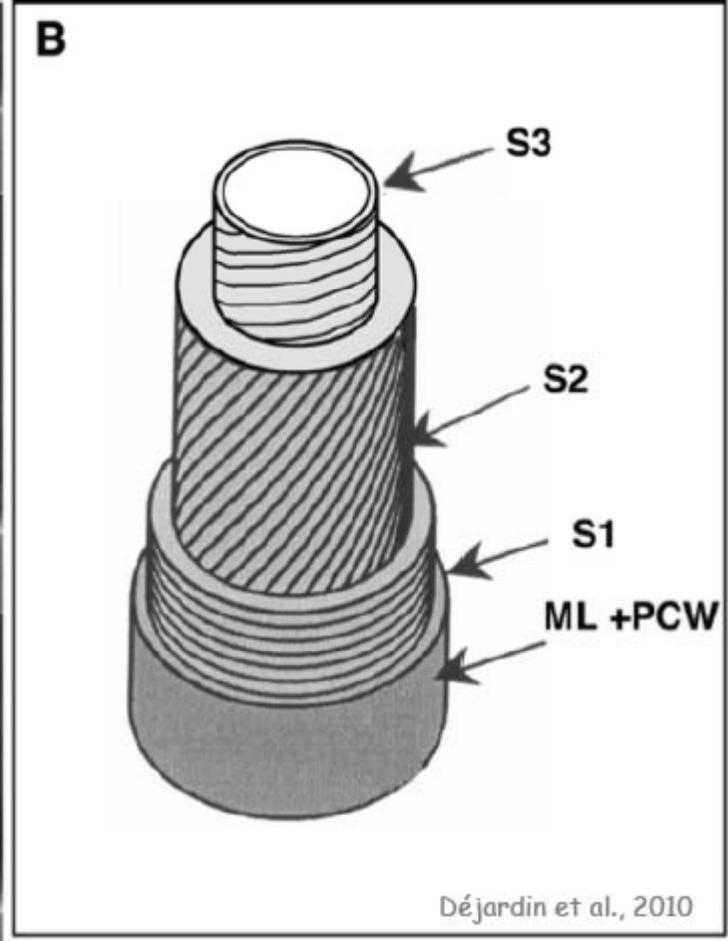
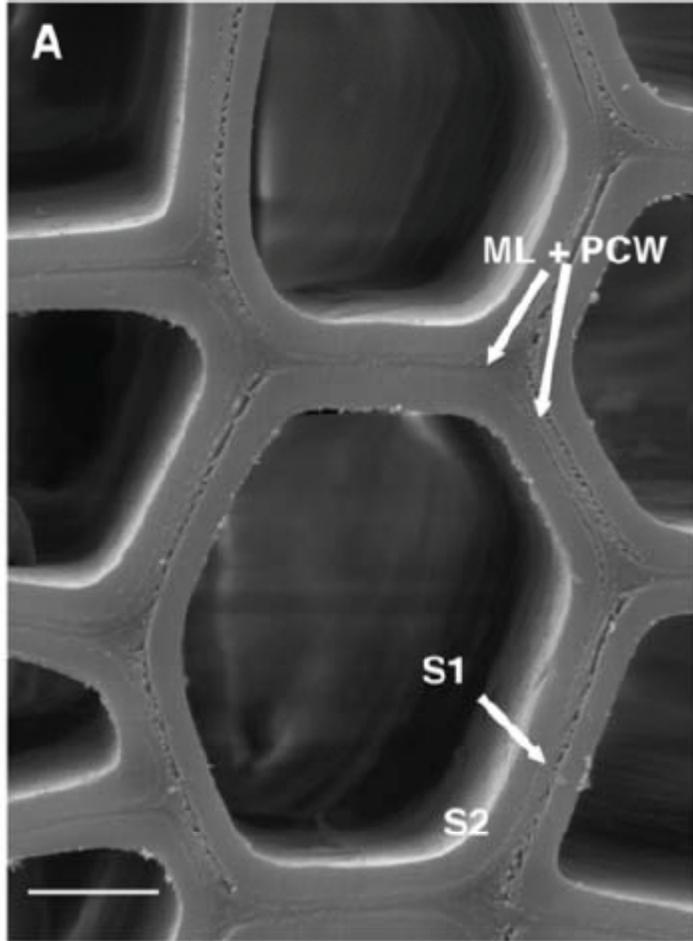


Bois de peuplier (hétéroxylé)
Coupe transversale

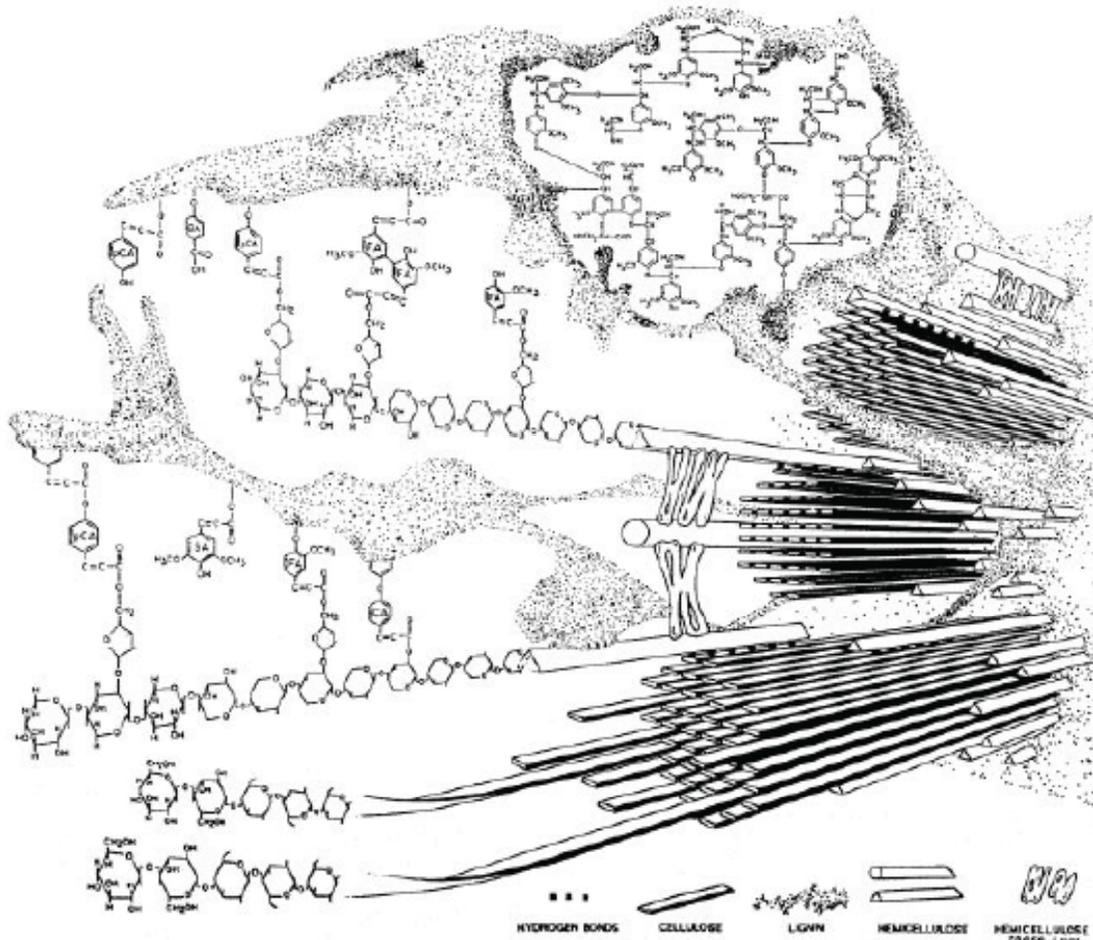
Microscopie électronique à balayage (F. Laurans, INRA-Orléans)

100 μm

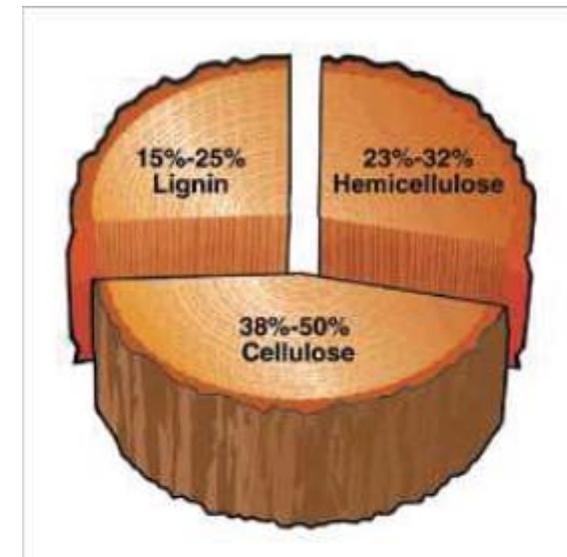
PCW : primary cell wall; ML: middle lamella



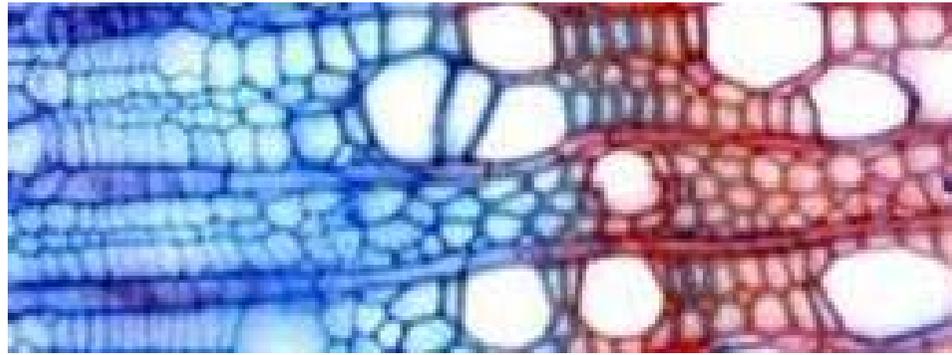
Assemblage des polymères de la paroi au niveau des couches et sous-couches



Bidlack et al., 1992

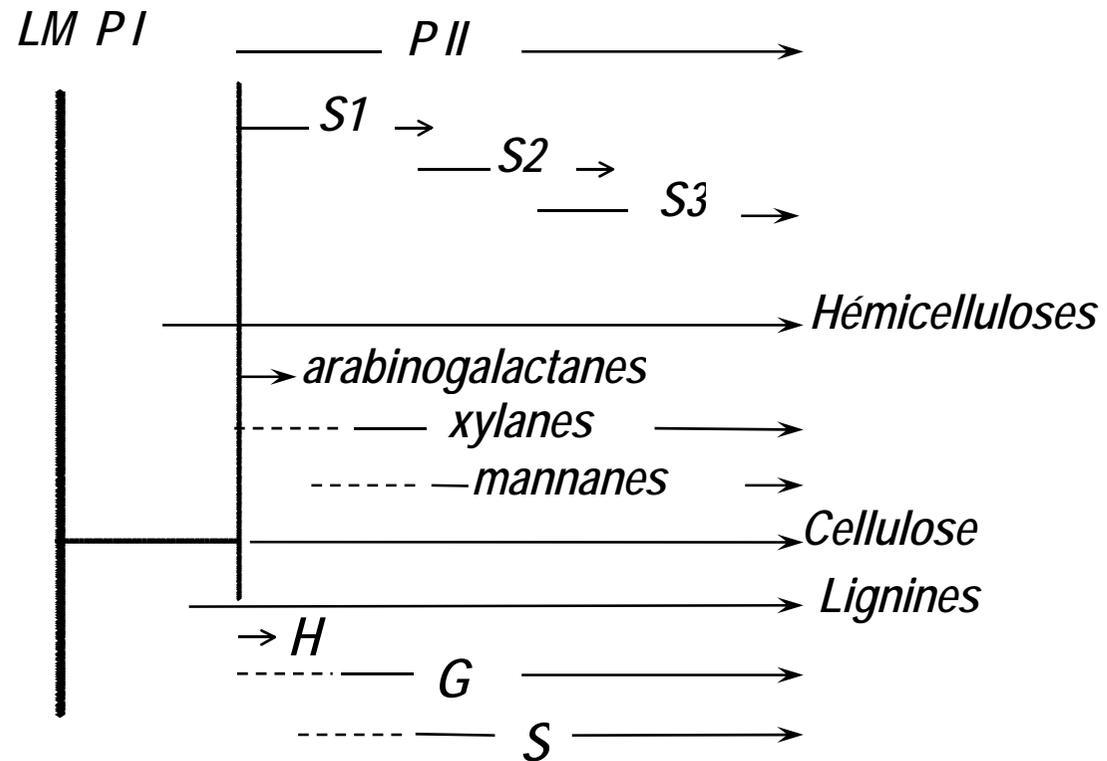


Des microfibrilles de cellulose cimentées dans une matrice de lignines et d'hémicelluloses

