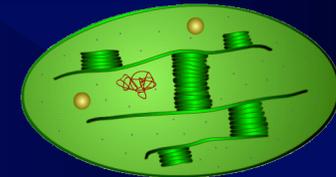


Acclimatation à l'intensité lumineuse de croissance

Apports de l'étude d'un mutant mitochondrial de *Nicotiana sylvestris*.



Problématique « Lumière »

- Non uniforme dans la biosphère.
- Rôle très important dans l'hétérogénéité de répartition des végétaux.
- Plantes adaptées aux conditions de forte/faible luminosité (héliophiles/sciaphiles)
(sur un même individu, feuilles d'ombre et des feuilles de lumière).



Acclimatation ???

Acclimatation à l'intensité lumineuse ?

L'acclimatation consistera dès lors en une régulation du métabolisme et de la photosynthèse en réponse aux conditions de l'environnement par plasticité phénotypique, visant à optimiser l'équilibre entre l'absorption de la lumière et son utilisation.

Walters a écrit en 2003 que malgré une bonne caractérisation de l'acclimatation en terme de composition et de fonction de l'appareil photosynthétique, peu de choses sont connues quant aux mécanismes par lesquels elle est régulée.



Implication de la mitochondrie ?

Acclimatation et mitochondrie ?

L'existence d'interactions entre le fonctionnement des mitochondries et le métabolisme photosynthétique a été largement démontrée.

Hoefnagel et al., 1998; Raghavendra et Padmasree, 2003; Gardeström, 2004



Utilisation du mutant mitochondrial de *Nicotiana sylvestris*.

Mutant CMSII de *Nicotiana sylvestris*



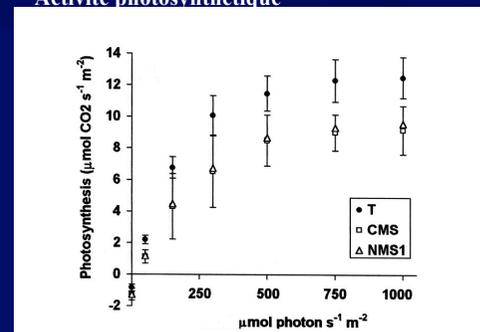
Délétion au niveau de l'ADNmt conduisant à l'absence de complexe I de la chaîne respiratoire.



Nombreuses conséquences phénotypiques et physiologiques

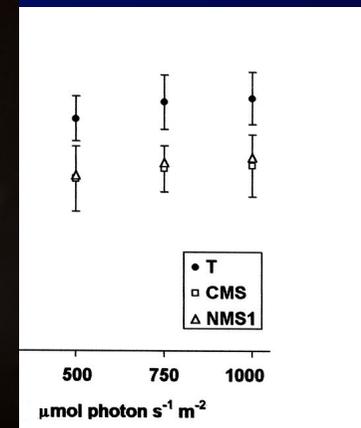


Activité photosynthétique



(Sabar *et al.*, 2000)

