

TRANS-C³ – Le TRANScriptome du Chêne pubescent en réponse au Changement Climatique



Institut
Méditerranéen
de Biodiversité
et d'Ecologie
marine et continentale

Jean-Philippe MEVY IMBE - UMR
CNRS 7263 / IRD 237
Aix-Marseille Université, Université
Avignon

LES PARTICIPANTS

Participant 1 : [Stefano Caffarri](#). Laboratoire de génétique et biophysique des plantes (LGBP). UMR7265-BIAM-CEA-CNRS-AMU



Participant 2 : [Béatrice Loriod](#). Transcriptomique et Génomique Marseille-Luminy (TGML). TAGC U1090 INSERM-AMU



Participant 3 : [Hendrik Davi](#). INRA, URFM-UR629 Site Agroparc, Avignon Domaine Saint Paul



Partenaires impliqués : [Erwan Corre](#) et [Xi Liu](#). Plateforme de bio-informatique ABIMS. Station Biologique de Roscoff. UPMC CNRS



CNRS UPMC
**Station Biologique
Roscoff**

LE CONTEXTE ET LES OBJECTIFS

❑ Région Méditerranéenne : 30% de réduction des précipitations

❑ Conséquences sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes?

Deux impératifs:

- **Gestion conservatoire des ressources**

- **Maintien des services écosystémiques**

❑ Cadre conceptuel = Ecogénomique : coévolution climat-composante biosphérique

❑ Plante modèle : *Quercus pubescens* Wild.

❑ Expression génique - réponse à la sécheresse?

❑ Processus Bioénergétiques - réponse à la sécheresse ?

LES METHODES

❑ Manipulation du climat *in situ*: O3HP

❑ Génomique: 40 arbres: 5 feuilles/arbre

	Printemps	Eté
Contrôle	pC=10	eC=10
Exclusion	pE=10	eE=10

❑ Extraction ARN-construction libraries :
Kit RNA-seq Strand-specific (protocole
TruSeq mRNA Stranded). Sélection
mRNA poly(A).

❑ RNAseq: 20 -30 M reads /échantillon,
en Paired-End 151/151nt , NextSeq-500
Illumina. 2 runs /échantillon : 50 M
reads/ échantillon

❑ Bioénergétiques: 20 arbres

❑ Cinétique du rendement quantique: fluorimétrie

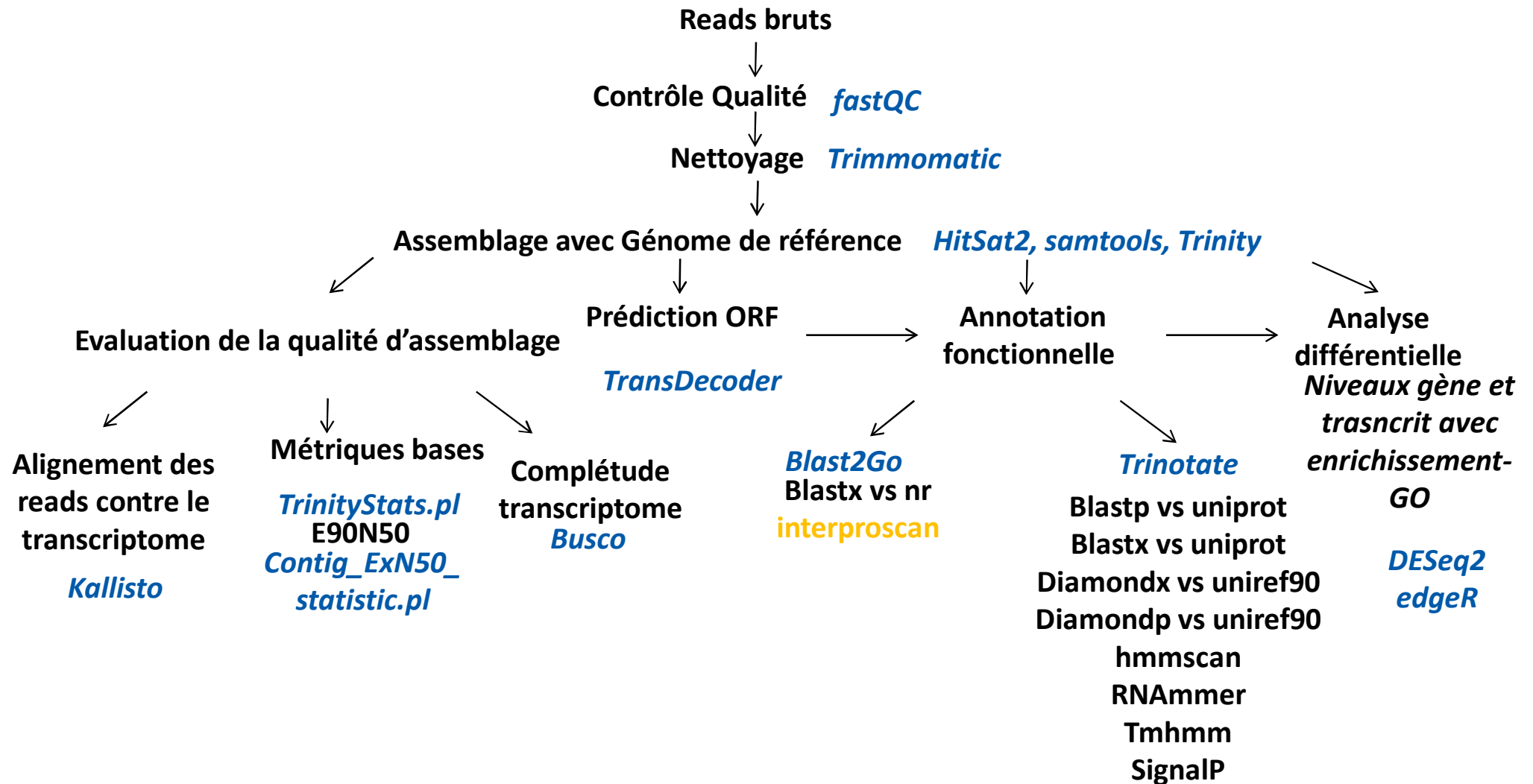
❑ Dosage HPLC pigments photosynthétiques

