X-TrEM : **Ionomique** et **transcriptomique** X-espèces au service de l'étude des espèces hyperaccumulatrices d'éléments traces métalliques

Sylvain MERLOT
sylvain.merlot@i2bc.paris-saclay.fr
@Metal_Hype

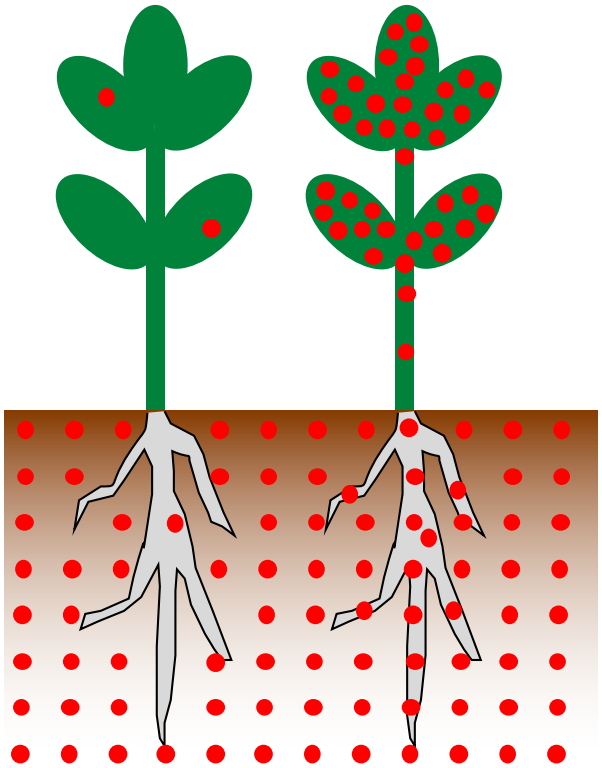
MI-CNRS
X-LIFE

Les espèces végétales métallophytes

Pelouse calaminaire, Auby, France

Flore serpentinique, Nouvelle-Calédonie

Stratégies d'adaptation



La diversité des espèces hyperaccumulatrices de métaux

Metal	Toxicité ($\mu g.g^{-1}$)	Seuil Hyperaccumulation ($\mu g.g^{-1}$ M.S. ou ppm)	Taxon	Familles
Nickel	**10-50**	**>1.000**	**532**	**52**
Manganese	200-3500	>10.000	42	16
Zinc	100-300	>3.000	20	9
Cadmium	6-10	>100	7	6

Reeves *et al.* 2017

Pycnandra acuminata
(Sapotaceae)

25% de nickel dans son latex

Noccaea caerulescens
(Brassicaceae)

Hyperaccumule le Ni, Zn et Cd

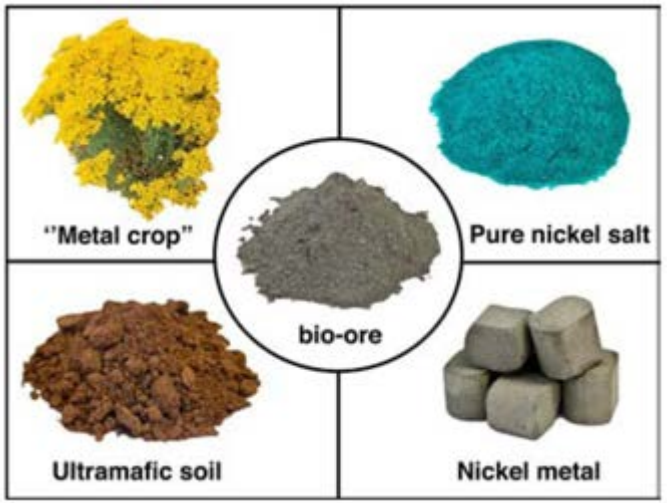
Virotia neurophylla
(Proteaceae)

Hyperaccumule le manganèse

Valorisation des espèces accumulatrices de métaux

Restauration de site minier (Thio, New Caledonia)

Agromining



van der Ent et al. (2015)

Eco-catalysis

Metal-rich biomass

Eco-Ni®

Synthesis of biomolecules

Chimeco Laboratory, C. Grison

Les objectifs du projet X-TrEM

1- Identifier de nouvelles espèces hyperaccumulatrices de métaux grâce au crible de collections d'herbiers par spectrométrie de fluorescence X (XRF)

2- Développer une nouvelle méthode d'analyse transcriptomique comparative inter-espèces pour identifier les gènes liés à l'hyperaccumulation des métaux