Mutant CMSII de *Nicotiana sylvestris*

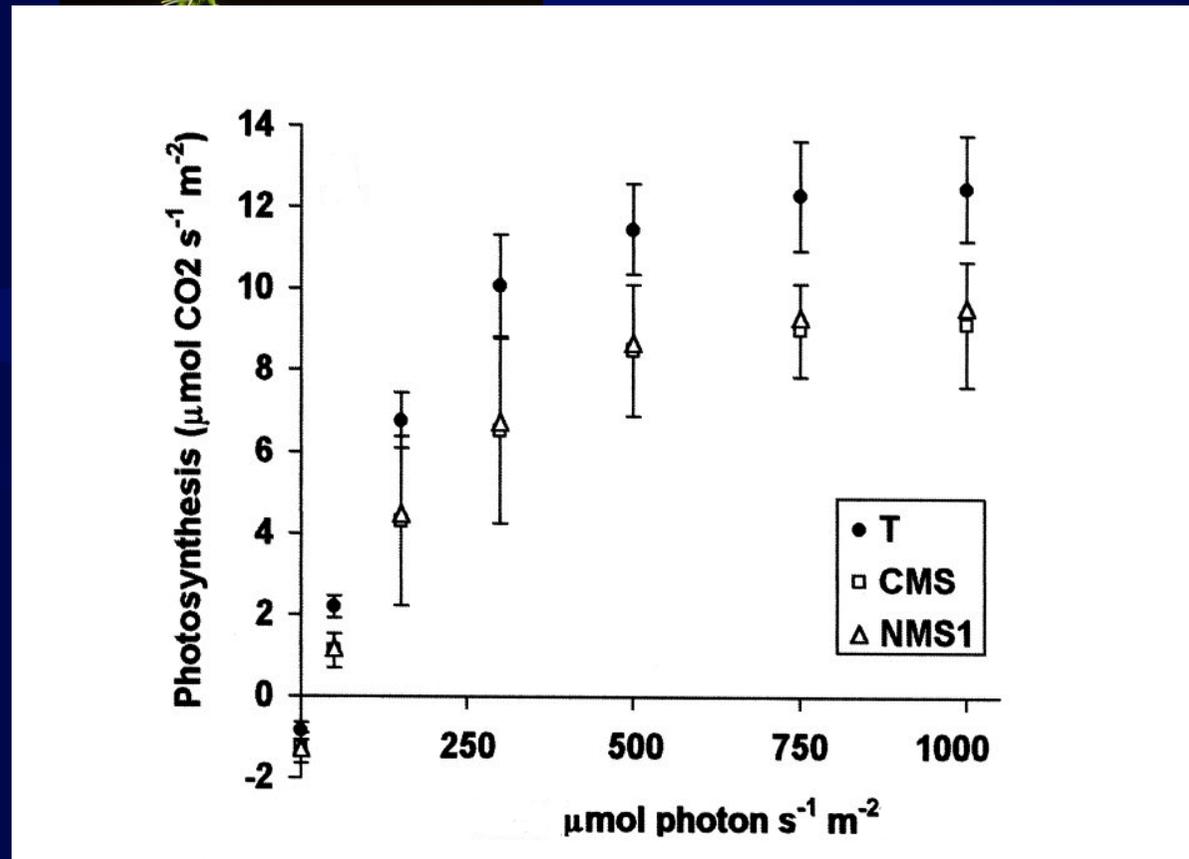


(Sabar *et al.*, 2000)