❑ Western Blot des protéines des photosystèmes I et II

❑ Métabolomique ciblée: cycle de Krebs - sucres - acides aminées



PIPELINE PREPARATION-ASSEMBLAGE RNA-seq



RESULTATS MAJEURS

Table 1: Summary of RNA-Seq and genome-guided sequence assembly of *Q. pubescens*

Total raw paired-end reads	1,971,431,570 x 2
Total clean paired-end reads	1,794,615,817 x 2
Number of transcripts	530080
Total Trinity 'genes'	395969
Mean contig length (bp)	594.95
N10	2664
N20	1875
N30	1386
N40	1037
N50	780
E90N50	1544

BUSCO was run in mode: transcriptome

C:87.9%[S:41.7%,D:46.2%],F:7.8%,M:4.3%,n:1440

1266	Complete BUSCOs (C)
601	Complete and single-copy BUSCOs (S)
665	Complete and duplicated BUSCOs (D)
113	Fragmented BUSCOs (F)
61	Missing BUSCOs (M)
1440	Total BUSCO groups searched

□ Transcriptome de référence de *Q. pubescens*

Table 2: Summary of annotations of *Q. pubescens* genome-guided sequence assembly

Database	Number of transcripts annotated	Percentage of transcripts annotated
Uniref90 BLASTX	200726	37.87
Sprot BLASTX	143372	27.05
GO BLAST	12195	2.3
Prot ID	135957	25.65
Prot coordinates	62319	11.76
KEGG	16072	3.03
Uniref90 BLASTP	106995	20.18
EggNOG Function	5283	1
Sprot BLASTP	83863	15.82
PFAM	75052	14.16
GO PFAM	1849	0.35
TmHMM	18755	3.54
RNAMMER	104	0.02

RESULTATS MAJEURS

□ Analyse différentielle

In transcript level: $P \text{ adj.} < 10^{-3}$ & $\text{abs}(\log_2\text{FC}) \geq 2$

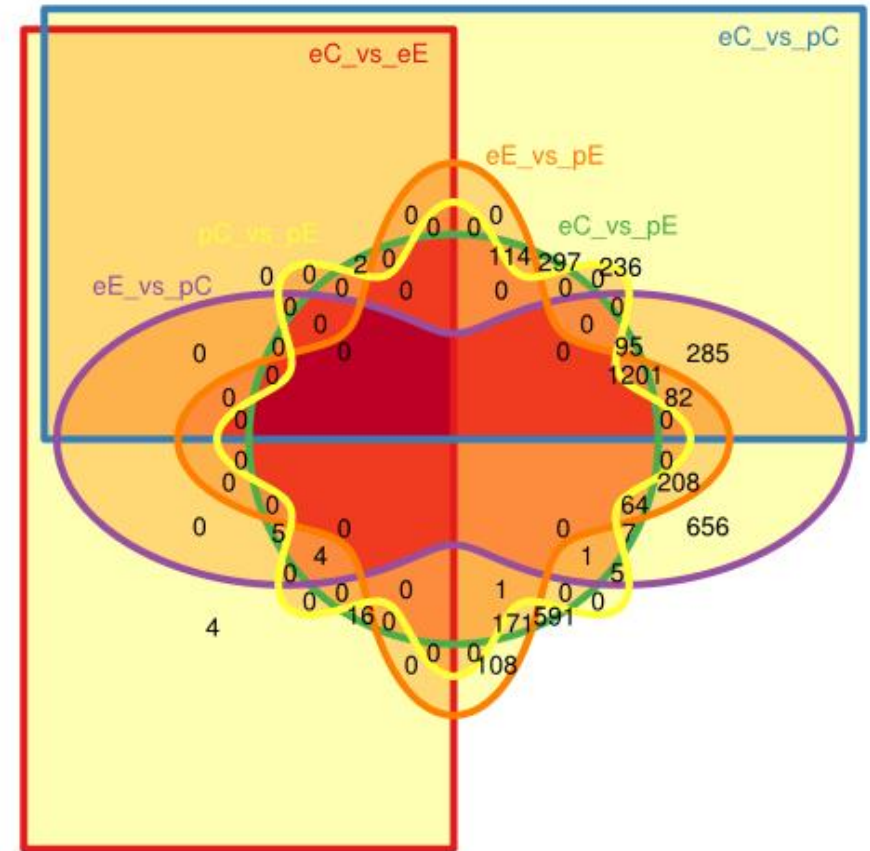
DEseq2 : 5724 features as differentially expressed