Partenaires

I2BC (Gif-sur-Yvette)
S. Merlot
M. Gallopin
C. Drevet

LSTM (Montpellier)
Y. Pillon

LSE (Nancy)
G. Echevarria
R. Tisserand
D. M. Navarrete Gutierrez

ISYEB-MNHN (Paris)
V. Invernon
S. Muller

Stagiaires

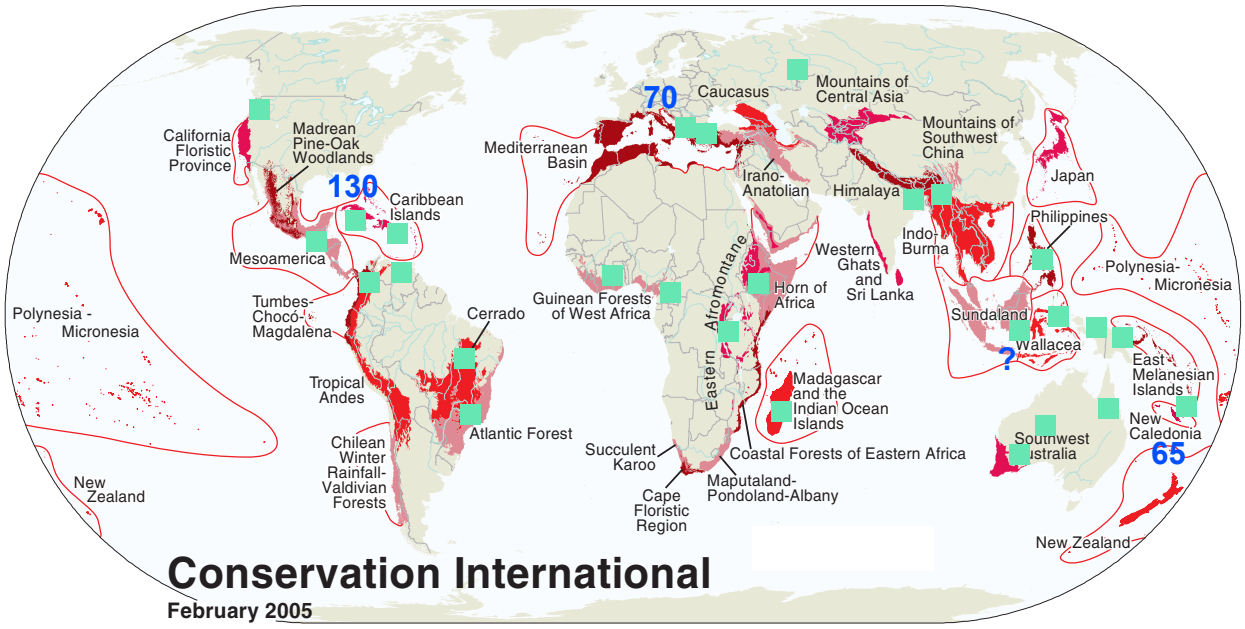
Sarah Jelassi (Master1, UPS, 3 mois); Pierre Jouannais (Master1, AgroParisTech, 3 mois)

Identifier de nouvelles espèces hyperaccumulatrices de métaux

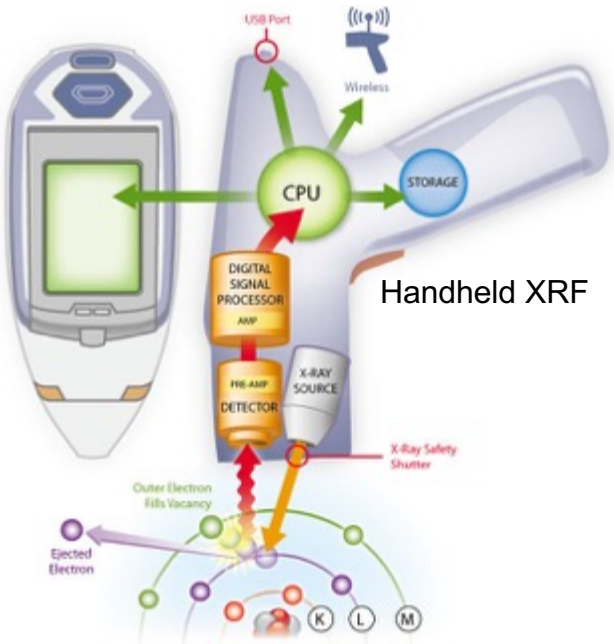
Metal	Toxicité ($\mu g.g^{-1}$)	Seuil Hyperaccumulation ($\mu g.g^{-1}$ M.S. ou ppm)	Taxon	Familles
Nickel	**10-50**	**>1.000**	**532**	**52**
Manganese	200-3500	>10.000	42	16
Zinc	100-300	>3.000	20	9
Cadmium	6-10	>100	7	6

Reeves *et al.* 2017

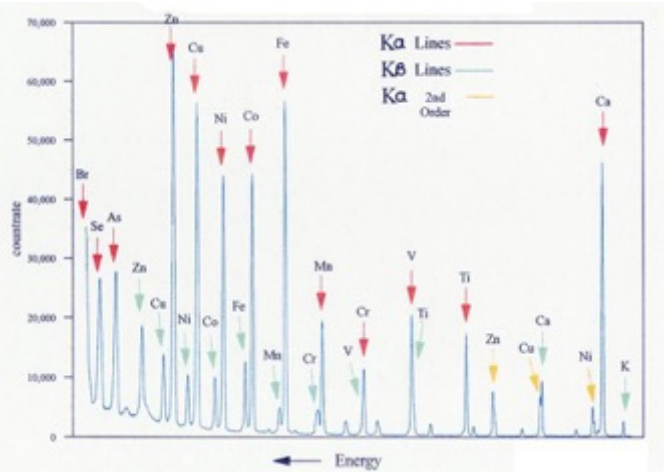
Des sols riches en nickel dans des Hotspots de diversité