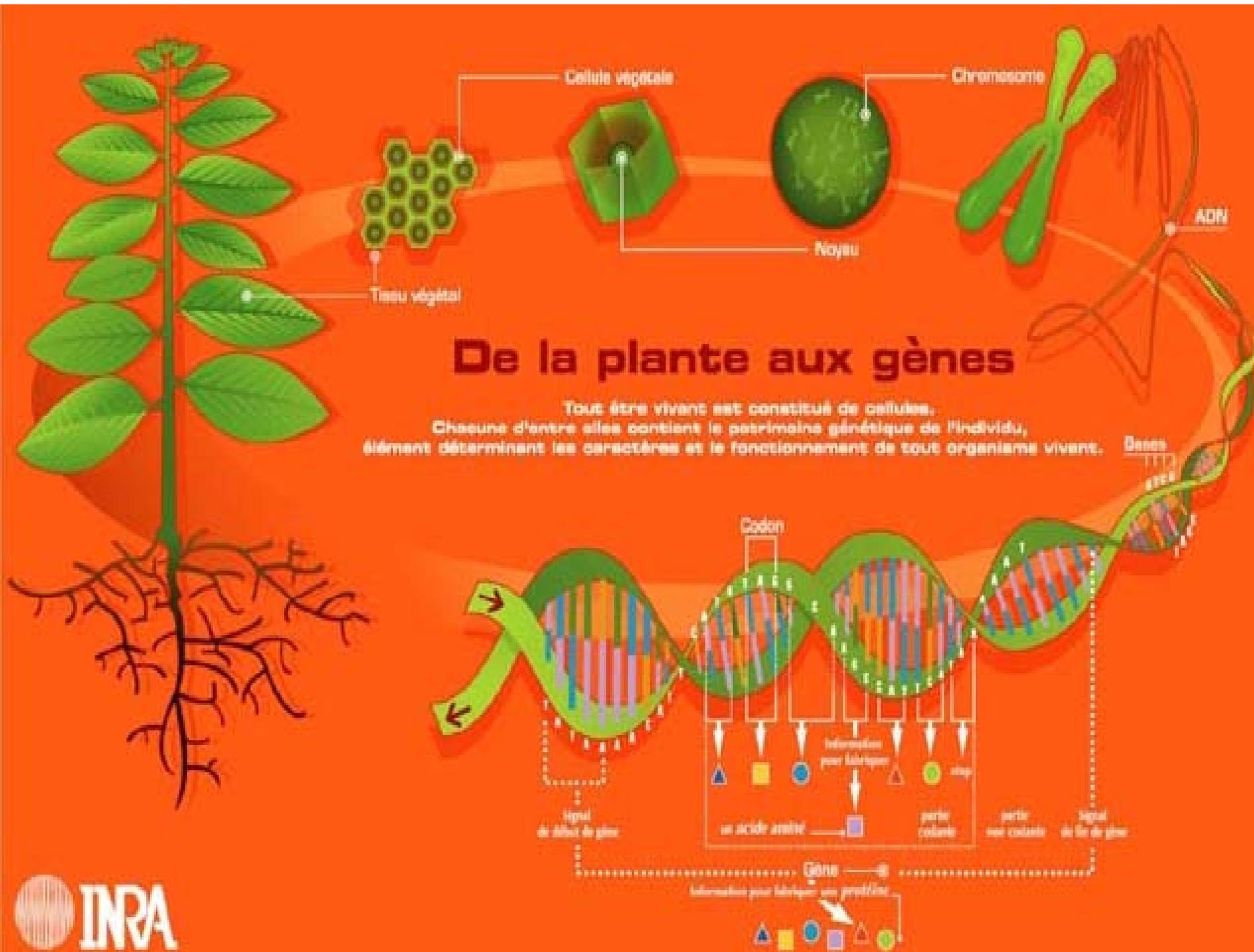


Cambium → *Dépôt des composés pariétaux* → Parois matures

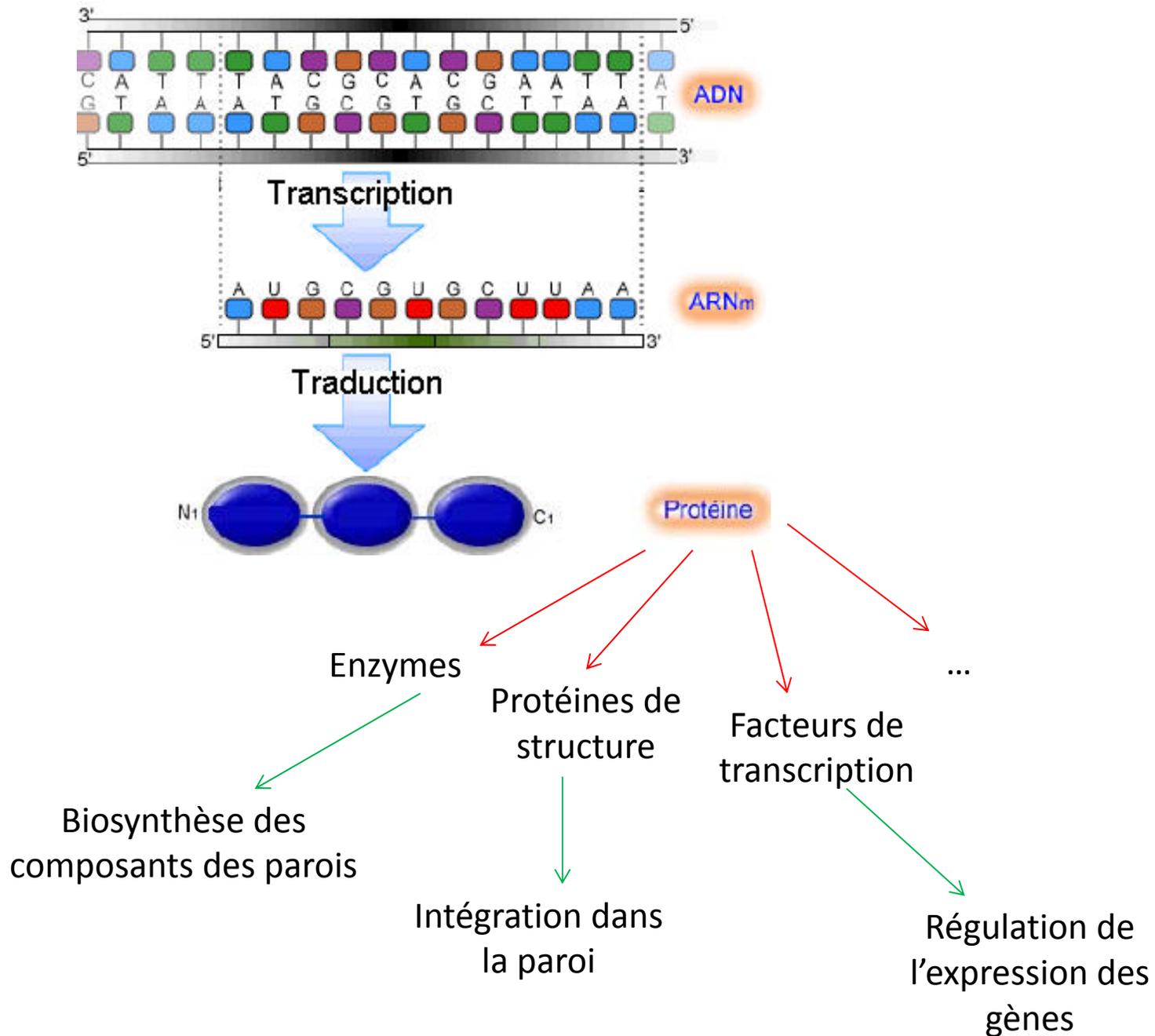
LM : lamelle moyenne, P I : paroi primaire, P II : paroi secondaire, S1, S2, S3 : couches de la paroi secondaire, H: alcool p-Coumarylique, G: alcool coniferylique S: alcool sinapylique, (Terashima et al, 1993)



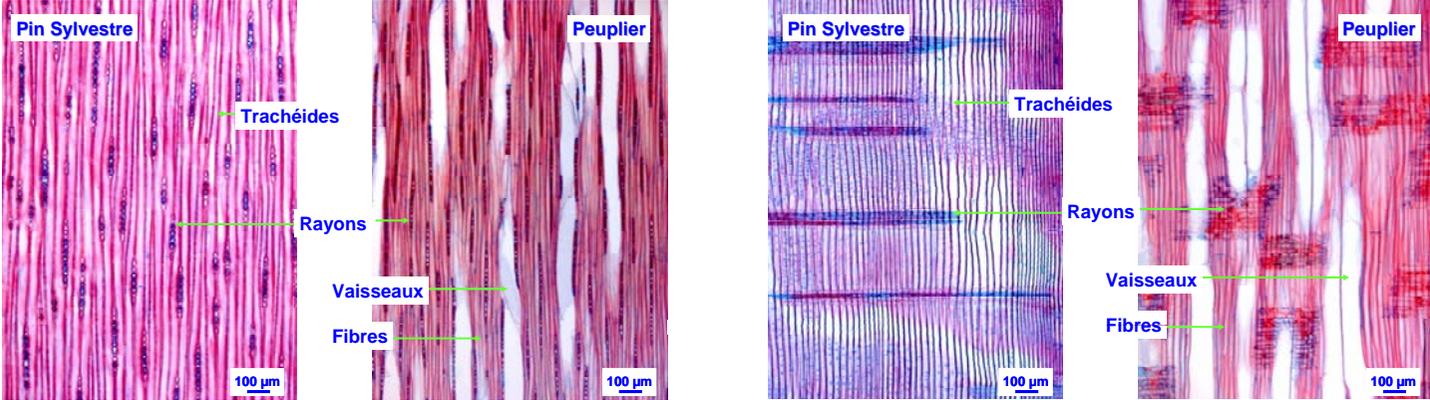
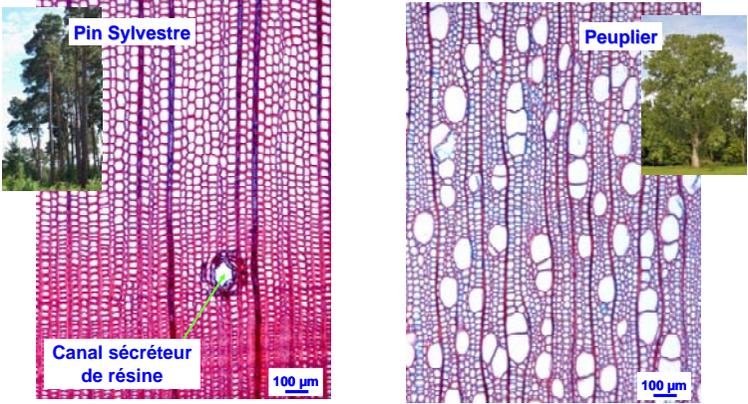
Dynamique de mise en place des polymères pariétaux



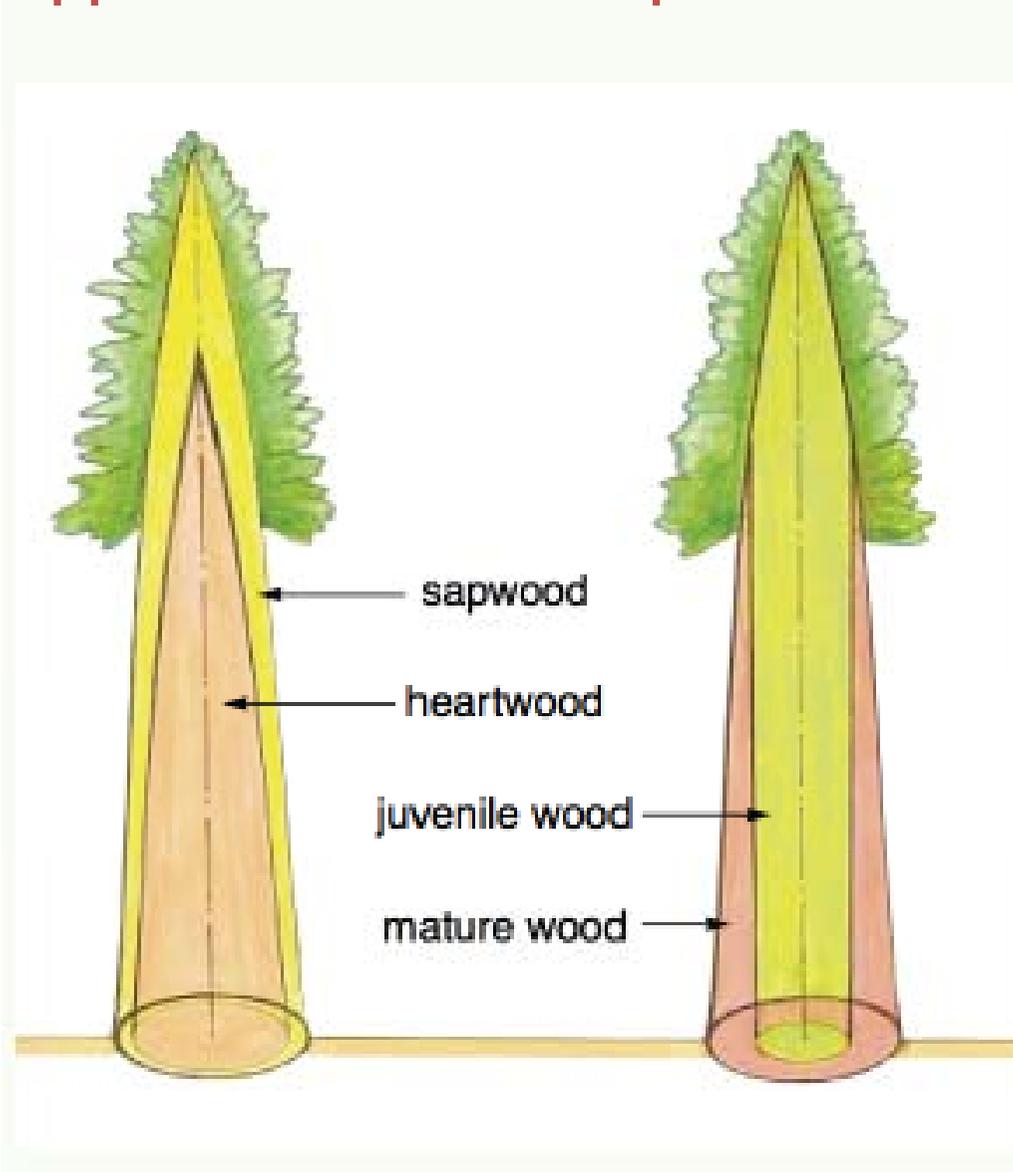
Déterminisme biologique : l'aspect génétique



Le bois est avant tout variable...

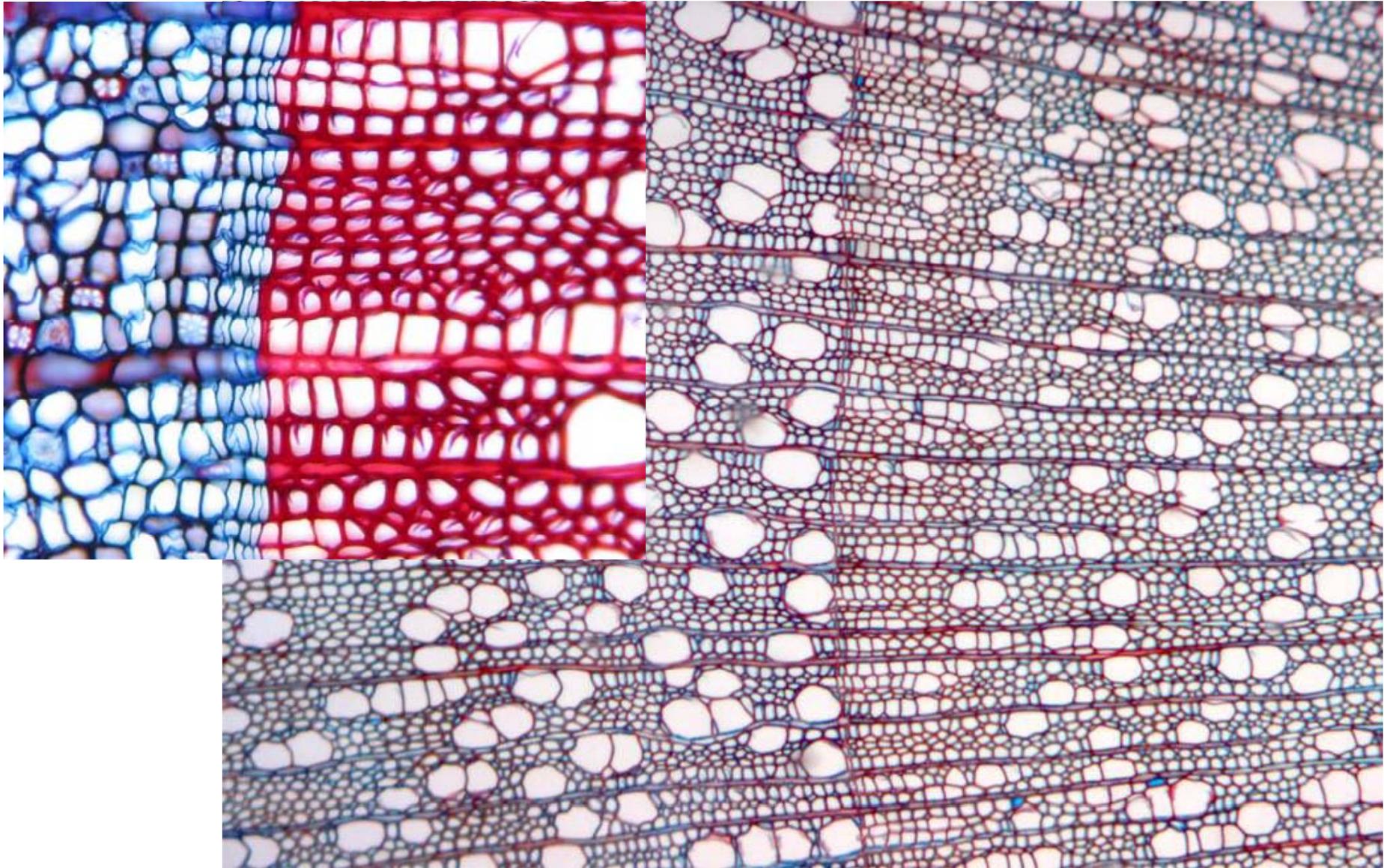


Différents types de bois sont mis en place au cours du développement de l'arbre : plus de variabilité...