edgeR : 4153 features as differentially expressed

Sample	eC	eE	pC	pE
eC	/	15	3122	3529
eE	31	/	3460	3709
pC	2312	2613	/	2
pE	2569	1949	11	/

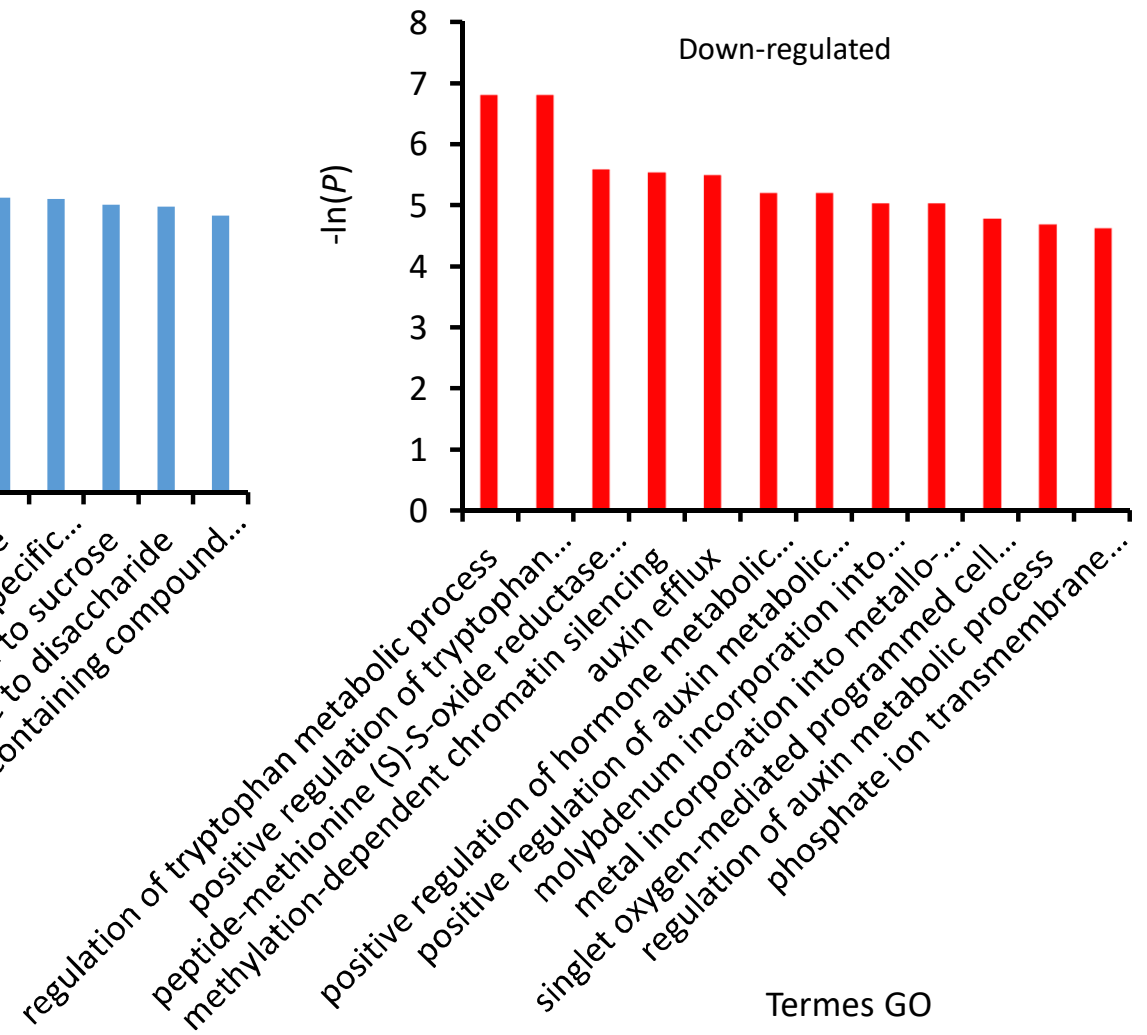
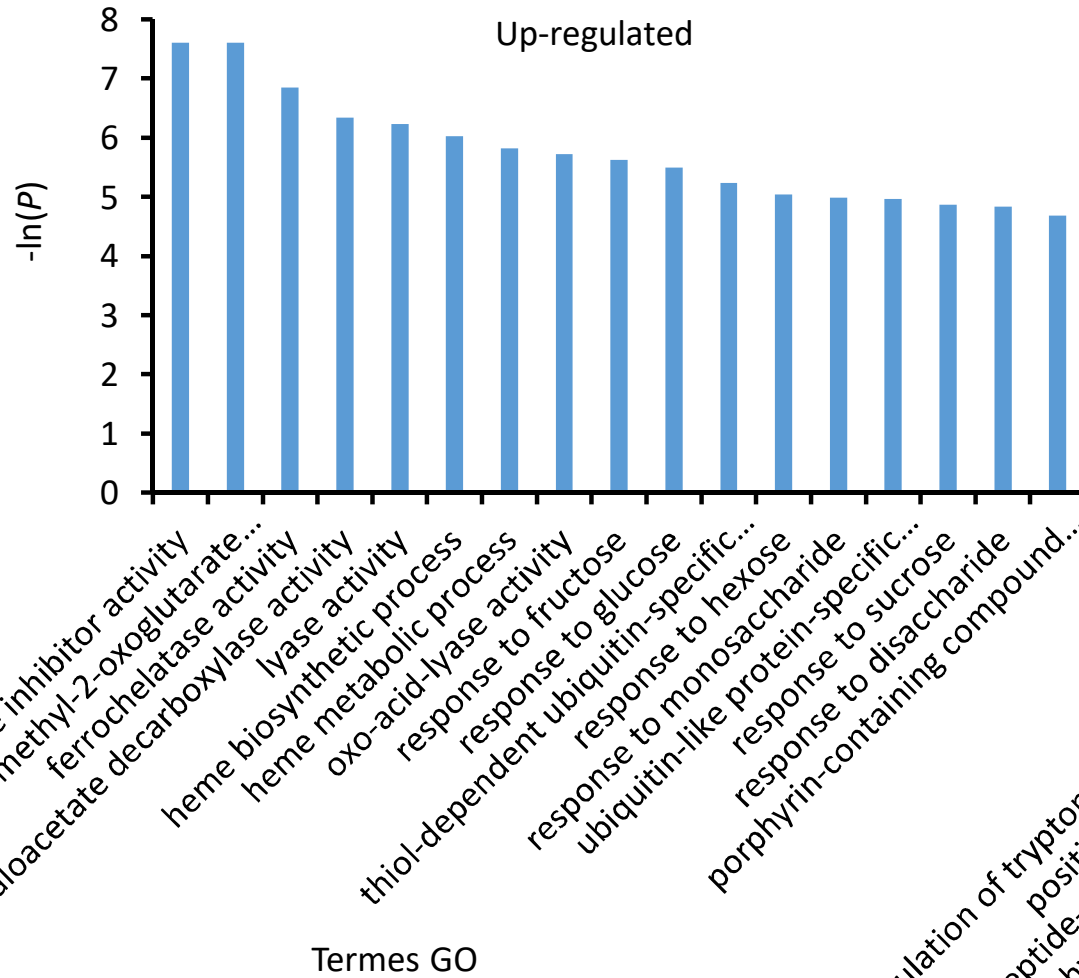
Gene expressed in eC_vs_eE/pC_vs_pE	Regulation
ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 12-like	Up
putative calcium-binding protein cml26	Down
nifU-like protein 1, chloroplastic	Down