Crible de l'Herbier du MNHN par XRF



Handheld XRF



Acquisition d'un Niton XL3t (Juin 2018) pour le criblage de l'Herbier du MNHN

Crible de l'Herbier du MNHN par XRF

>6 millions d'échantillons dans l'Herbier du MNHN

Priorité aux régions Amérique et Madagascar

2 stratégies de crible:

Systématique: Familles possédant des hyperaccumulateurs déjà connus

Géographique: Zones où des exploitations minières sont présentes

Résultats

>1000 espèces criblées (~ 3000 spécimens)

55 espèces identifiées possédant des teneurs en métaux proches ou dépassant les seuils d'hyperaccumulation définis

La stratégie géographique est moins efficace en raison du manque de métadonnées (localisation précises, type de sol...) associées aux échantillons anciens.
Mission Herbonautes « Fan de Métal » pour informatisation des informations liées à des spécimens d'intérêt.

Pierre Jouannais (stage Master 1, 3 mois), V. Invernon, S. Merlot

Identification de *Rinorea multivenosa* comme une nouvelle espèce hyperaccumulatrice de zinc

***Rinorea multivenosa* (Violaceae)**

Code	Zn (ppm)	Zone
P02141355	11900	Brésil, Amazonia
P02141356	14300	Brésil, Amazonia
P02141357	17800	Brésil, Amazonia
P02141358	9300	Brésil, Rio de Janeiro

- Confirmer le caractère hyperaccumulateur sur des échantillons indépendants (Brésil, Colombie)
- Etudier des échantillons de l'espèce proche *R. longistipulata* absente dans l'Herbier du MNHN

Identification de 22 nouveaux hyperaccumulateurs de manganèse en Amérique et Madagascar

***Lomatia dentata* (Proteaceae)**

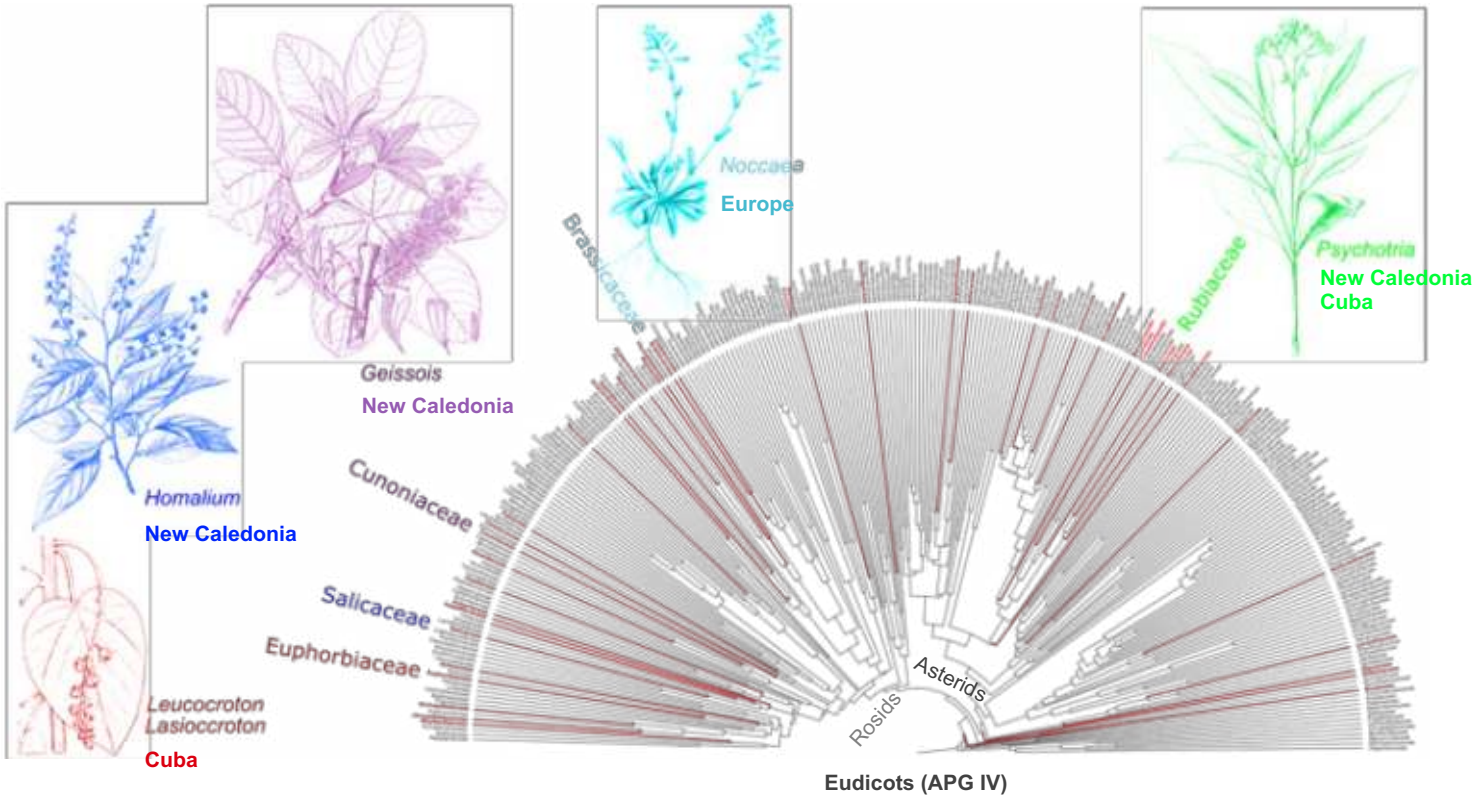
Code	Mn (ppm)	Zone
P02319824	41500	Chili, Valvidia
P02319827	16900	Chili
P02319830	26900	Chili
P00750844	20900	Chili