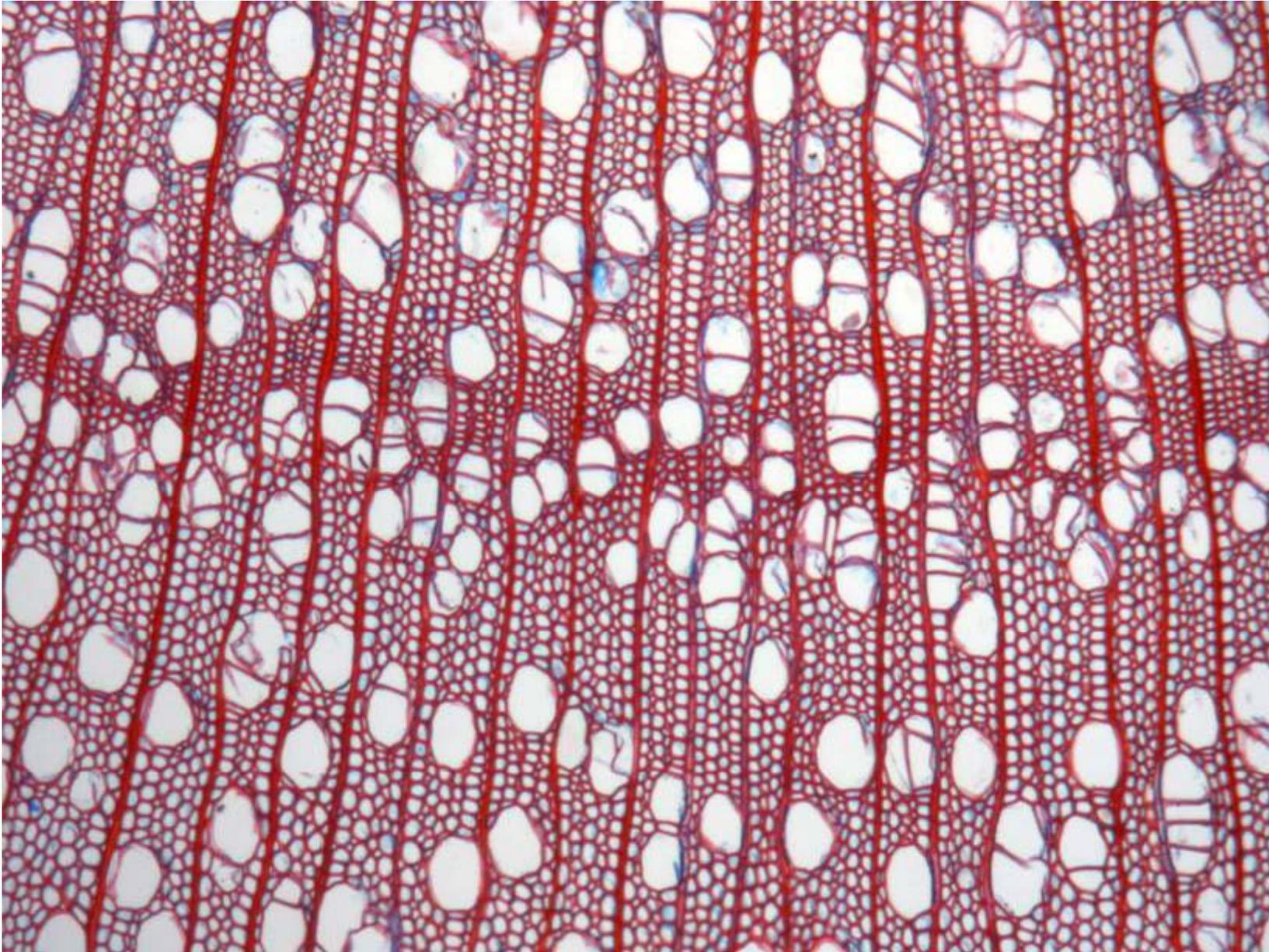
Subir ou s'adapter? : toujours plus de variabilité...

Zone cambiale en hiver



Variations en réponse aux conditions environnementales : bois initial et bois final

Subir ou s'adapter? : toujours plus de variabilité...

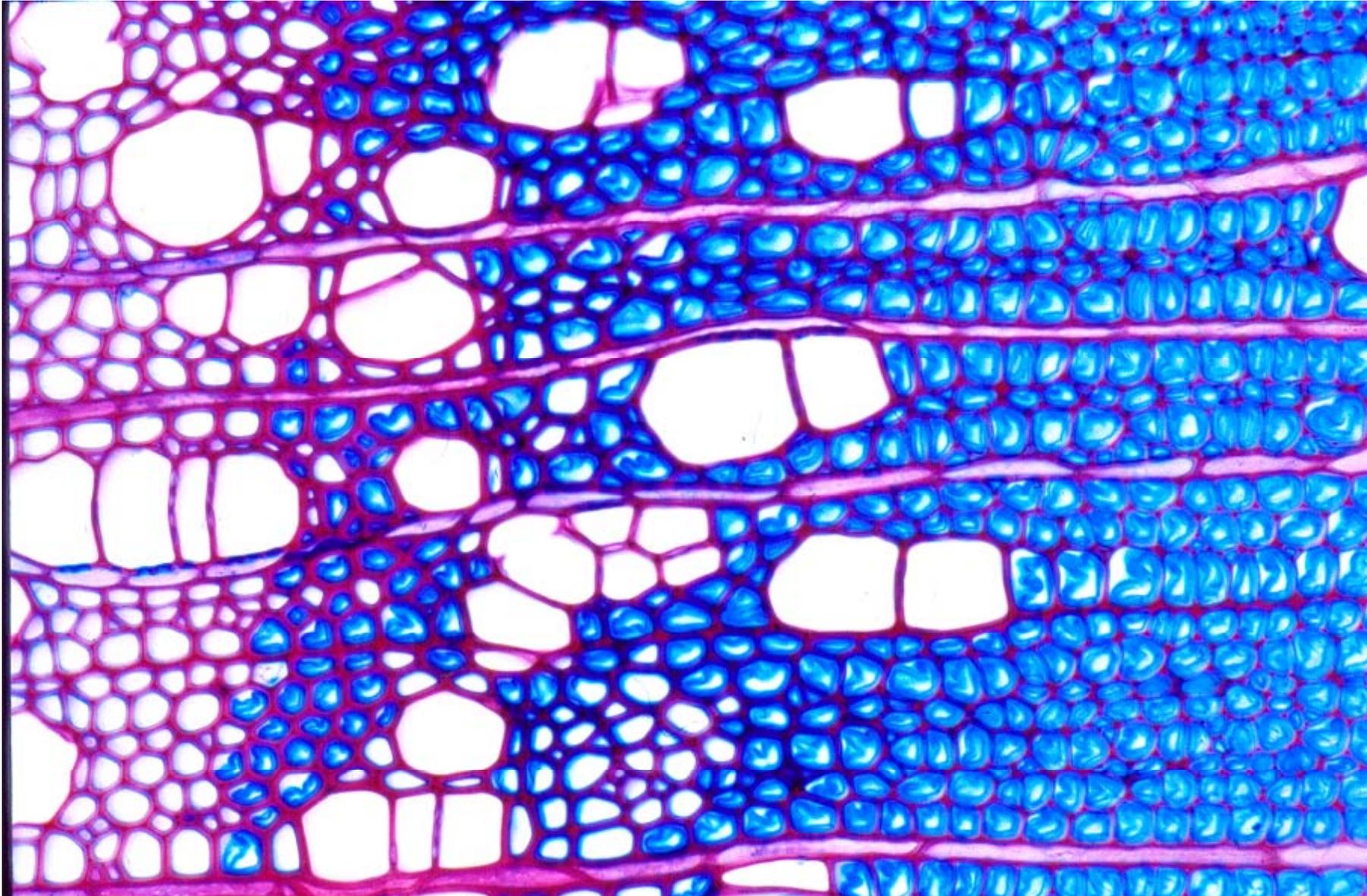


Variations en réponse aux conditions environnementales : effet d'un léger stress hydrique sur la formation du bois Diminution de la surface en fibres, augmentation du nombre de vaisseau et diminution de leur taille

Subir ou s'adapter? : toujours plus de variabilités...

Variations en réponse aux conditions environnementales

Effet d'une inclinaison de la tige sur la formation du bois chez un feuillu : bois de tension



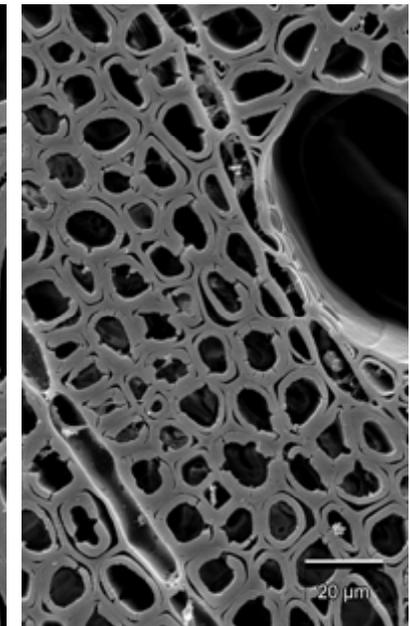
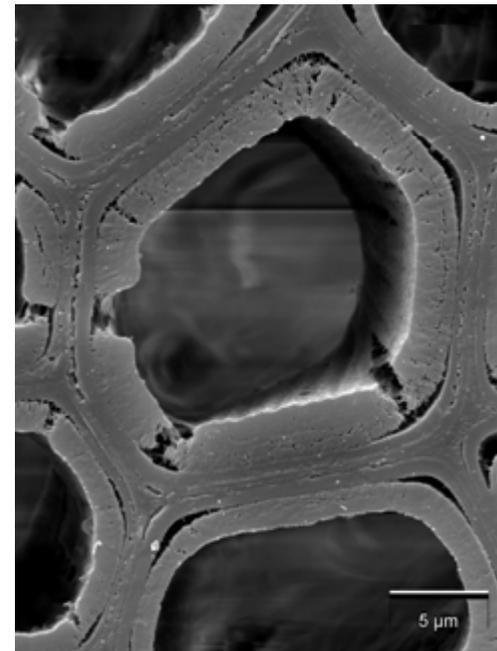
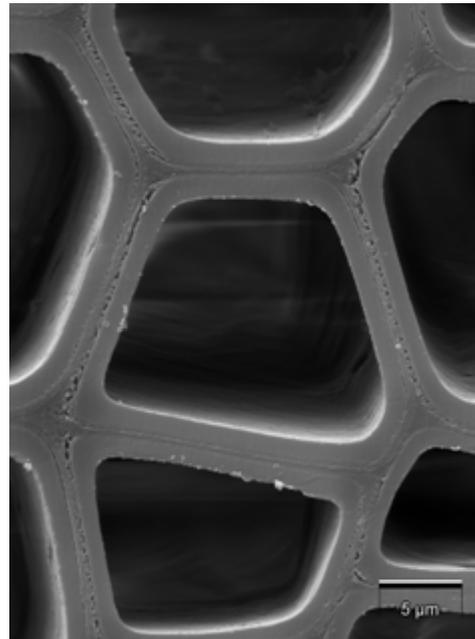
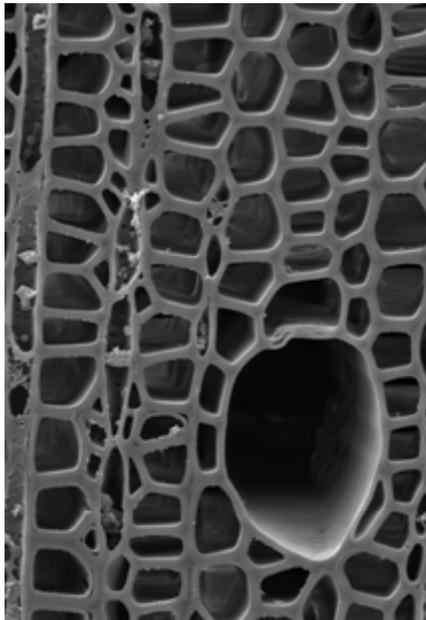


Bois normal



Bois de tension

Fibres plus longues à parois épaisses
Plus de cellulose, moins de lignines
Présence d'une couche G