edgeR in transcript level: Venn diagram on 6 sets



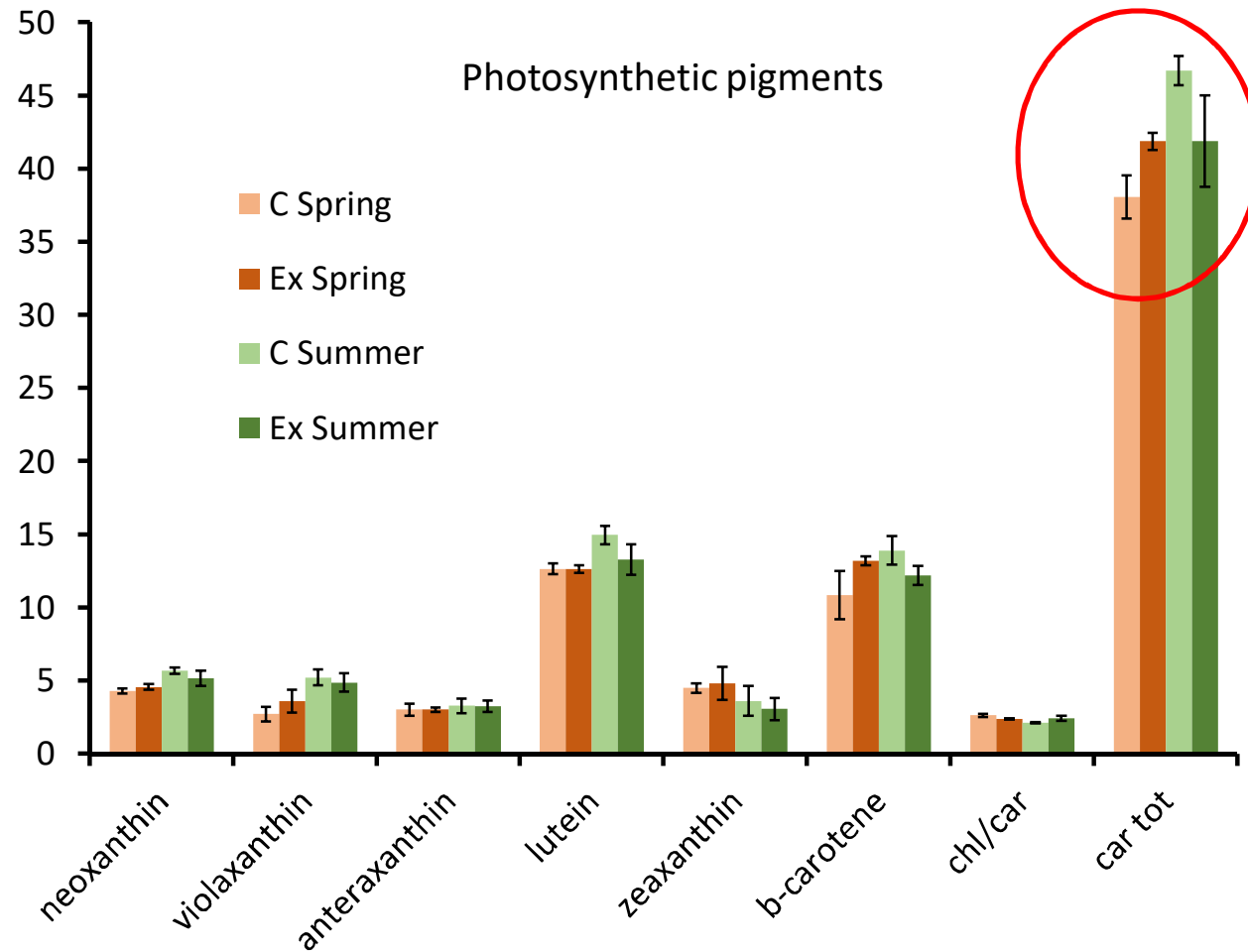
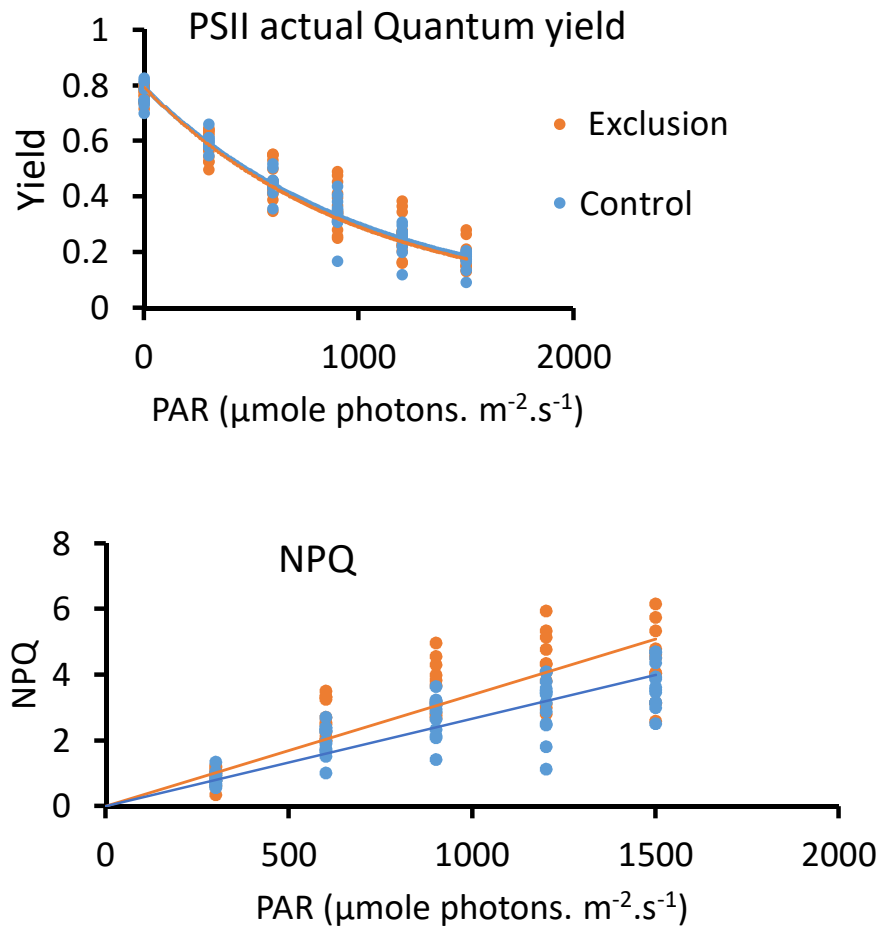
RESULTATS MAJEURS