Espèces Malgaches

Code	Espèce	Famille	Mn (ppm)
P05497299	*Scopolia taimbarina*	Salicaceae	16800
P05472841	*Wielandia bojeriana*	Phyllanthaceae	16300
P00229404	*Garcinia livingstonei*	Clusiaceae	11500
P00435101	*Oliganthes pseudocentauropsis*	Asteraceae	11000

Quels sont les gènes impliqués dans l'hyperaccumulation des métaux chez les plantes ?

Le cas de l'hyperaccumulation de nickel



Identification des gènes dont l'expression est liée à l'hyperaccumulation du nickel

Famille A

Esp. 1 — Hyperaccumulateur

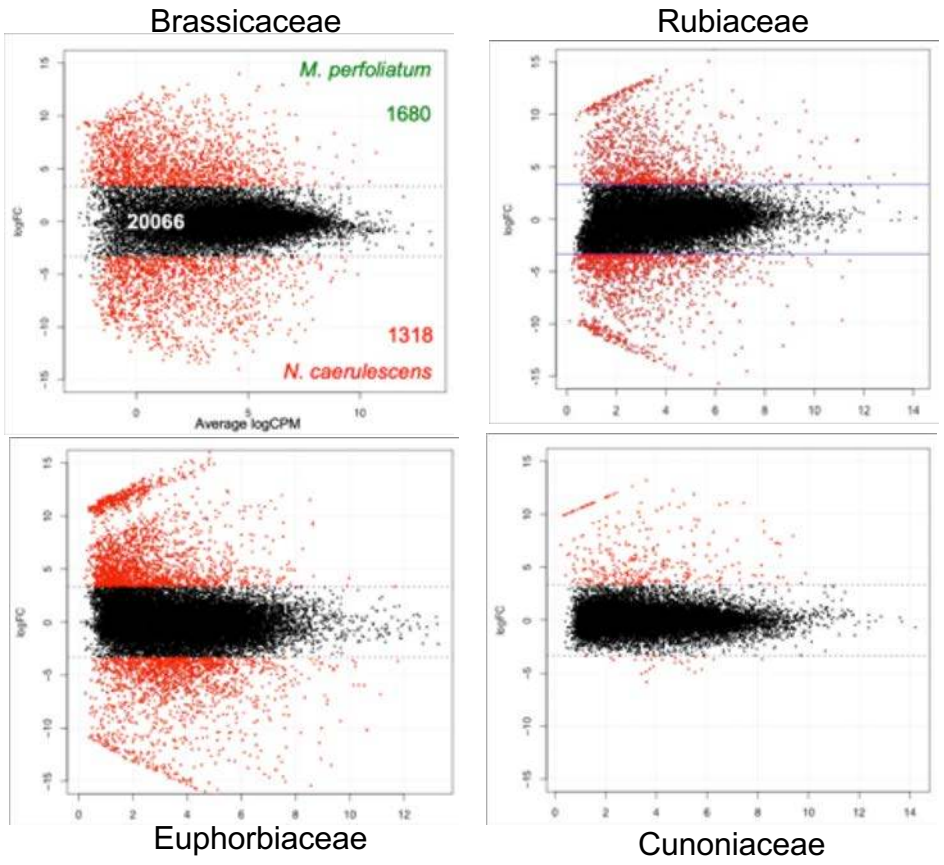
Esp. 2 — Non-accumulateur

Sequençage NGS des ARN (RNA-Seq)

Assemblage *de novo* des transcriptomes (contigs≈gènes)