Photos Françoise Laurans

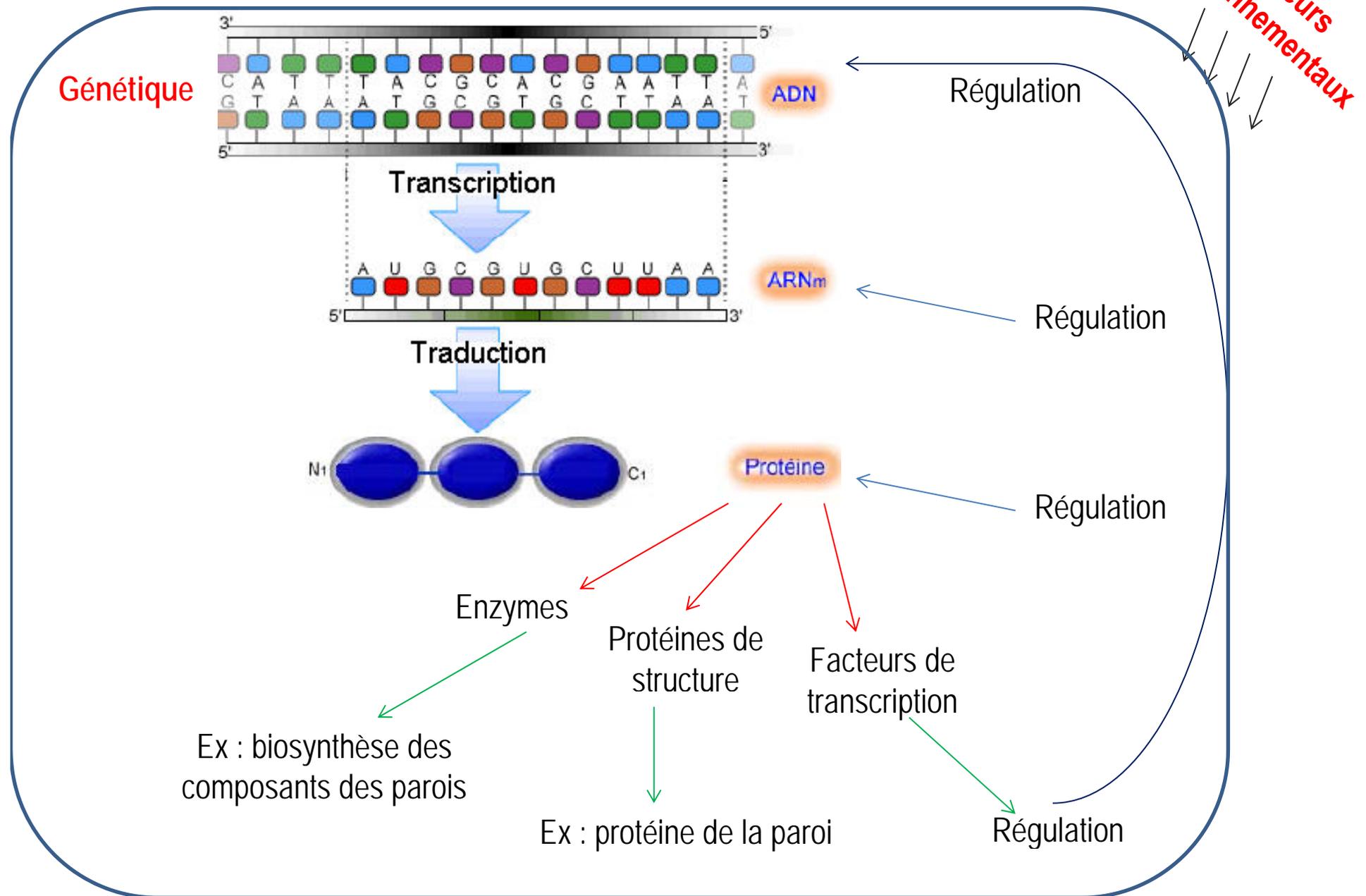
Effet souvent néfaste de
la présence du bois de
tension ...



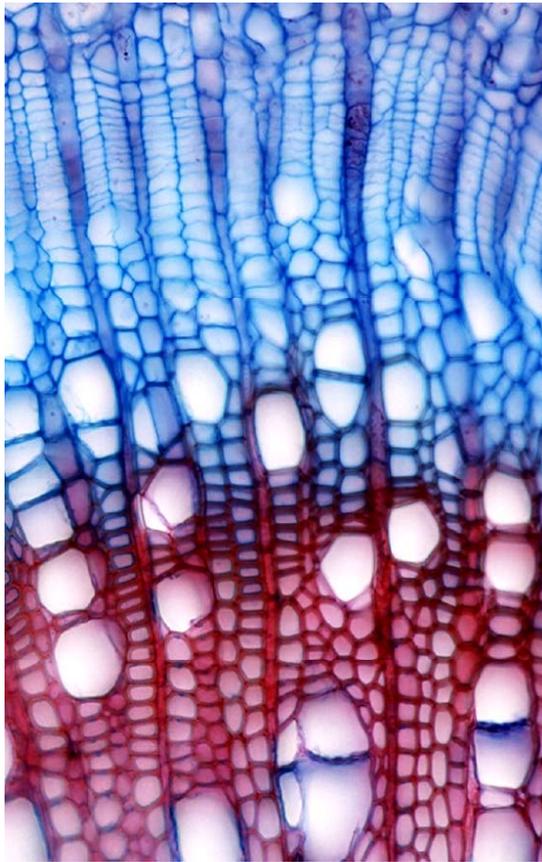
E. Paillassa ,1999



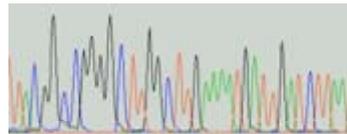
Déterminisme biologique : interactions Génétique X Environnement



Etudes moléculaires Sur le déterminisme des propriétés du bois

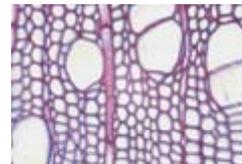
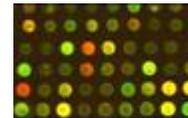


Génomique fonctionnelle de la formation du bois



Identification

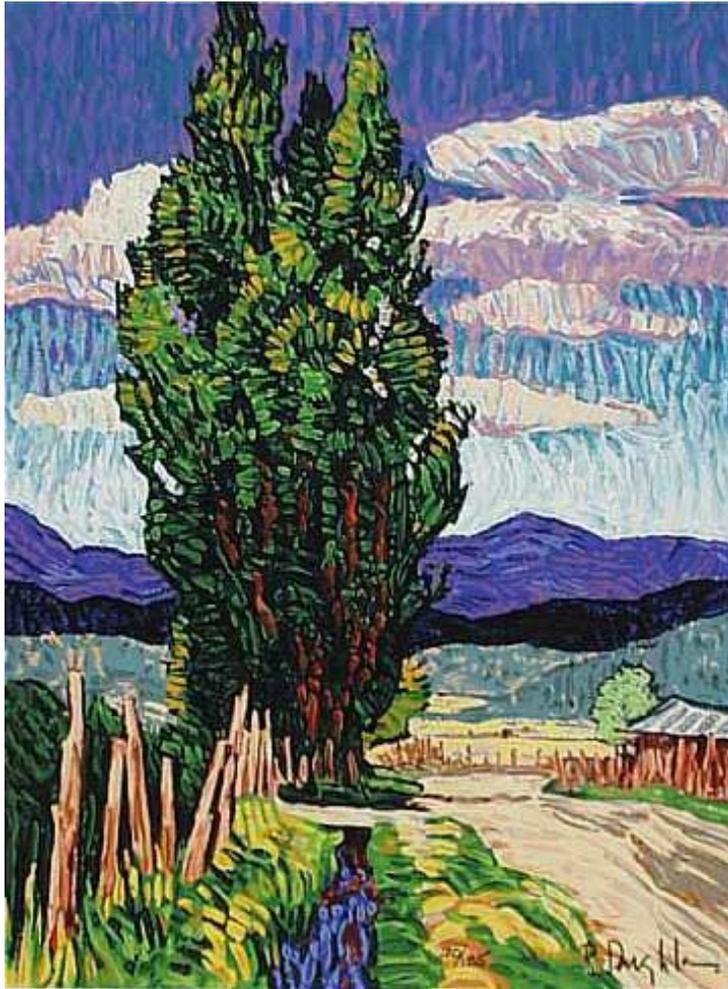
Expression



Localisation



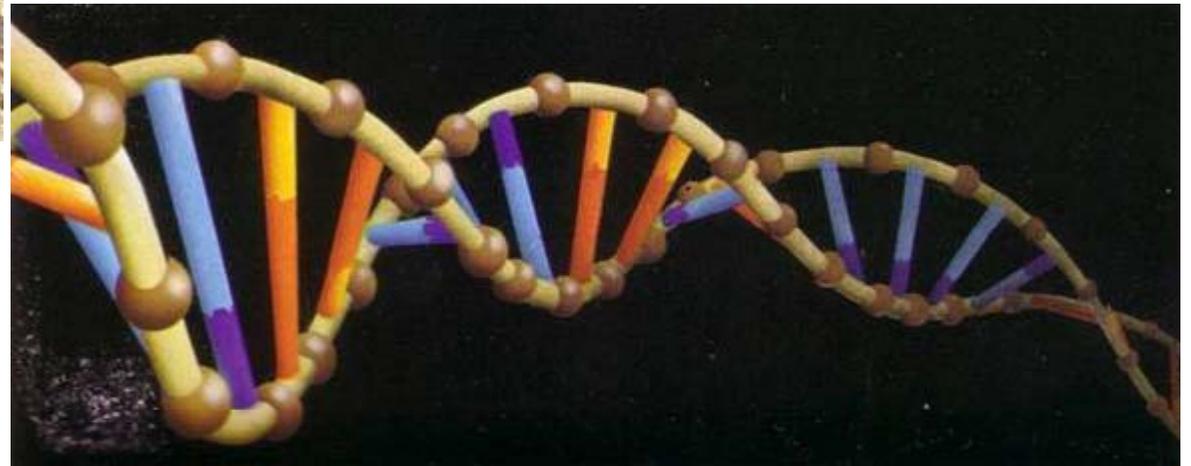
Fonction (peupliers GM)



Peuplier

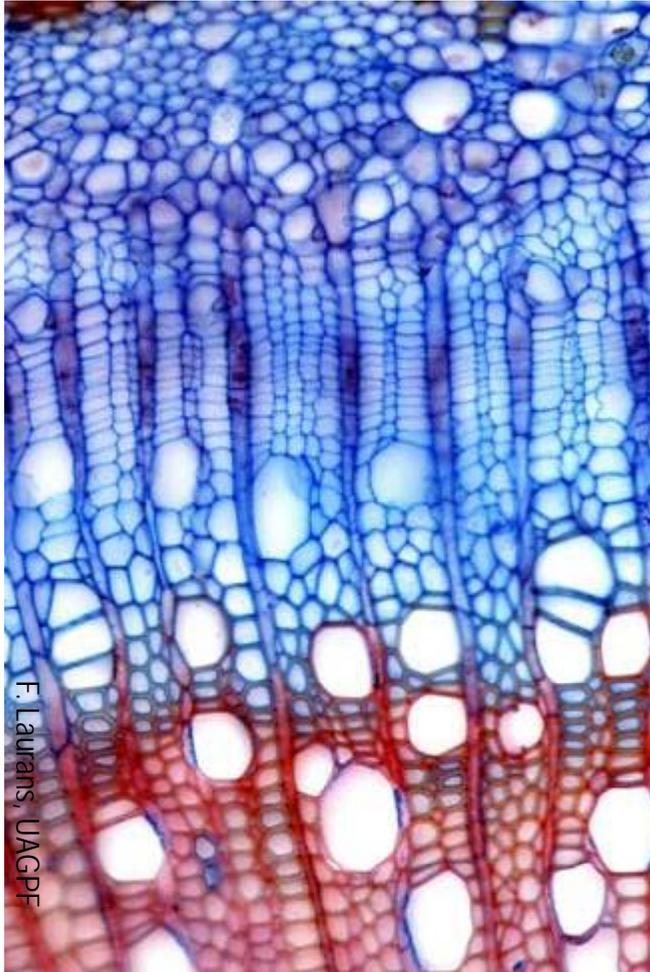
Tuskan et al., 2006 : publication de la séquence du génome (International Populus Genomic Consortium)

Plus de 40 000 gènes potentiels

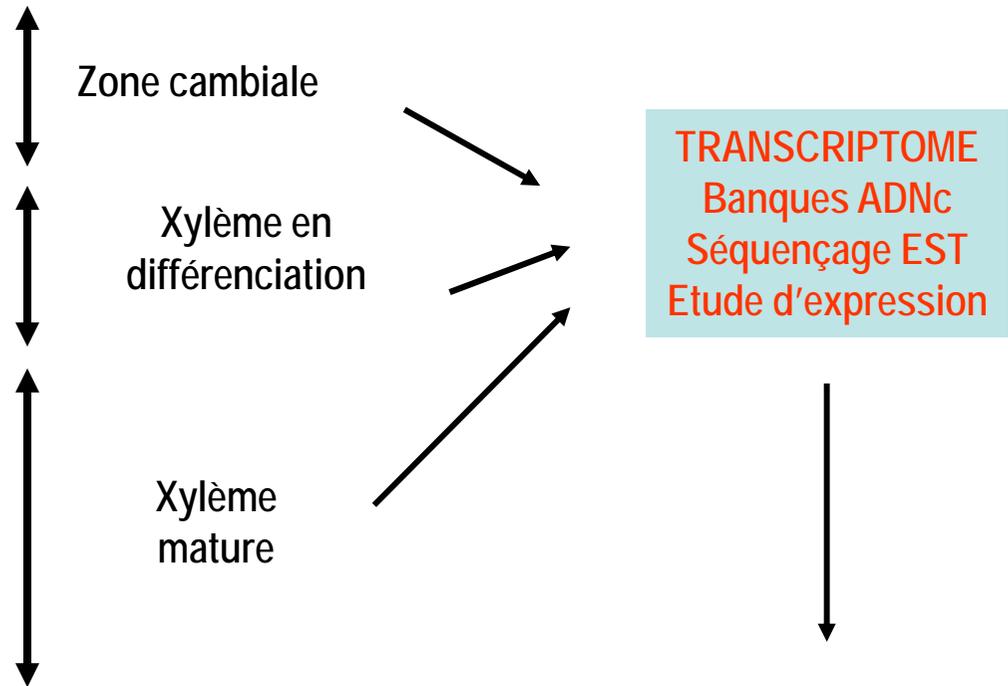


Identification des gènes qui font le bois ?

