



Proposition d'un sujet de stage au M2 ADAM (2017-2018)

Titre	Signalisation précoce en réponse aux facteurs Nods chez <i>Medicago truncatula</i> : caractérisation d'acteurs clés impliqués dans la production et la régulation d'espèces actives de l'oxygène									
Encadrant 1 (tel + mail)	Clare GOUGH (05 61 28 54 63 ; Clare.Gough@inra.fr)									
Encadrant 2	Nicolas PAULY (05 61 28 50 50; Nicolas.Pauly@inra.fr)									
Equipe(s)	Equipe 'signalisation symbiotique', LIPM http://www6.toulouse.inra.fr/lipm/Recherche/Signalisation-symbiotique									
Résumé	<p>La synthèse de facteurs Nod (NFs) par les rhizobia est essentielle à l'établissement de la symbiose rhizobienne chez les légumineuses. La perception des NFs chez la plante modèle <i>Medicago truncatula</i> est dépendante de récepteurs kinase membranaires à motifs lysin (LysM-RLK) tel que NOD FACTOR PERCEPTION (NFP). Dès leur perception, de nombreuses réponses cellulaires rapides ont été décrites telles que la dépolarisation de la membrane plasmique, l'entrée de calcium (Ca²⁺) ou encore la synthèse d'espèces actives de l'oxygène (EAOs). Cependant, tous les acteurs de cette signalisation précoce n'ont pas encore tous été identifiés ni définis. A l'aide d'une approche multidisciplinaire et des nombreux outils déjà disponibles, les objectifs de ce stage viseront à :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Caractériser les signaux EAOs en réponses aux NFs. A l'aide de différentes méthodes de détection (colorimétrie, fluorimétrie, microscopie confocale – Fig. 1), les EAOs seront mesurées chez des plantes sauvages, mutantes (perte de fonction de LysM-RLK...) en réponses aux différents NFs disponibles dans l'équipe. Cela permettra de définir les acteurs clés des premières étapes de perception. 2) Préciser l'interaction physique entre LysM-RLK et RBOH. Des données préliminaires obtenues par FRET-FLIM mettent en évidence une interaction physique entre une RESPIRATORY BURST OXIDASE HOMOLOGUE (RBOH ; enzyme responsable de la production d'EAOs chez les végétaux) et NFP. Ainsi, après validation de ces résultats, le travail sera élargi aux autres candidats (LysM-RLK, MtrRBOHs) qui auront été mis en évidence précédemment. 3) Définir le(s) rôle(s) biologique(s) de ces acteurs dans l'établissement de la symbiose rhizobienne. Des expériences de dérégulation <i>in planta</i> (amiRNA) ont d'ores et déjà mis en évidence un rôle de MtrRBOHs dans la mise en place de la symbiose rhizobienne. A l'aide des lignées mutantes 'perte de fonction', une caractérisation plus minutieuse des phénotypes symbiotiques sera réalisée. <p>Ces travaux apporteront un éclairage nouveau sur les mécanismes de perception et de transduction des facteurs Nod chez <i>M. truncatula</i>.</p>									
Photo	<p>Quantification de la production d'EAOs dans les poils absorbants de plantes sauvages (control) ou mutantes (<i>rboh</i>f).</p> <p>Après marquage des racines avec une sonde fluorescente spécifique des EAOs, des observations en microscopie confocale sont réalisées et les signaux de fluorescence sont quantifiés (% contrôle)</p> <table border="1"> <caption>Quantification de la production d'EAOs dans les poils absorbants</caption> <thead> <tr> <th>Groupe</th> <th>% root hair apoplast ROS signal</th> <th>n</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>control</td> <td>100%</td> <td>14</td> </tr> <tr> <td><i>rboh</i>f</td> <td>~60%</td> <td>12</td> </tr> </tbody> </table>	Groupe	% root hair apoplast ROS signal	n	control	100%	14	<i>rboh</i> f	~60%	12
Groupe	% root hair apoplast ROS signal	n								
control	100%	14								
<i>rboh</i> f	~60%	12								