Mapping des reads contre le même transcriptome de référence

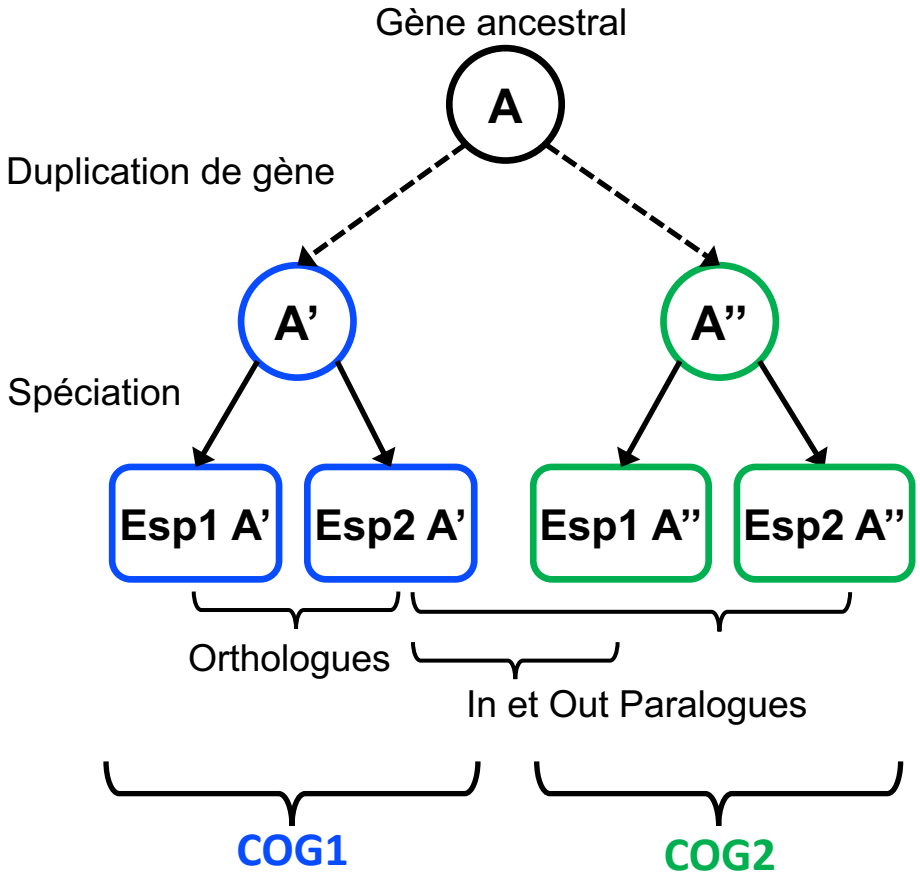
Identification des contigs différentiellement exprimés (DE) entre les deux espèces



- Nécessité de disposer de couples d'espèces proches (>85% identité nucléique)

- Identification de nombreux gènes DE candidats dans des comparaisons 2 à 2

Développement d'une approche transcriptomique comparative basée sur l'expression de Cluster of Orthologous Groups (COGs)



Sarah Jelassi (Stage Master 1, 3 mois), M. Gallopin, C. Drevet

Quantification de l'expression des COGs

Hyperaccumulateurs | **non-accumulateur**

EspèceA	Comptage		EspèceB	Comptage		EspèceC	Comptage	
	Ech1	Ech2		Ech1	Ech2		Ech1	EchN
Contig1	1	2	Contig1	3	4	Contig1	5	6
Contig2	7	8	Contig2	9	0	Contig2	11	12
ContigX	13	14	ContigY	15	16	ContigZ	17	18

COG1= {EspA_Con1, EspB_Con1, EspC_Con1}

COG2= {EspA_Con2, EspA_ConX, EspB_Con2, EspC_Con2}

COG3= {EspB_ConY, EspC_ConZ}

MATRICE	EspA_1	EspA_2	EspB_1	EspB_2	EspC_1	EspC_N
COG1	1	2	3	4	5	6
COG2	7+13	8+14	9	0	11	12
COG3	∅	∅	15	16	17	18

Identification des COGs dont l'expression est liée au caractère d'hyperaccumulation du nickel