Approche génomique de la formation du bois

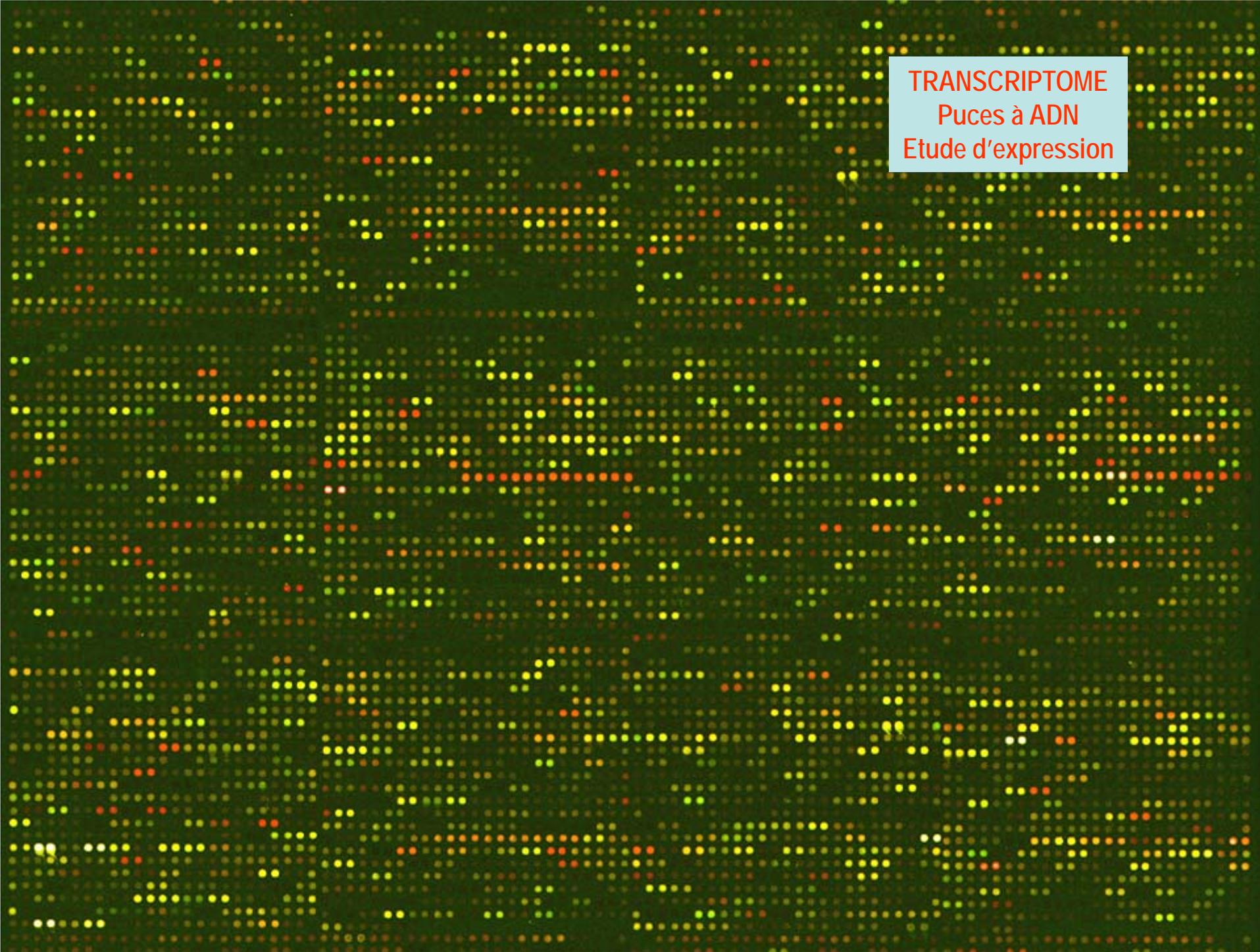


CT tige de Peuplier



Catalogue de gènes exprimés

Quelle(s) fonction(s)?

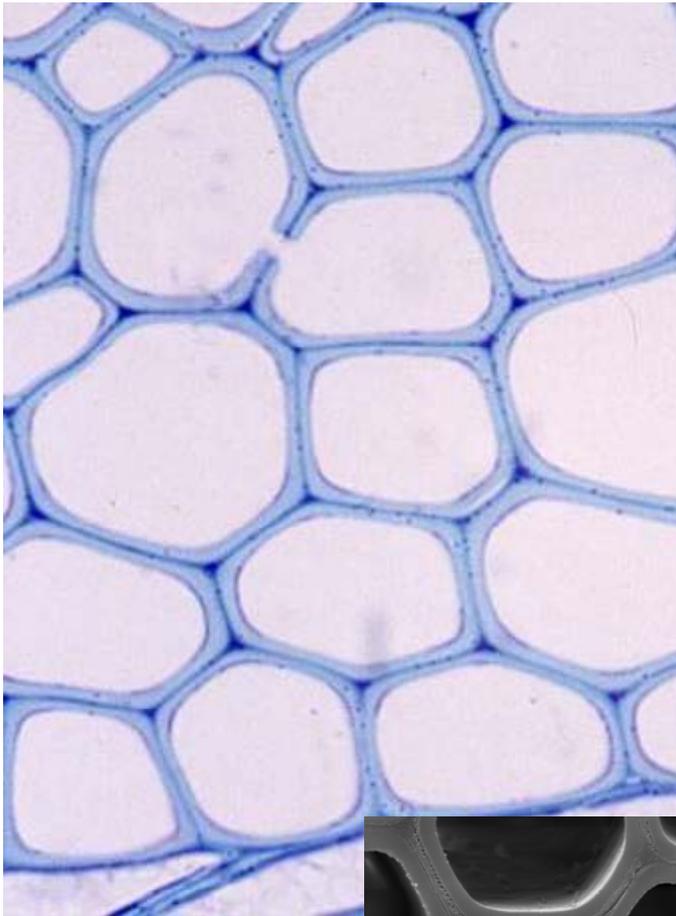


TRANSCRIPTOME
Puces à ADN
Etude d'expression

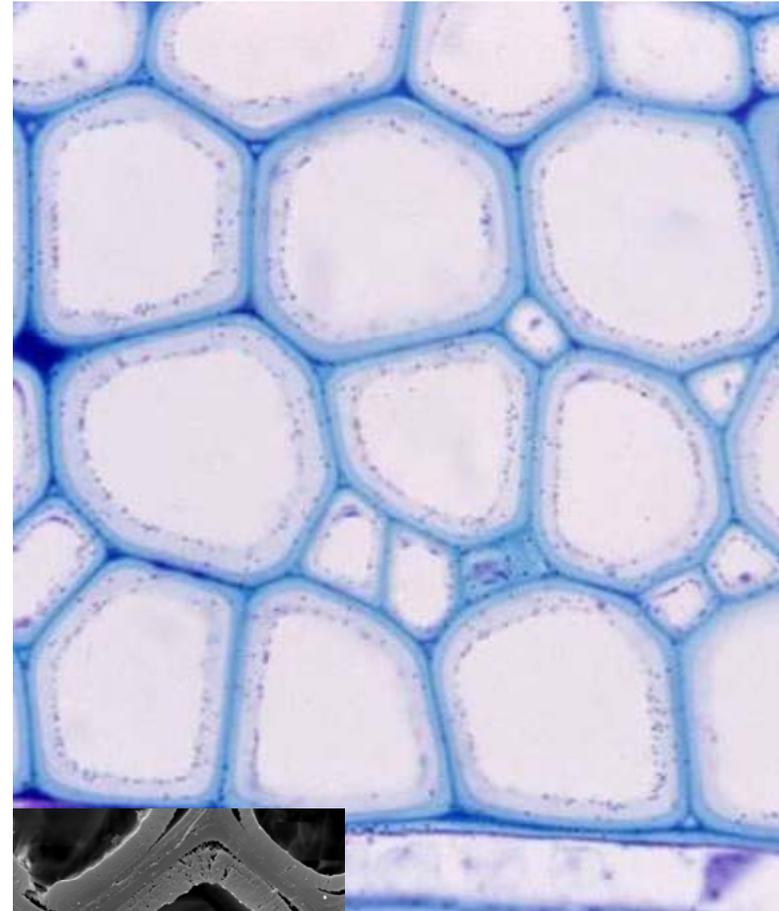
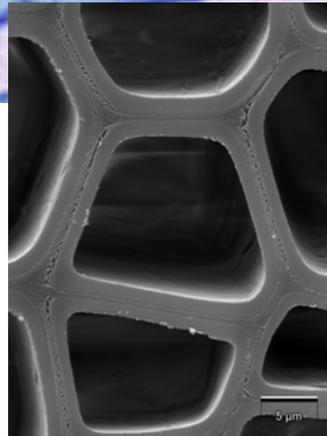
Les 20 gènes les plus exprimés dans le bois de tension

| Gène ID | Bois de tension | Bois opposé |
|--|-----------------|--------------|
| PopFLA3 | 226759 | 119 |
| PopFLA2 | 224100 | 102 |
| PopFLA5 | 205983 | 217 |
| PopFLA6 | 202317 | 82 |
| PopFLA8 | 191812 | 242 |
| PopFLA4 | 189767 | 188 |
| RabGAP/TBC domain-containing protein | 149843 | 246 |
| PopFLA7 | 131052 | 128 |
| PopFLA1 | 112057 | 250 |
| PopFLA7 | 105504 | 307 |
| Uroporphyrinogen decarboxylase | 102972 | 234 |
| PopFLA10-2 | 77063 | 305 |
| Unknown (extensin related protein) | 62878 | 300 |
| PopFLA9 | 62485 | 85 |
| <i>Sucrose synthase</i> | 48298 | 38106 |
| No hit | 47621 | 17123 |
| No hit | 46903 | 4459 |
| No hit | 43686 | 4403 |
| Vacuolar-type inorganic pyrophosphatase | 42039 | 7991 |
| <i>Tubulin alpha chain</i> | 41161 | 32457 |

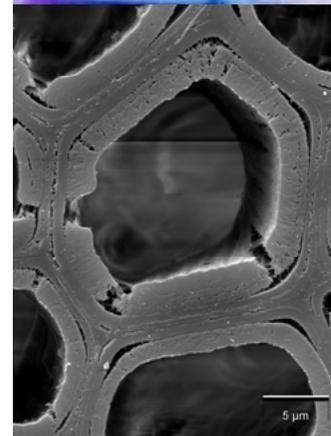
Lafarguette et al., New Phytologist, 2004