Mutant CMSII de *Nicotiana sylvestris*

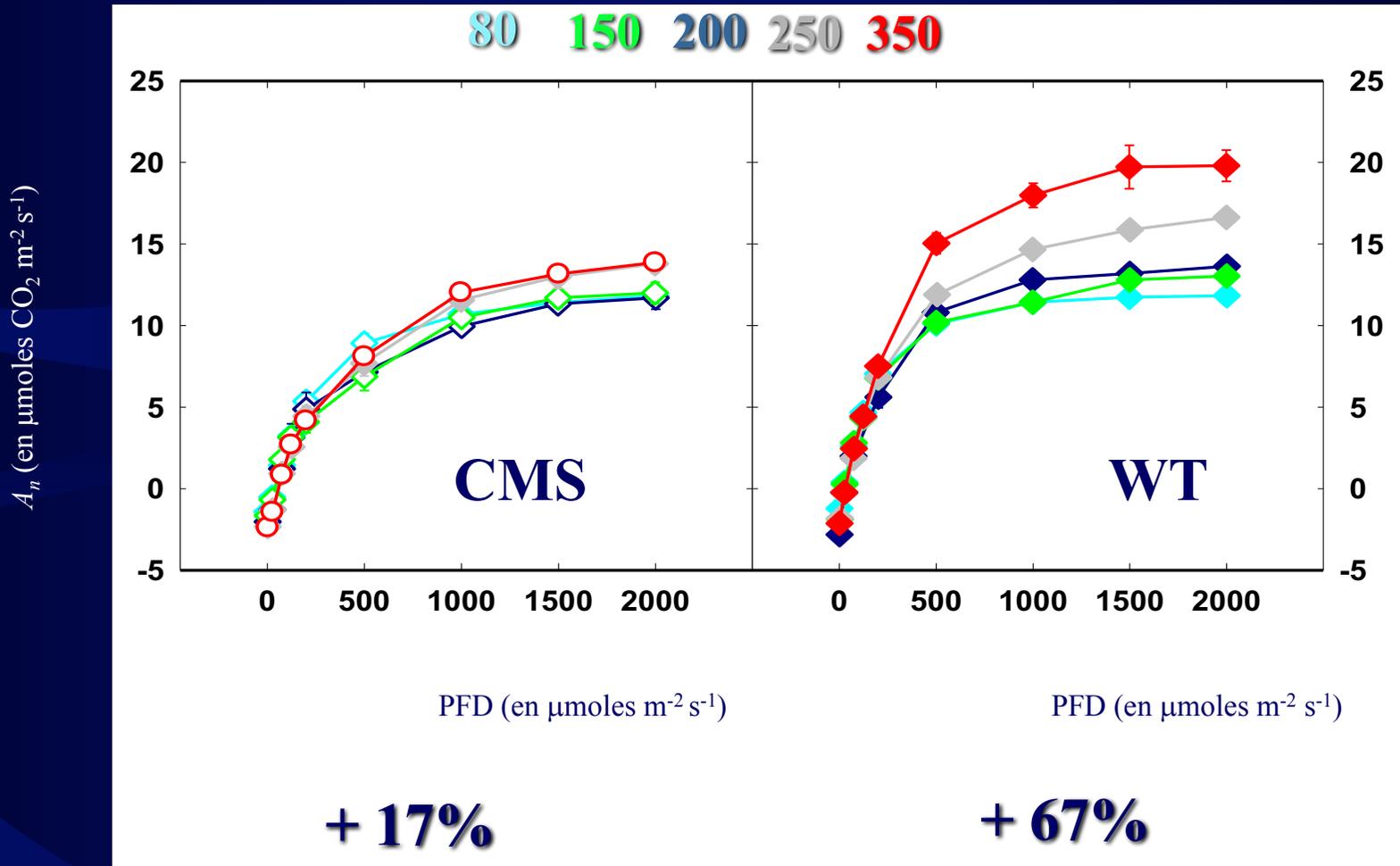
Activité photosynthétique



(Sabar *et al.*, 2000)



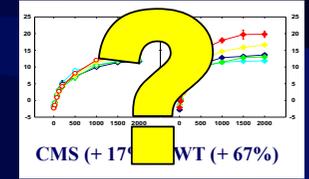
Assimilation nette de CO₂



Assimilation nette de CO₂

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Age (weeks)	12-15	6-9	15-18	10-12
Surface (cm ²)	198,5 ± 7,81 ^a	149,6 ± 10,22 ^b	95,25 ± 3,33 ^c	92,7 ± 6,49 ^c
Prot. solubles (g m ⁻²)	1,08 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,07 ^b	1,4 ± 0,06 ^c	2,25 ± 0,1 ^d
Poids Frais (g m ⁻²)	253,43 ± 2,47 ^a	273,49 ± 6,35 ^a	260,39 ± 9,87 ^a	333,77 ± 5,13 ^b
Poids Sec (g m ⁻²)	22,99 ± 1,02 ^a	34,47 ± 1,39 ^b	21,22 ± 1,73 ^c	46,55 ± 2,52 ^c
<i>A_{n max}</i> (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32^a	19,8 ± 0,95^b	11,82 ± 0,45^a	13,87 ± 0,45^c
LSA (m ² g ⁻¹)	0,043 ^a	0,028 ^b	0,047 ^a	0,022 ^c
Chl totales (g m ⁻²)	0,27 ± 0,01 ^a	0,52 ± 0,09 ^b	0,44 ± 0,05 ^{ab}	0,45 ± 0,06 ^b
Chl a/b	3,44 ± 0,06 ^a	3,68 ± 0,05 ^b	3,45 ± 0,1 ^a	3,44 ± 0,03 ^a
PCL (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	21,0 ± 5,0 ^a	33,3 ± 1,5 ^b	37,4 ± 6,2 ^b	59,0 ± 2,0 ^c
RQ	0,049 ± 0,003 ^a	0,061 ± 0,003 ^b	0,038 ± 0,002 ^c	0,045 ± 0,003 ^{ac}
<i>A_{n max}</i> (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32 ^a	19,8 ± 0,95 ^b	11,82 ± 0,45 ^a	13,87 ± 0,45 ^c
<i>ETR_{max}</i> (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	80,75 ± 4,21 ^a	143,87 ± 8,13 ^b	92,52 ± 2,74 ^a	126,32 ± 5,97 ^b

Problématique

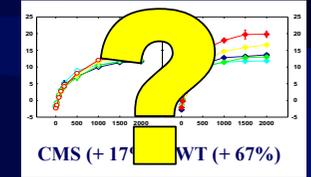


L'assimilation nette de CO₂ mesurée à lumière saturante est identique pour les plantes WT CMS cultivées sous faible éclairement, alors qu'elle est **plus faible chez les plantes CMS comparativement aux plantes WT lorsqu'elles sont cultivés sous plus fort éclairement.**



Mitochondries (complexe I) est impliquée dans l'ajustement de l'assimilation nette de CO₂ à l'intensité lumineuse de croissance.