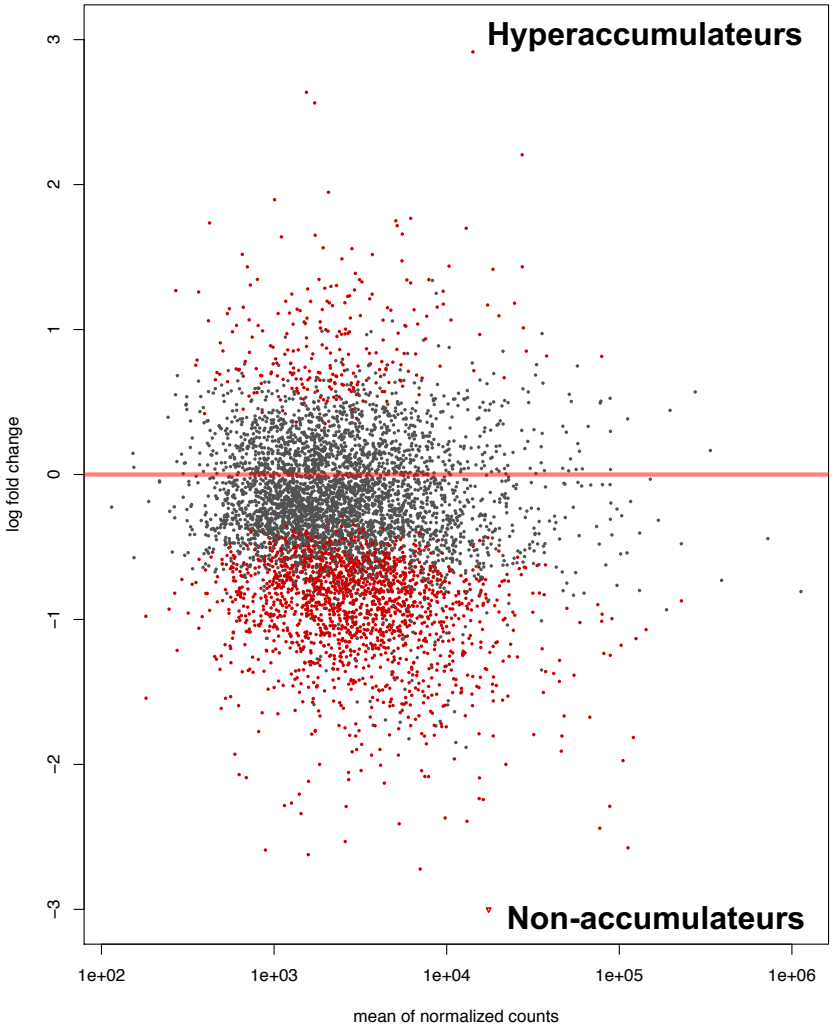
- **16 transcriptomes** d'espèces hyperaccumulatrices de nickel et non-accumulatrices

- Construction de la base COGs par la méthode MaRiO (Peireira *et al.* 2016)

- Analyse différentielle de l'expression des COGs

Modèle linéaire classique (package Limma-Voom)

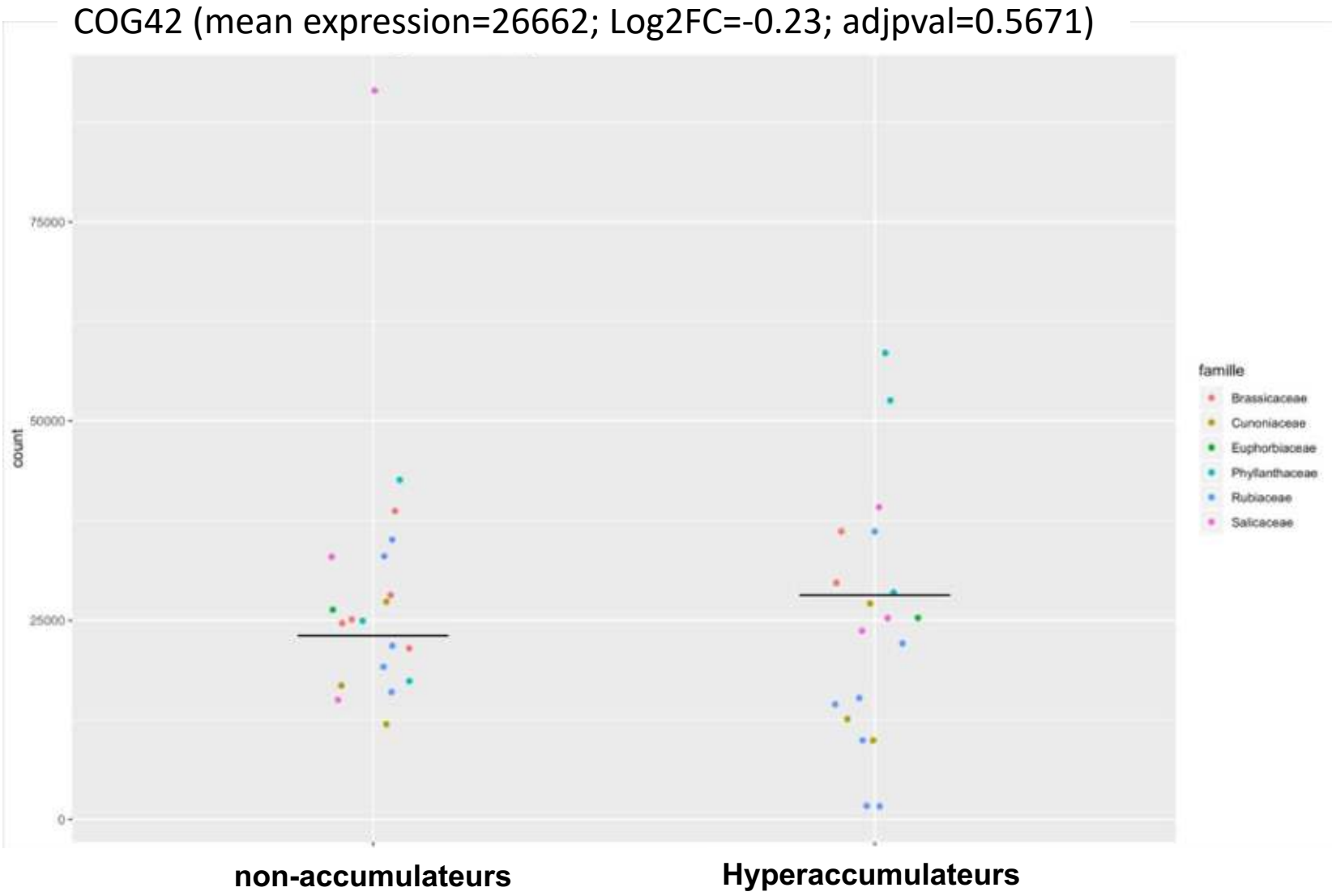
Modèle linéaire généralisé (package DESeq2)