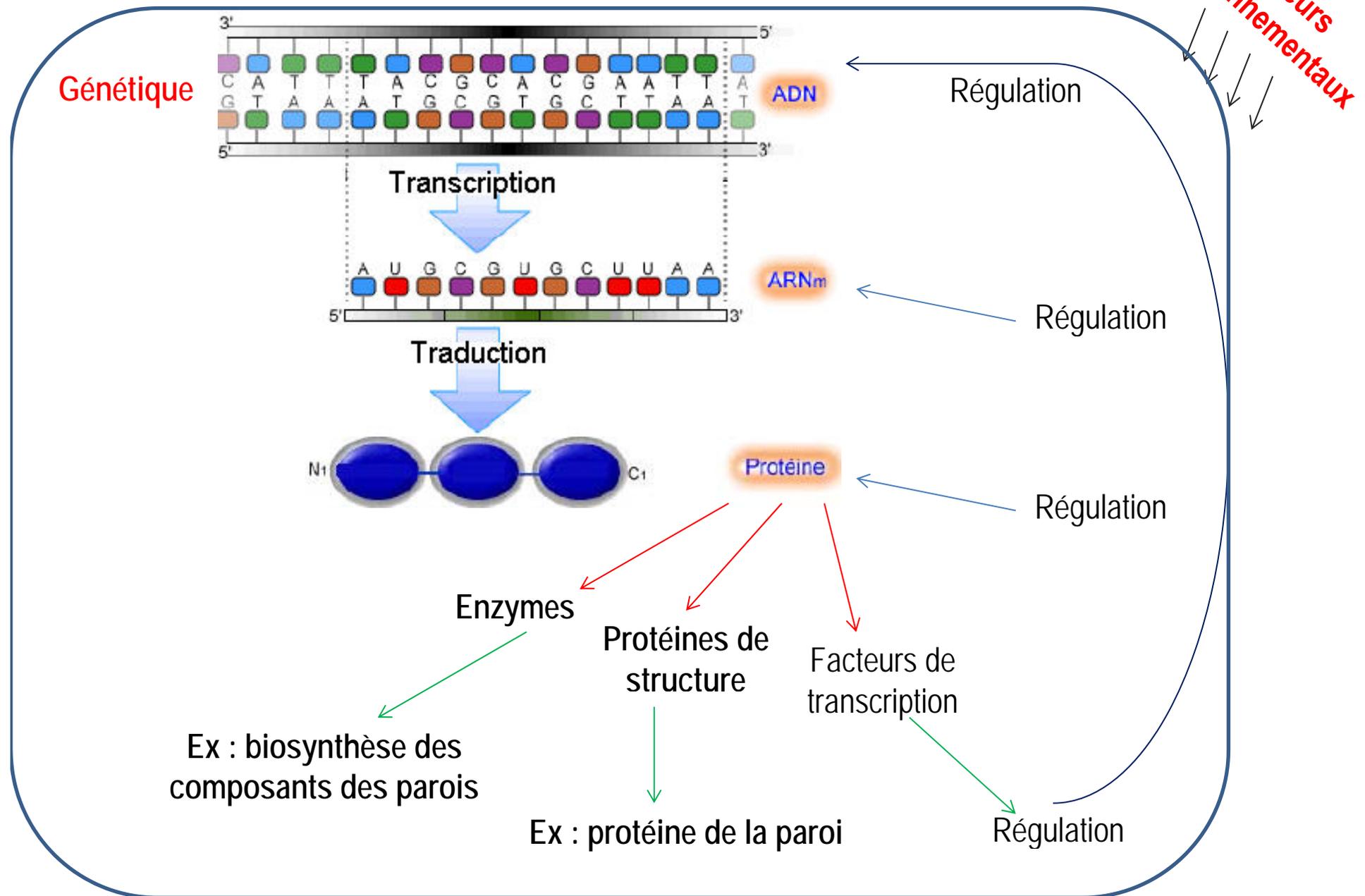
Bois normal



Bois de tension



Déterminisme biologique : interactions Génétique X Environnement

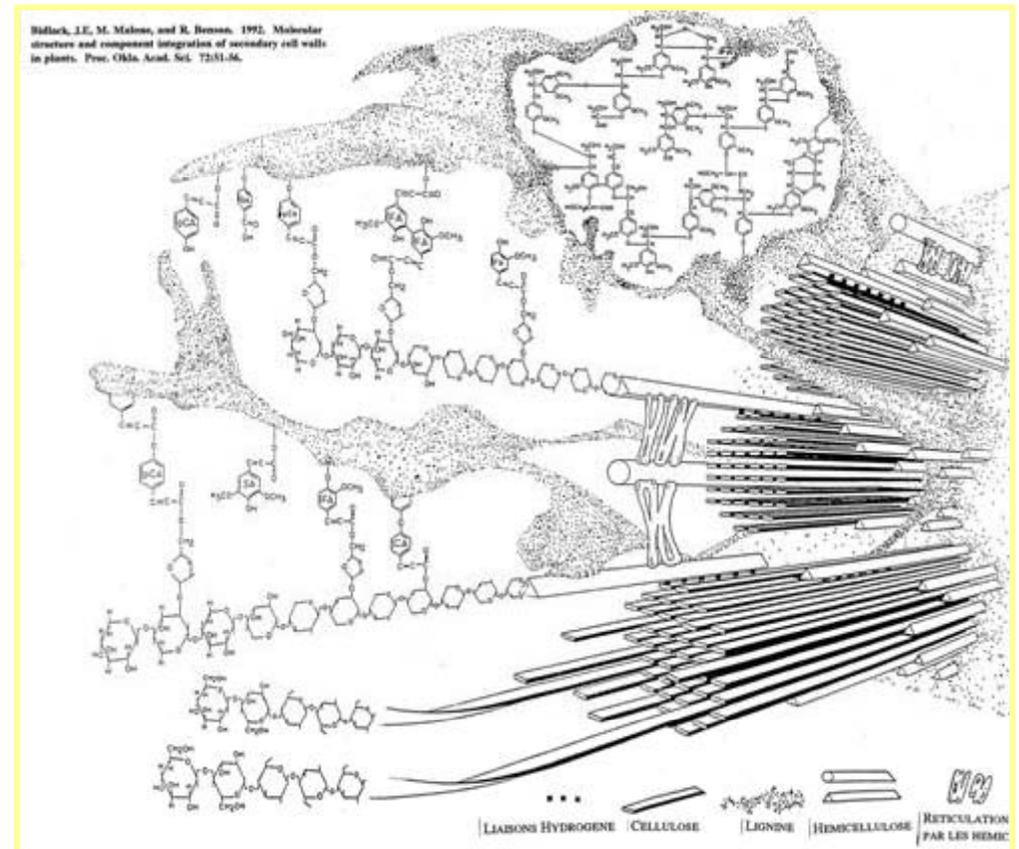


Etude de la fonction des gènes

Production de peupliers à lignines modifiées

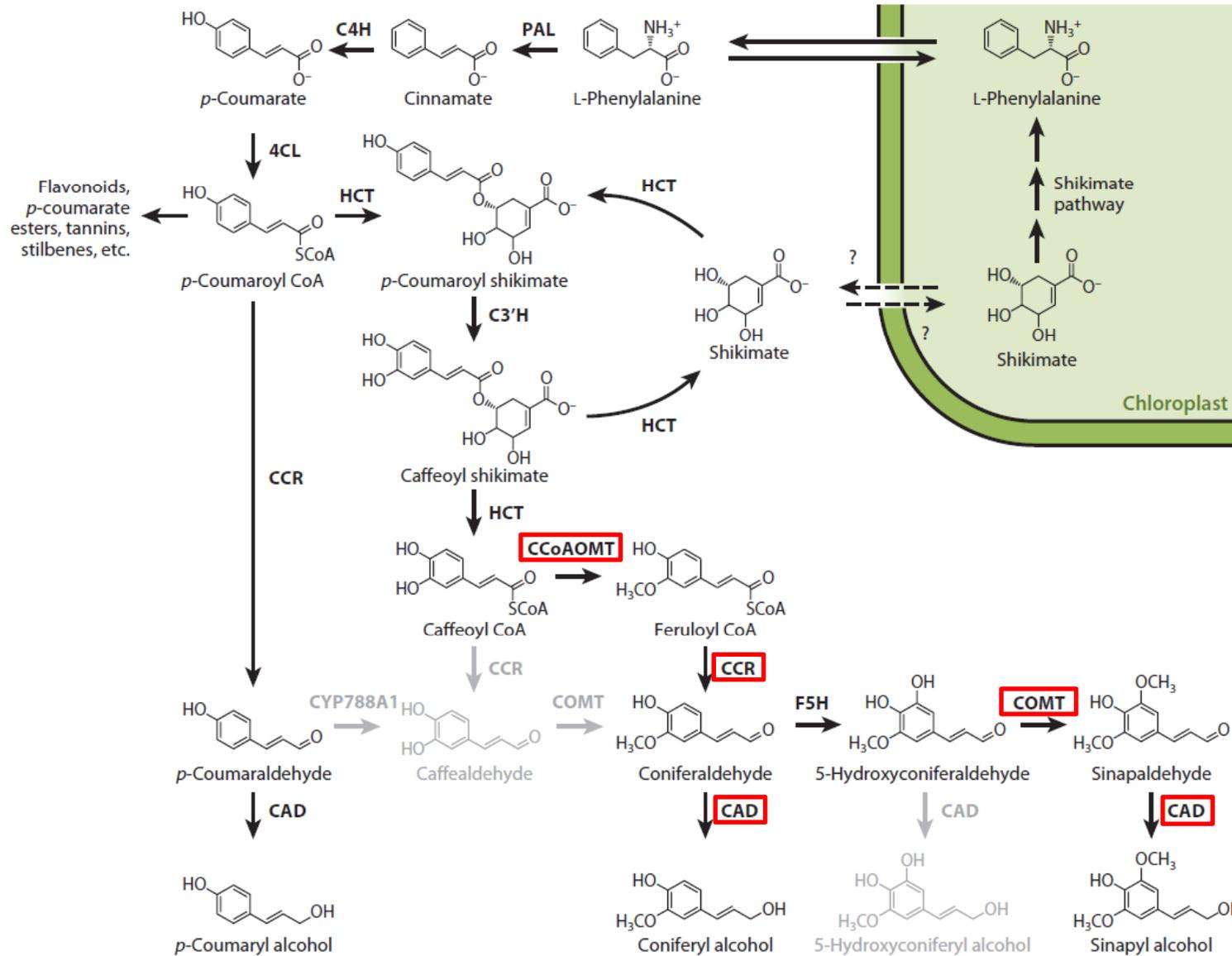
Les parois des cellules de bois sont principalement composées de microfibrilles de cellulose cimentées ensemble dans une matrice d'hémicelluloses et de lignines

La modification des composants de la paroi entraîne des changements dans son organisation et en conséquence dans les propriétés du bois



Lignification : de la biosynthèse...

... aux propriétés du bois



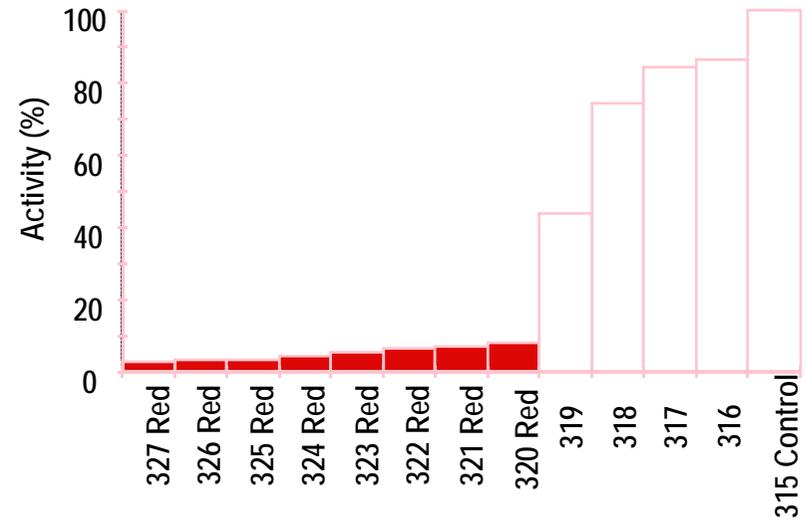
from Bonawitz & Chapple, 2011

The monolignol biosynthesis pathway
Lignin metabolism:

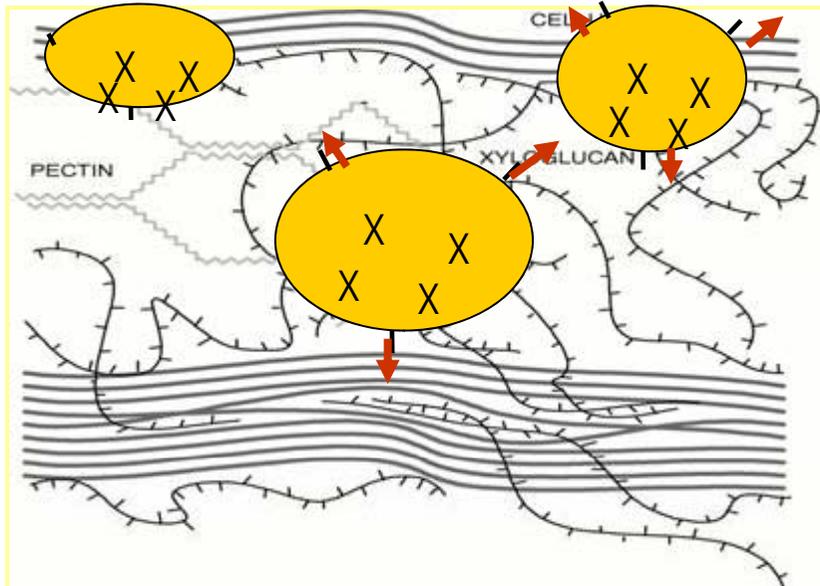
Tous les gènes de la biosynthèse des lignines ont été identifiés
Des plantes transgéniques modifiées pour chacun de ces gènes ont été produites

Peupliers à lignines modifiés

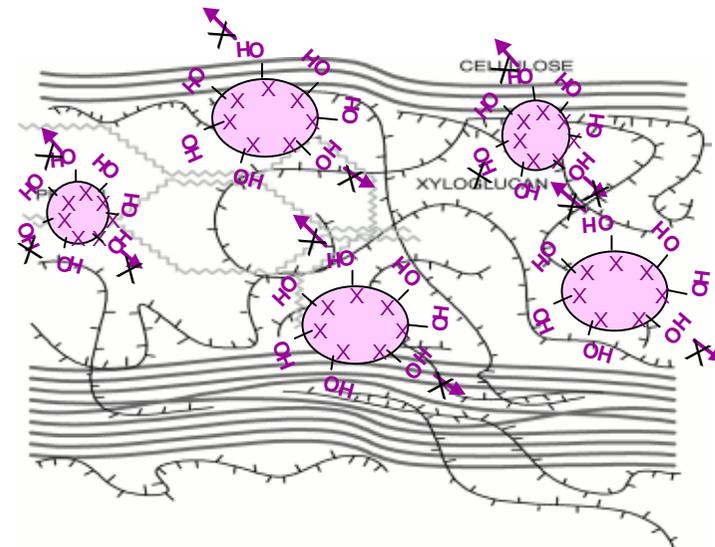
Hypothèse pour expliquer l'effet de l'extinction de l'enzyme CAD



Peuplier témoin



Peuplier GM à faible activité CAD



Performances en champ des peupliers transgéniques à lignines modifiées

Objectifs :

- Evaluer les performances agronomiques de peupliers transgéniques à lignines modifiées pendant plusieurs années
- Evaluer la stabilité des modifications des lignines conférées par le transgène au cours du développement de l'arbre en conditions naturelles
- Produire assez de bois pour évaluer ses performances technologiques

Ardon (France)



Bracknell (UK)