□ Annotation GO transcrits différentiels en fonction de la P value d'enrichissement. $P < 0,01$: été contrôle/Exclusion



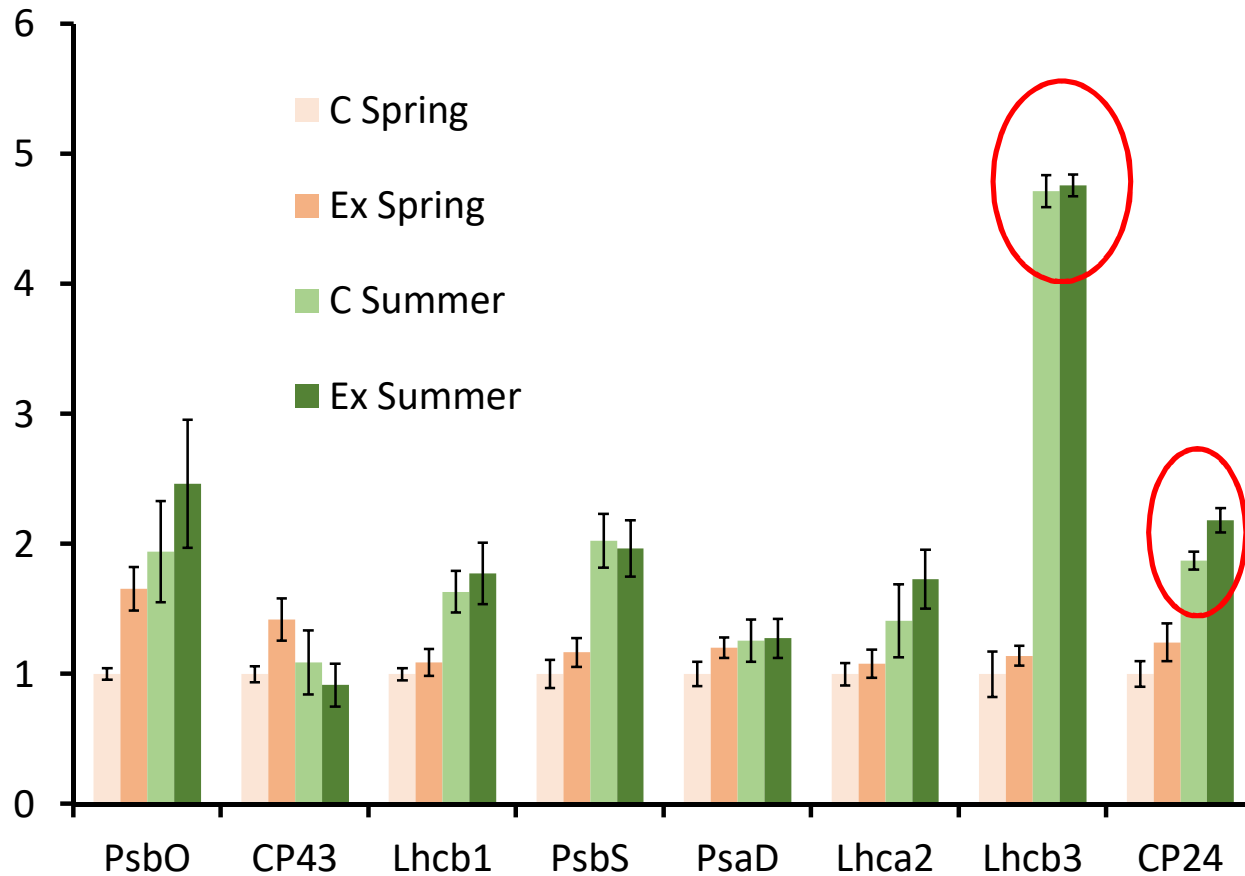
RESULTATS MAJEURS

☐ Photosynthèse et pigments

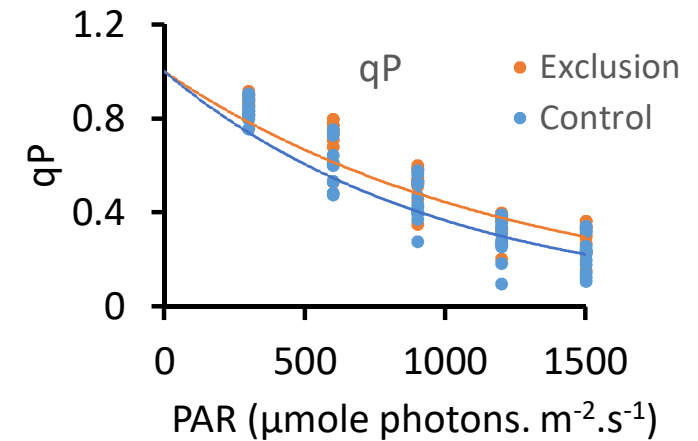


RESULTATS MAJEURS

Western blot protéines PSII-PSI: données normalisées sur les valeurs contrôle printemps



PsbO	Oxygen Evolving Complex
CP43	PSII core
Lhcb1	PSII antenna
PsbS	PSII protein, NPQ activation
PsaD	PSI core
Lhca2	PSI antenna
Lhcb3	PSII antenna
CP24	PSII minor antenna