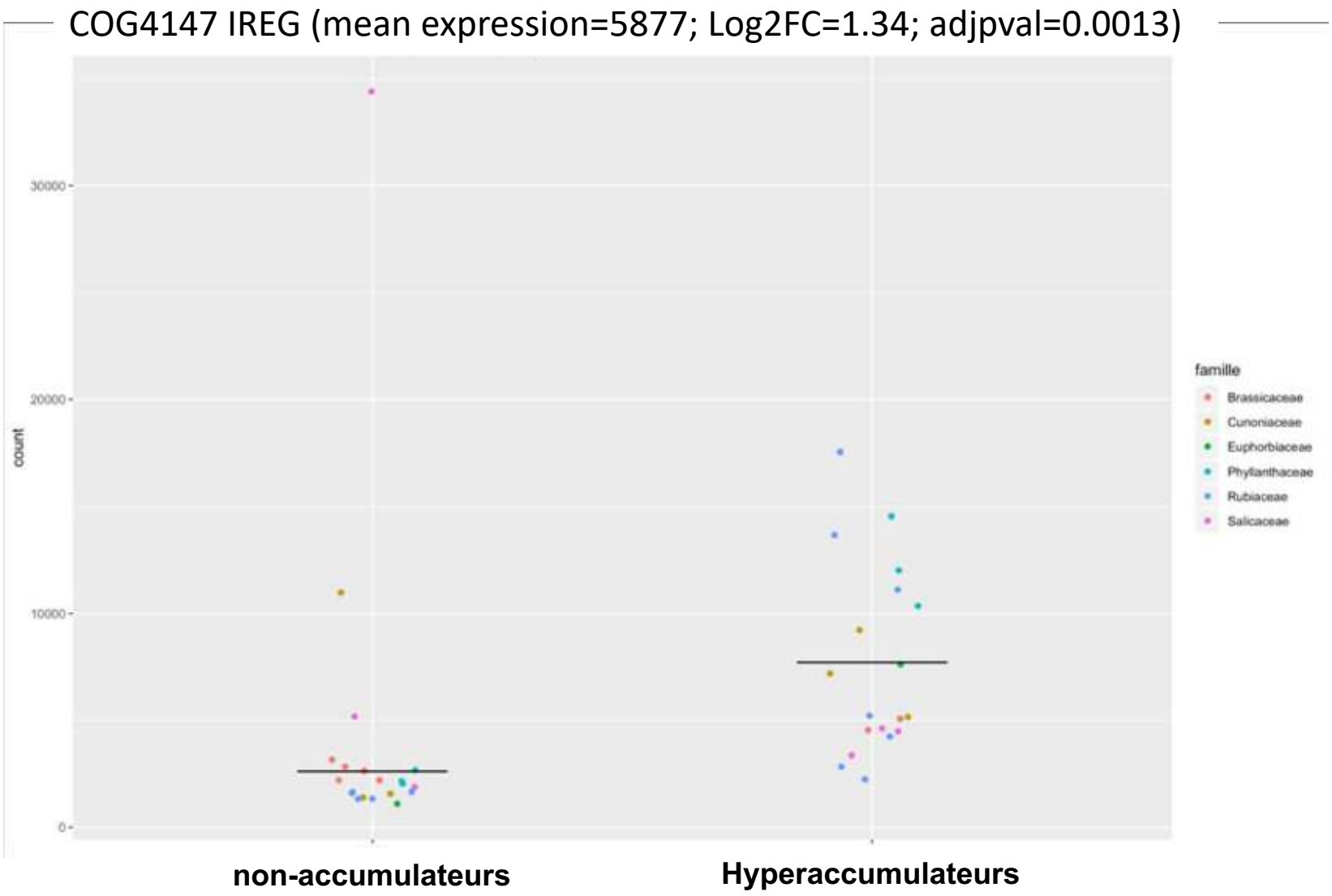
Analyse DESeq2
p<0.01

Sarah Jelassi (Stage Master 1, 3 mois), M. Gallopin, C. Drevet

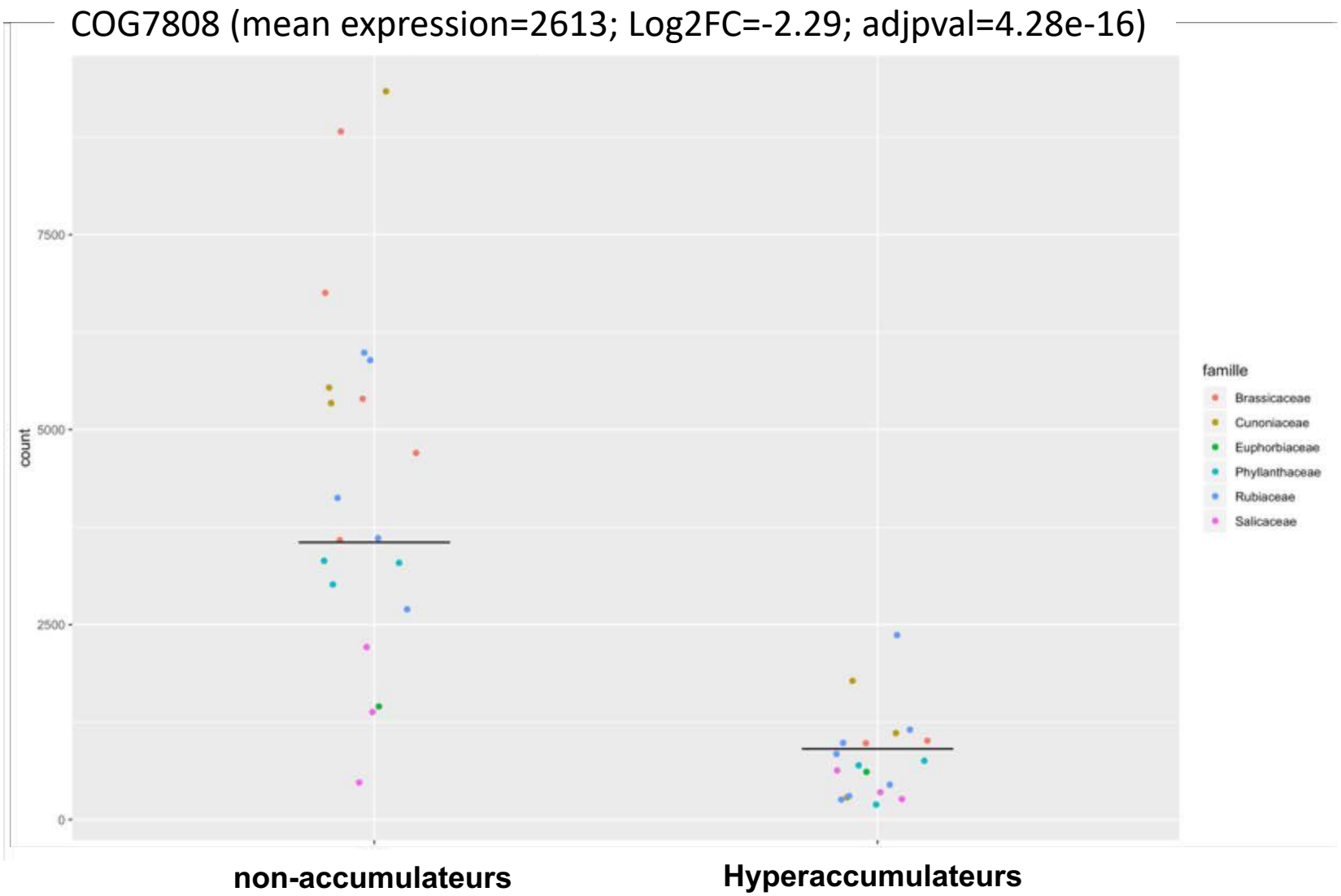
Exemple d'un COG non-DE



Exemple d'un COG DE, plus exprimé chez les hyperaccumulateurs de nickel



Exemple d'un COG DE, moins exprimé chez les hyperaccumulateurs de nickel



Projet X-TrEM 2019

Identifier de nouvelles espèces hyperaccumulatrices de métaux

- Validation des données obtenues en 2018
- Crible de nouveaux groupes végétaux (e.g. Phyllanthaceae, Rubiaceae)
- Crible de l'herbier du Jardin Botanique National de Cuba

Développer une nouvelle méthode d'analyse transcriptomique X-espèces

- Développer les modèles statistiques pour l'analyse différentielle
(e.g. Intégrer les distances entre les groupes végétaux)
- Valider les données obtenues pour l'hyperaccumulation du nickel
- Obtenir de nouvelles données transcriptomiques pour l'analyse de l'hyperaccumulation du manganèse