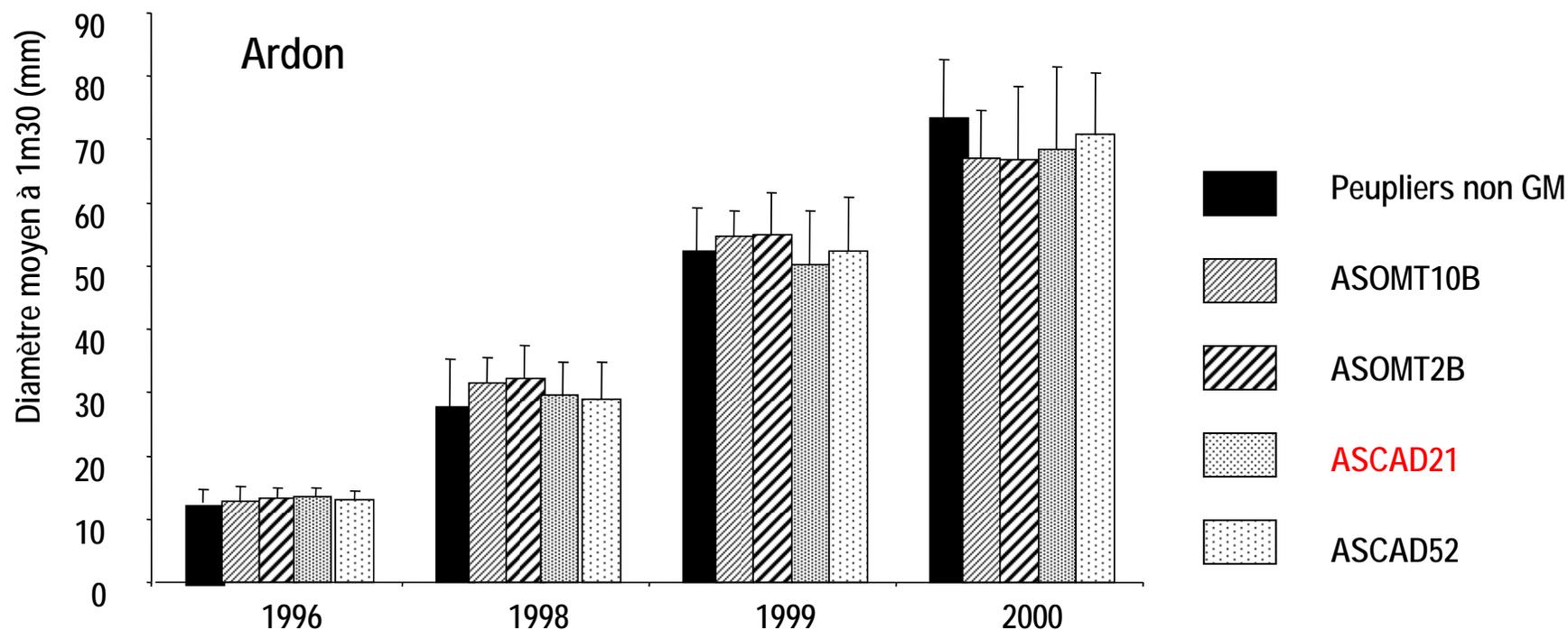


Pilate et al., Nature Biotech., 2002, 20, 607-612/

Plantation après autorisation de la
Commission du Génie Biomoléculaire

EU FAIR-TIMBER

Performances des peupliers transgéniques à lignines modifiées

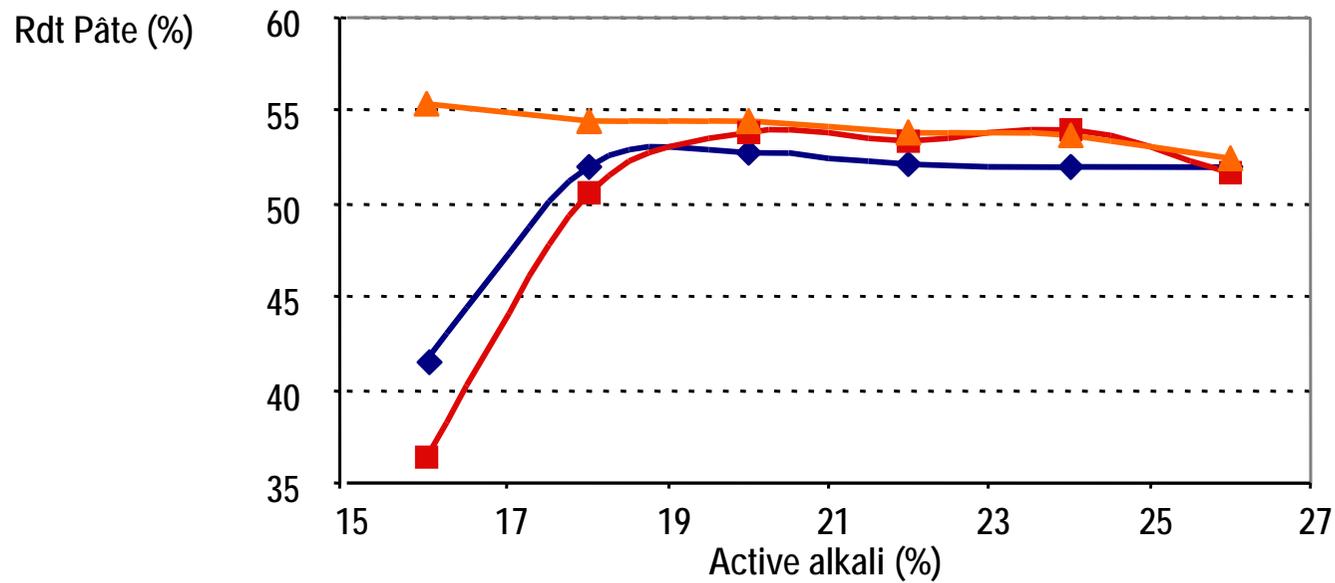
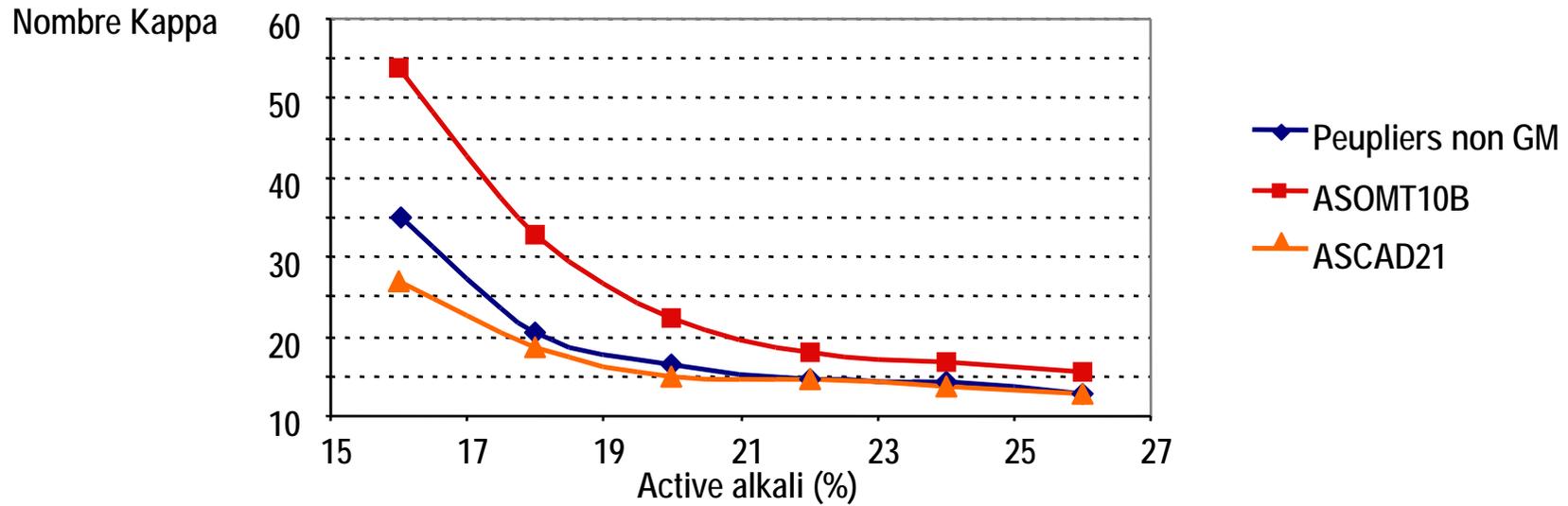


- Mesures du diamètre moyen des arbres
- Mesures de la taille moyenne des arbres
- Mesures de débourrement
- Evaluation des dégâts foliaires (insectes)
- Evaluation des attaques fongiques

Pas de différences significatives entre peupliers témoins et peupliers à lignines modifiées

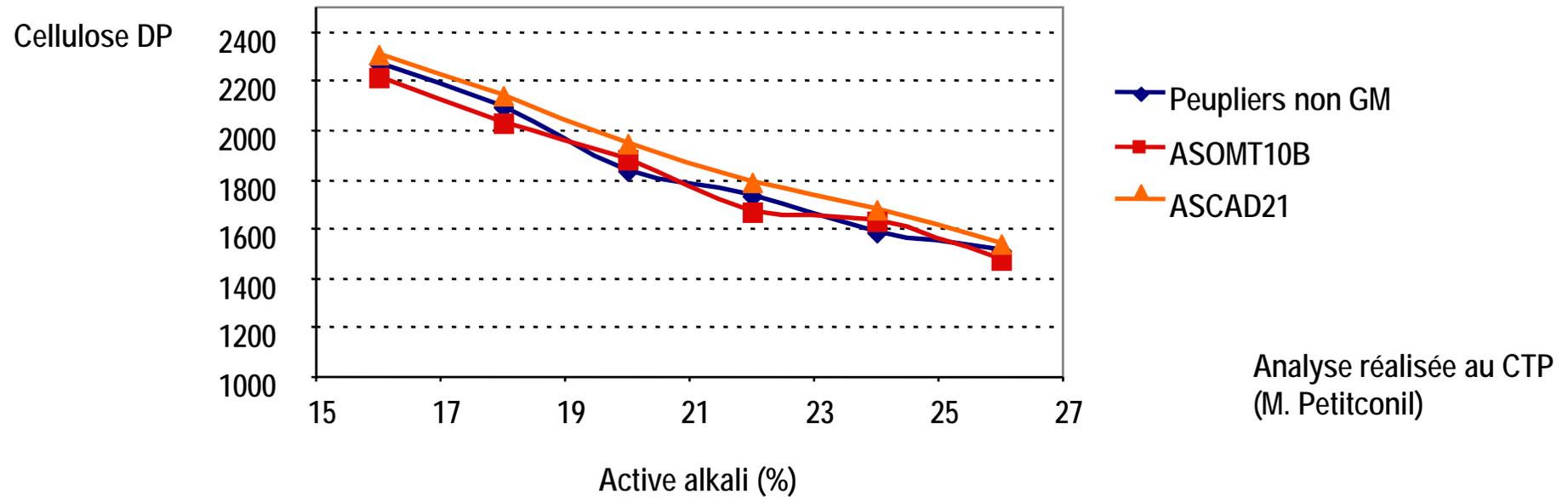
Analyse technologique (1)

Le nombre Kappa est un indice de la quantité de lignines résiduelles



Analyse réalisée au CTP
(M. Petitconil)

Analyse technologique (2)



Les lignines de la lignée ASCAD21 sont plus faciles à retirer du bois pendant le procédé Kraft. Leur élimination se fait de façon satisfaisante avec moins d'alkali, sans altération de rendement et avec un degré de polymérisation de la cellulose amélioré

Faisabilité de produire par génie génétique un bois aux propriétés améliorées pour une utilisation technologique

Mais si l'activité CAD est trop réduite...