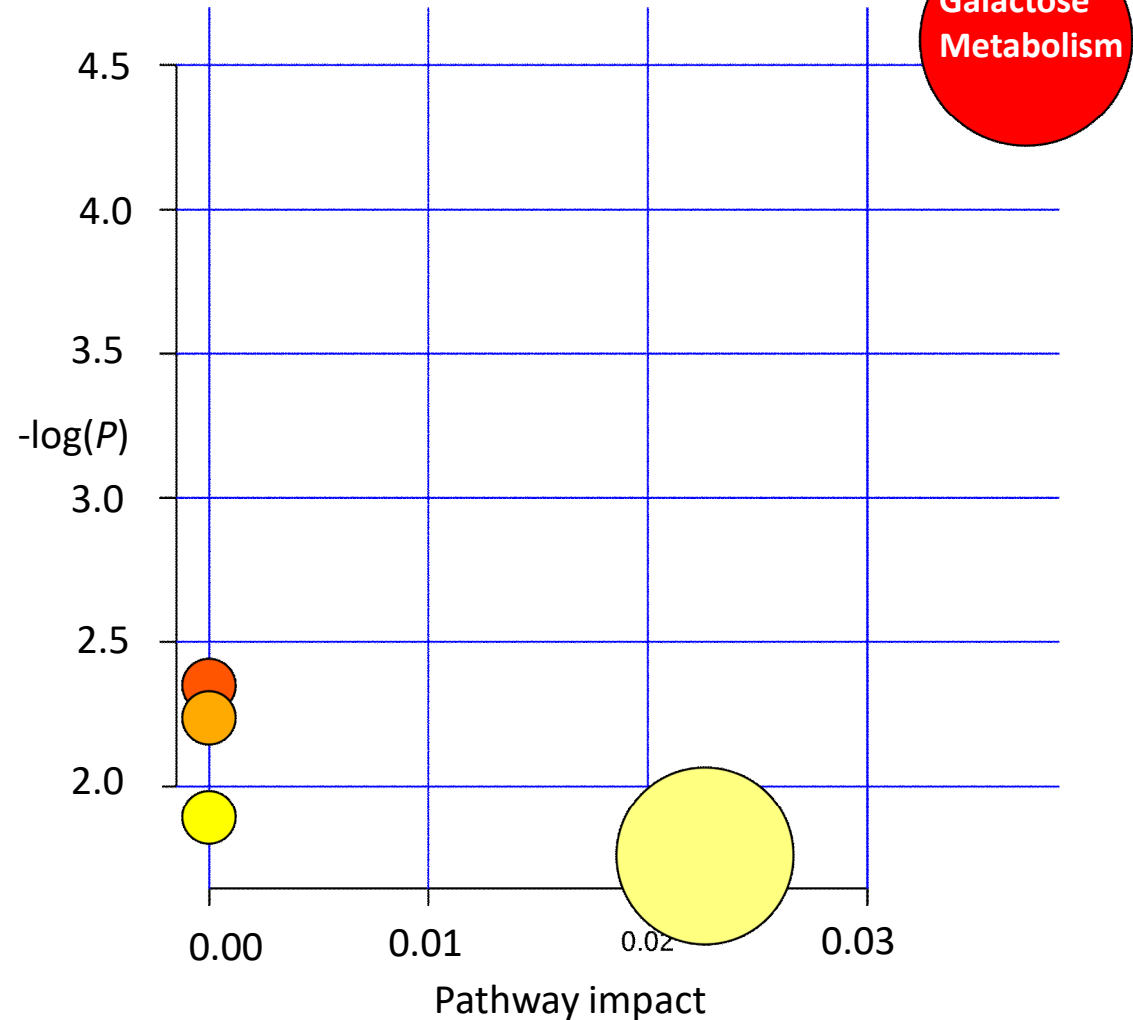


RESULTATS MAJEURS

- Composés différentiels: Métabolomique ciblée sur les carbohydrates et les intermédiaires du cycle TCA. Analyse GC-SM.

Analyse d'enrichissement de la voie métabolique

Compound name	Fold change			
	Summer	Spring	Spring/Summer	
	E/C	E/C	C	E
Lactic acid	1.0	1.6	0.7	0.4
Oxalic acid	1.8	1.2	0.4	0.6
Succinic acid	1.0	1.2	0.4	0.4
Pyroglutamic acid	1.8	2.1	1.3	1.1
Xylulose	0.9	1.8	9.8	4.9
Sorbitol	1.4	1.1	2.1	2.5
Sucrose	1.1	1.1	0.6	0.6
Quinic acid	0.8	0.6	0.6	0.8
Malic acid	1.6	1.3	1.2	1.5
Gallic acid	1.0	1.6	0.6	0.4
Catechin	0.5	0.5	0.3	0.3



EN RESUME.....

- ❑ Construction et annotation du transcriptome de référence de *Q. pubescens*. Une avancée majeure dans la connaissance de la biologie, de la génétique, de la chimie et de l'évolution des arbres chez le genre *Quercus*.
- ❑ La réponse à la sécheresse est multigénique: 42 gènes candidats identifiés nécessitant des analyses fonctionnelles approfondies.
- ❑ L'efficacité quantique maximale et le rendement quantique actuel de PSII ne changent pas avec l'aridification du climat (dans les limites de l'expérience). Cette absence de variation est en réalité le fait de la mise en place de mécanismes compensatoires associés au quenching non-photochimique, à la teneur en caroténoïdes totaux et en CP24 (protéine de l'antenne mineure de PSI).
- ❑ Le déficit hydrique active préférentiellement la voie du métabolisme du galactose.

AUTOEVALUATION

- ☐ Réalisation de tous les objectifs initiaux
- ☐ Multidisciplinarité: Ecologie – Physiologie végétale – Ecophysiologie – Biophysique – Biochimie – Génomique – Bioinformatique