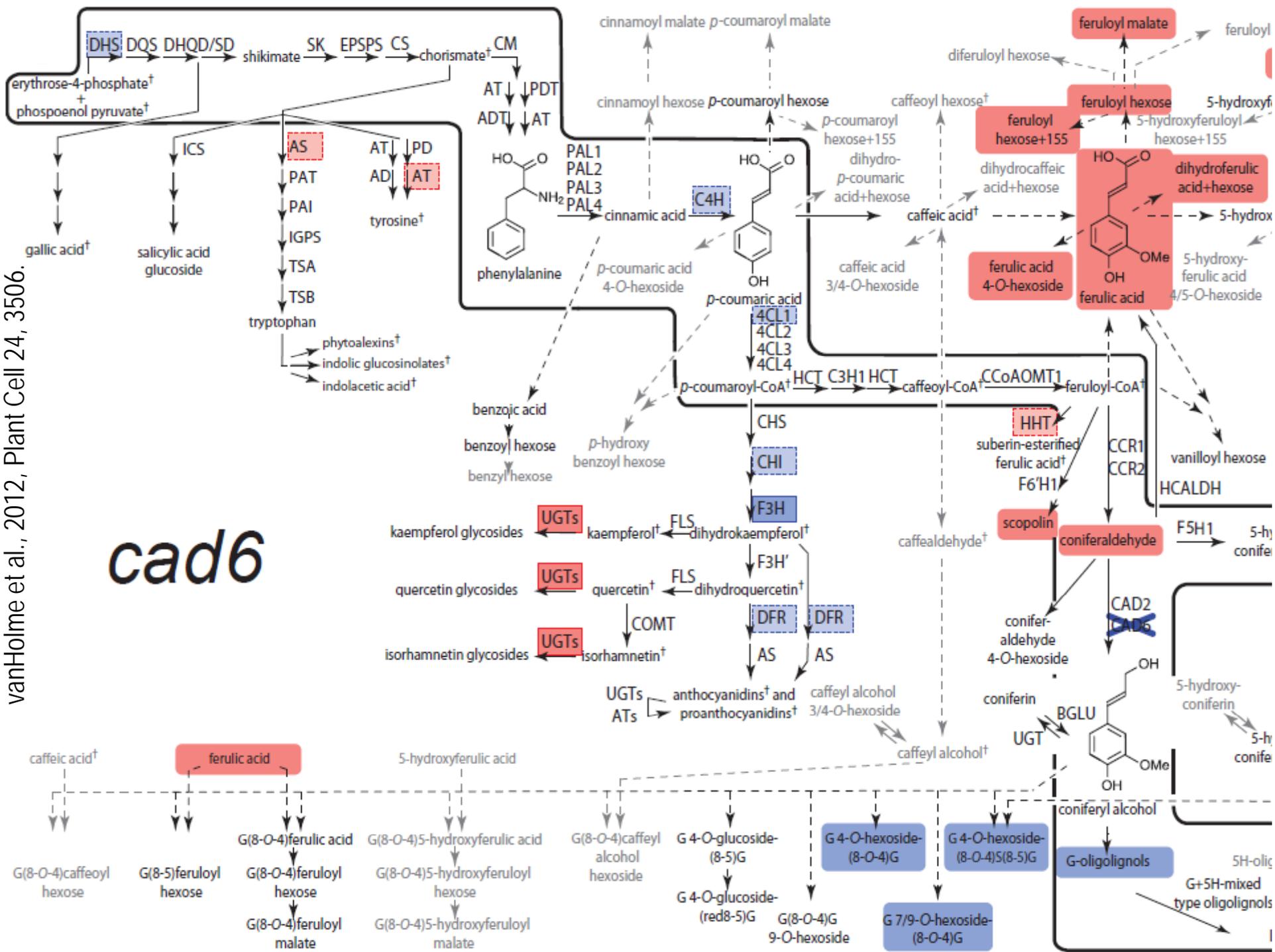
ASCAD34.2 Témoin
Plants de 4 mois



ASCAD34.2 Témoin
Plants de 1,5 ans

... la modification des lignines affecte le développement de l'arbre

cad6



Déterminisme biologique : interactions Génétique X Environnement

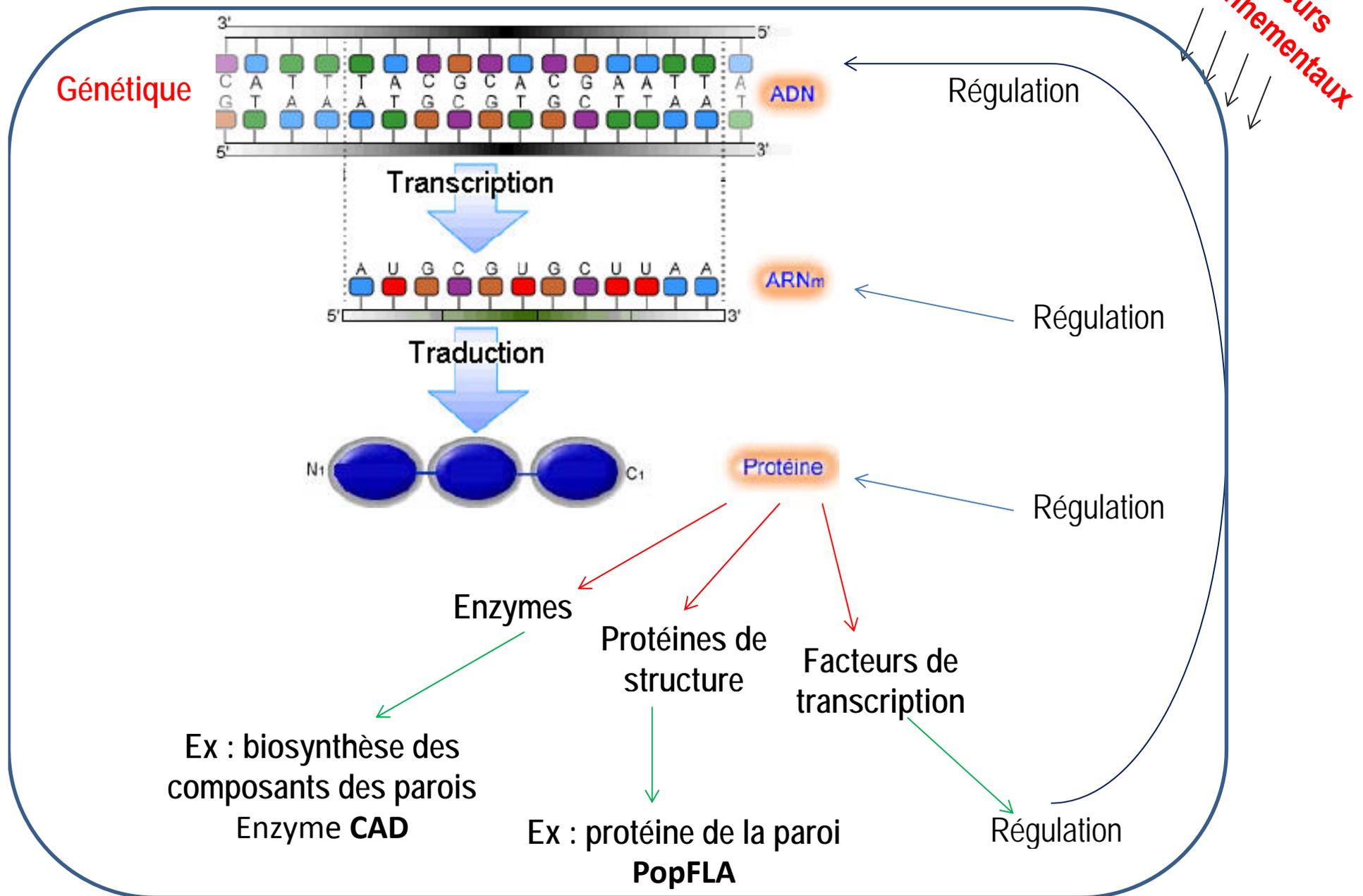
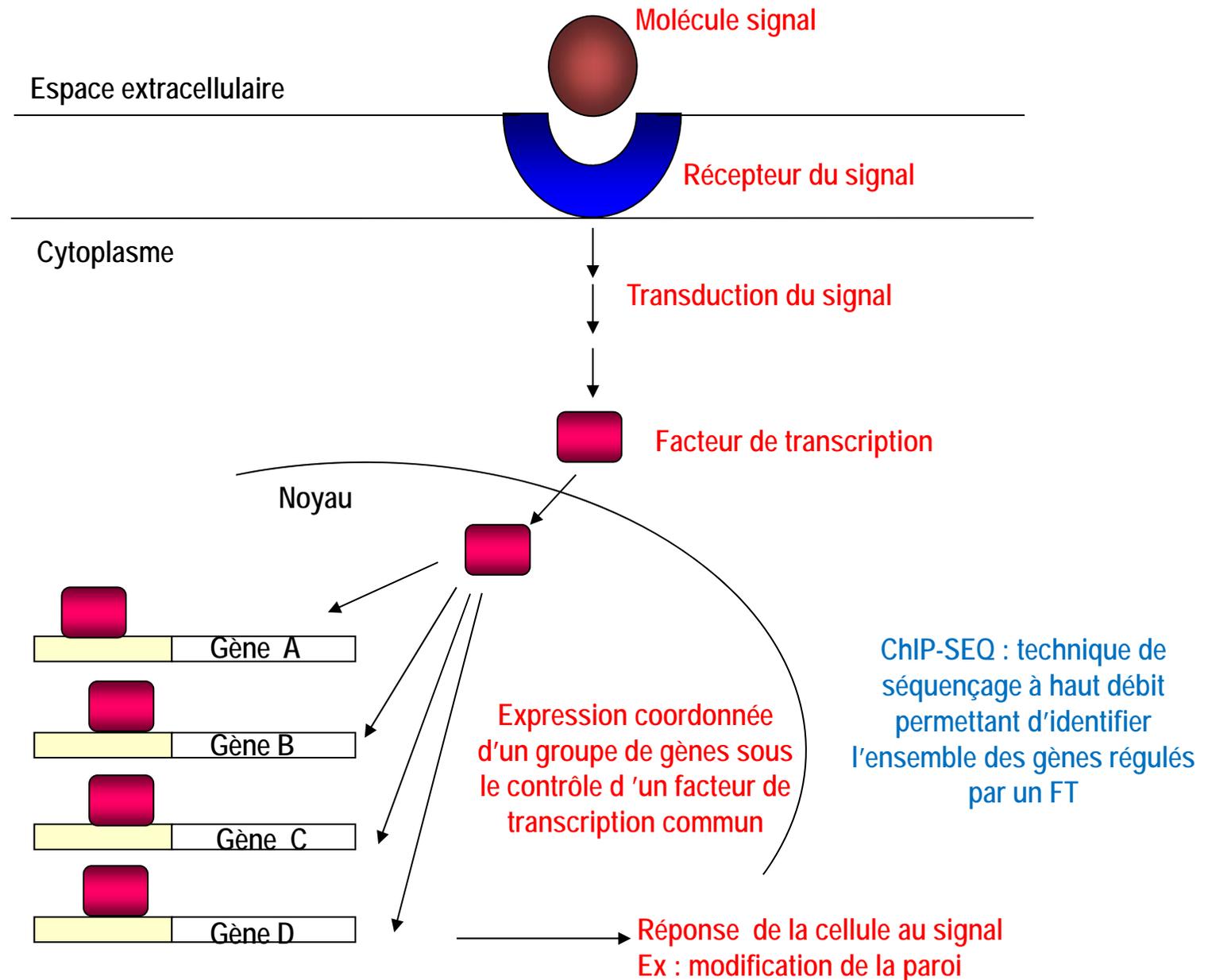


Schéma simplifié illustrant la perception et la transduction d'un signal se l'environnement menant, via la régulation de l'expression des gènes à la réponse cellulaire



Identification de master-régulateurs (Facteurs de transcription) contrôlant le métabolisme des lignines

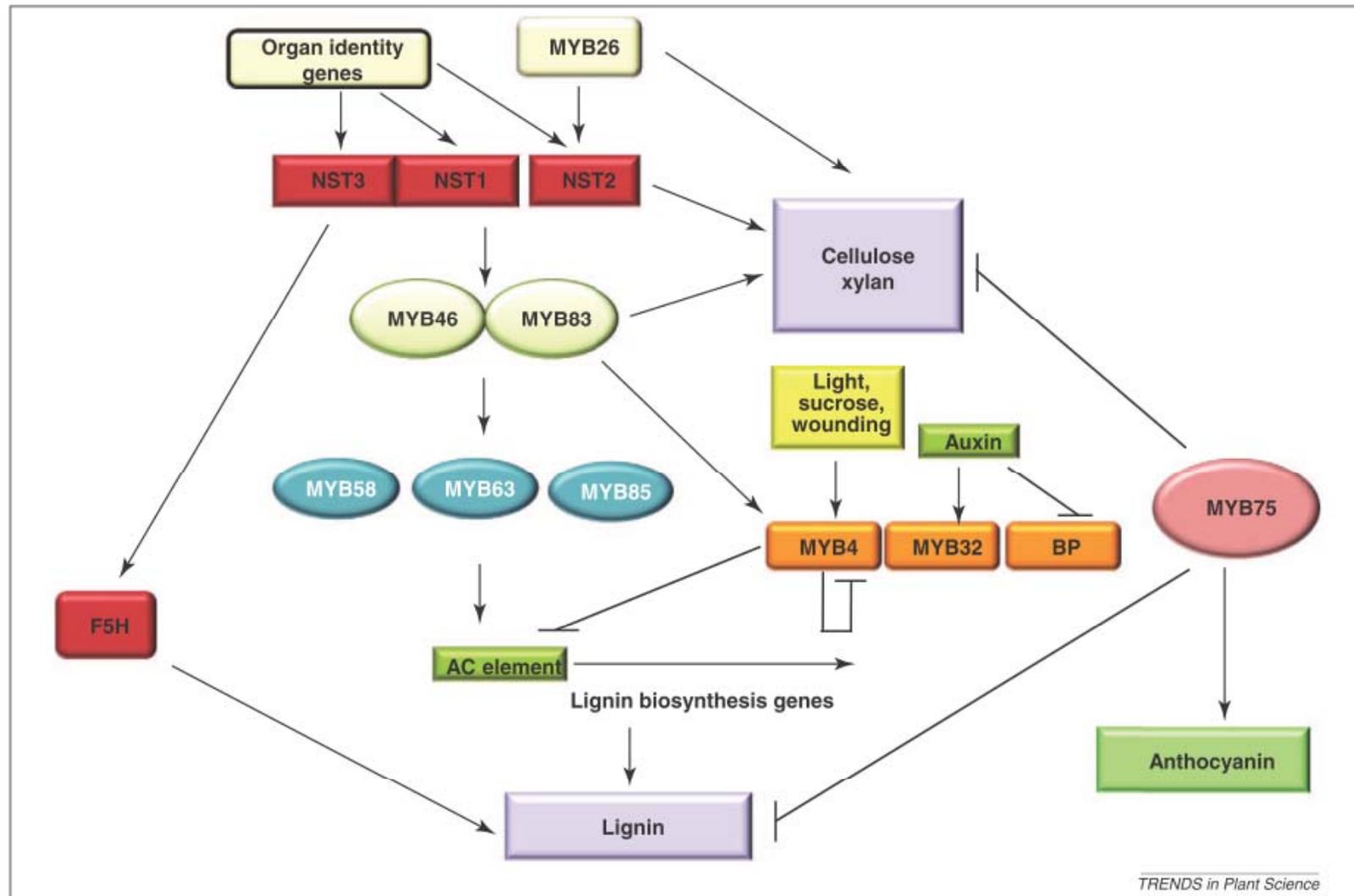


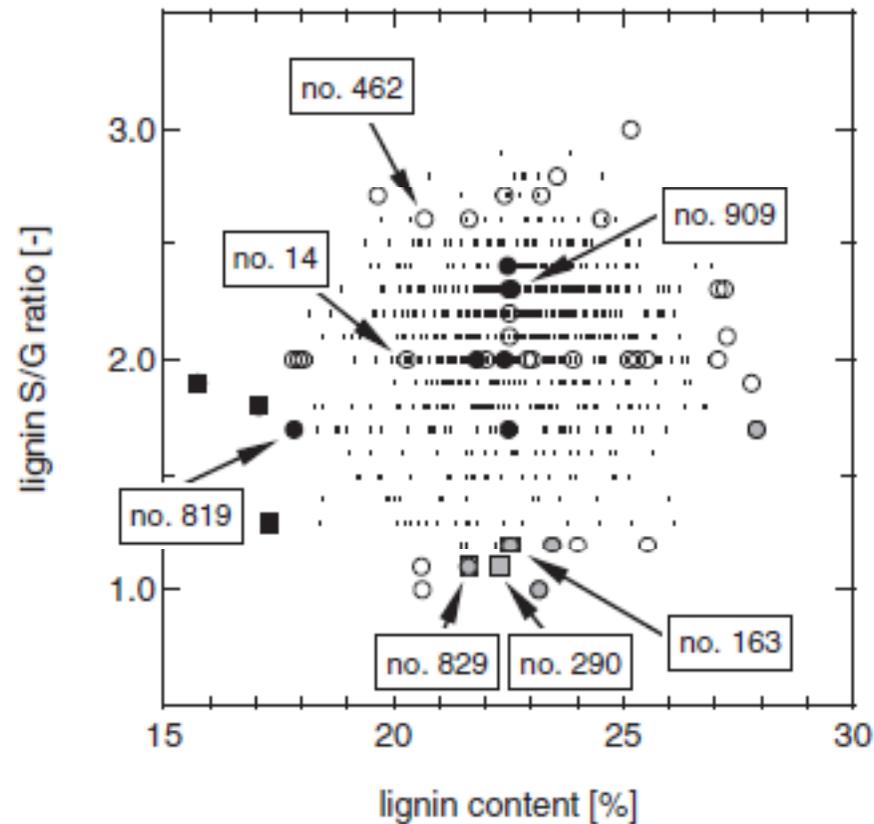
Figure 2. Current model of the transcriptional network of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. Both NST1/2/3 and MYB46/MYB83 can activate the entire secondary cell wall biosynthesis. F5H is regulated by NST3, whereas other lignin genes are regulated by MYB58/63/85 through the AC element. NSTs are downstream of organ identity genes. MYB4 is self-downregulated and is upregulated by light, wounding and sucrose. Auxin induces MYB32 expression but represses BP. Arrows indicate activation and the straight-line-end bars indicate inhibition.

ETUDE DE L'IMPLICATION DE 2 FACTEURS DE TRANSCRIPTION DANS LA FORMATION DE BOIS DE TENSION CHEZ LE PEUPLIER

LAKHAL W, BOIZOT N, LESAGE-DESCAUSES MC, LEPLÉ JC, LAURANS F, LAINE V, MILLET N,
FERRIGNO P, PILATE G, DEJARDIN A

Poster B03

Exploitation de la variabilité existant dans les populations naturelles



Analysis of a large collection of biological samples from 1,100 geographically distributed, undomesticated *Populus trichocarpa* genotypes for lignin content and S/G ratio. The sampled trees covered a wide span in lignin content (15.7–27.9%) and S/G ratio (1.0–3.0) (Studer et al., 2011, PNAS 108, 6300)

Prédire les caractéristiques de la biomasse en associant informations génomiques et phénotypage haut débit

Exploitation de la variabilité existant dans les populations naturelles



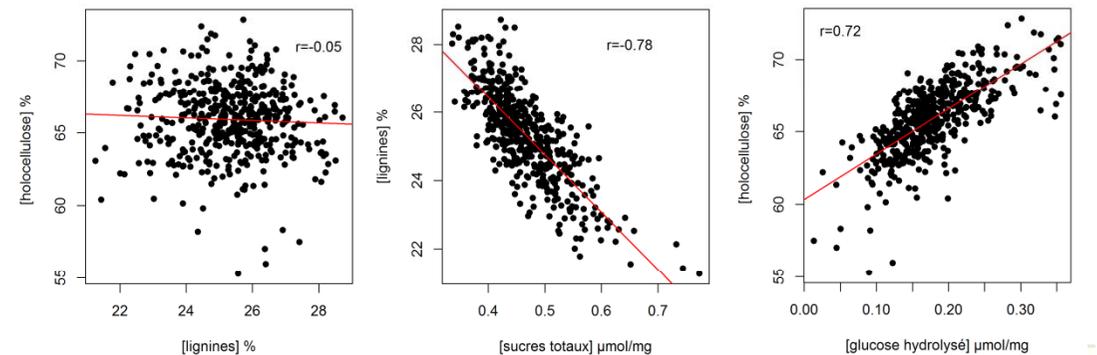
Utilisation de la SPIR pour le phénotypage à haut-débit des propriétés du bois en vue de sa conversion en bioéthanol

Génotypage à haut débit : recherche de polymorphisme de séquences

Recherche de QTL pour les propriétés du bois

Identification de gène candidat important pour la production de biomasse

V Jorge, V Segura & C Bastien, UAGPF



```
GTCTCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGG*CTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGG*CTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGG*CTGCGC
GTCTCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGG*CTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC
GTCTCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGG*CTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC
GTCTCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGG*CTGCGC
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC
```

En conclusion,

Importance du déterminisme biologique pour les structures et propriétés

Nombreux gènes capables de modifier potentiellement les propriétés du bois...

Nombreuses possibilités pour optimiser les caractéristiques du bois afin de produire *in fine* des matériaux aux propriétés améliorées pour des utilisations traditionnelles ou innovantes...

Et il nous reste beaucoup à faire!

Annabelle Déjardin
Jean - Charles Leplé
Marie - Claude Descauses
Fernanda Guedes
Françoise Laurans
Nadège Millet
Nathalie Boizot
Miyuki Takeuchi
Veronique Laine-Prade
Wassim Lakhali
Gilles Pilate
Catherine Bastien
Redouane El-Malki
Véronique Jorge
Vincent Segura

...

[Et de nombreuses collaborations...](#)