- ☐ Séquençage haut débit réalisé à la plateforme du TGML, soutenu par des subventions de l'Inserm, du GIS IBiSA, Aix-Marseille Université et l'ANR-10-INBS-0009-10. Responsable: Béatrice Loriod.
- ☐ Modélisation: peu développée dans le projet

EVOLUTION DU PROJET

❑ Appels d'offre: Transcriptome du tissu racinaire de *Quercus pubescens* en réponse au changement climatique

❑ ANR

❑ Appels à projets internationaux : ERA-NET sur l'évaluation des impacts climatiques crossectoriels et les chemins pour une transformation durable (AXIS).

❑ Extension éventuelle des collaborations: modélisation et sciences sociales

PUBLICATIONS

2017.A. Ungaro, N. Pech, J.F. Martin, R. J. Scott McCairns, **J.P. Mevy**, R. Chappaz, A. Gilles. Challenges and advances for transcriptome assembly in non-Model species. PLOS ONE. doi.org/10.1371/journal.pone.0185020.

2018. **J.P. MEVY, B. Loriod**, N. Fernandez, **X. Liu, E. Corre**, M. Torres, A. Haguénauer, B. Fady, **C. Fernandez** and **T. Gauquelin**. De novo assembly of *Quercus pubescens* Wild. transcriptome and identification of differential genes involved in response to climate change (En preparation).

2018. **J.P. MEVY, A. Crépin** and **S. Caffari**. PSII photochemistry and *Quercus pubescens* Wild. response to drought (En preparation)

2018. Xi Liu, Béatrice Loriod, Stefano Caffarri, Erwan Corre, Jean-Philippe Mevy. Le transcriptome du Chêne pubescent en réponse au Changement Climatique. Journées Ouvertes en Biologie, Informatique et Mathématiques (JOBIM). 3-6 juillet 2018, Marseille.



Merci pour votre attention

Observatoire de Haute-Provence