Hypothèses de travail



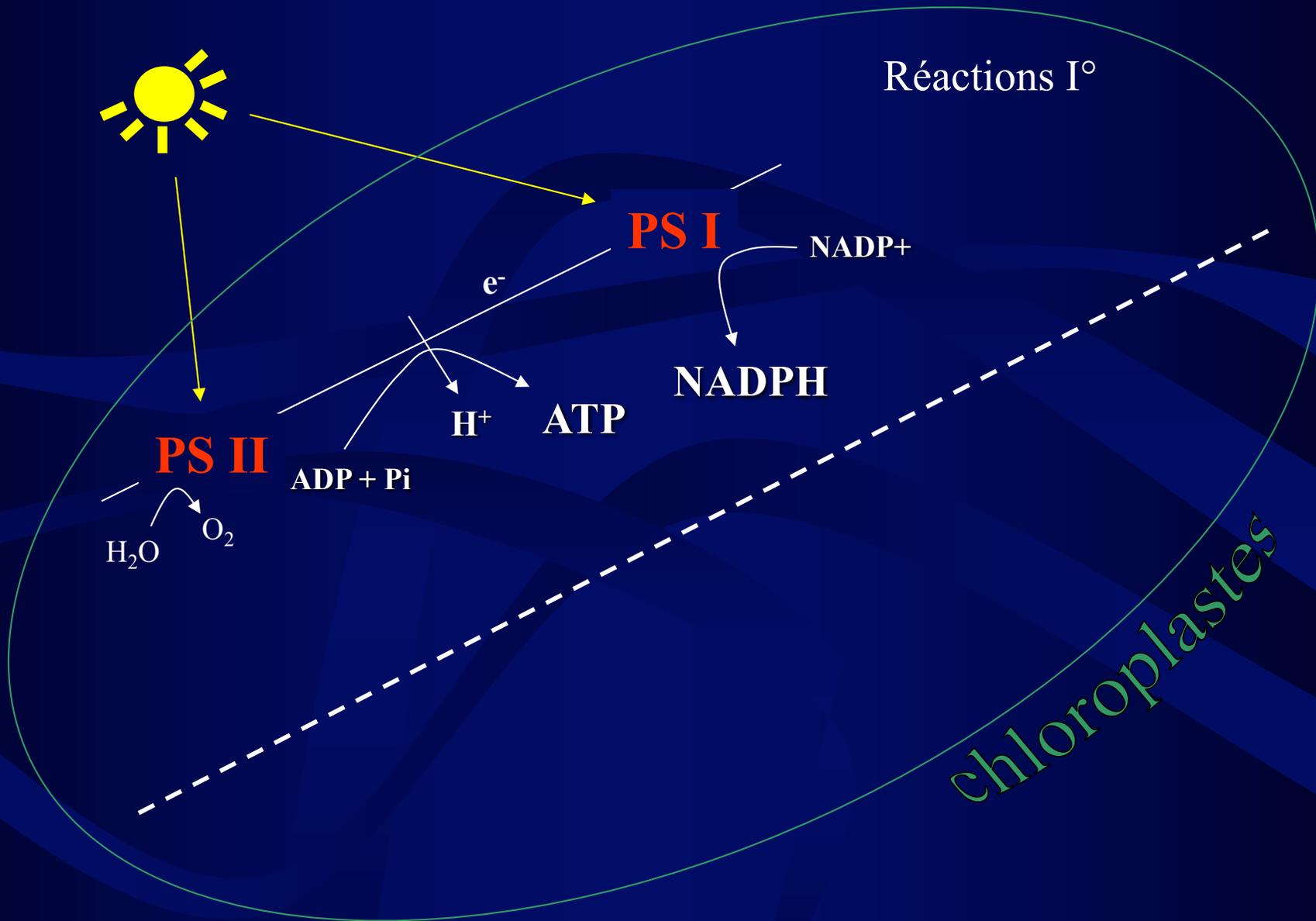
Démarche:

Identifier les causes de ce non ajustement de l'assimilation nette à l'augmentation de l'intensité lumineuse de croissance chez le mutant.

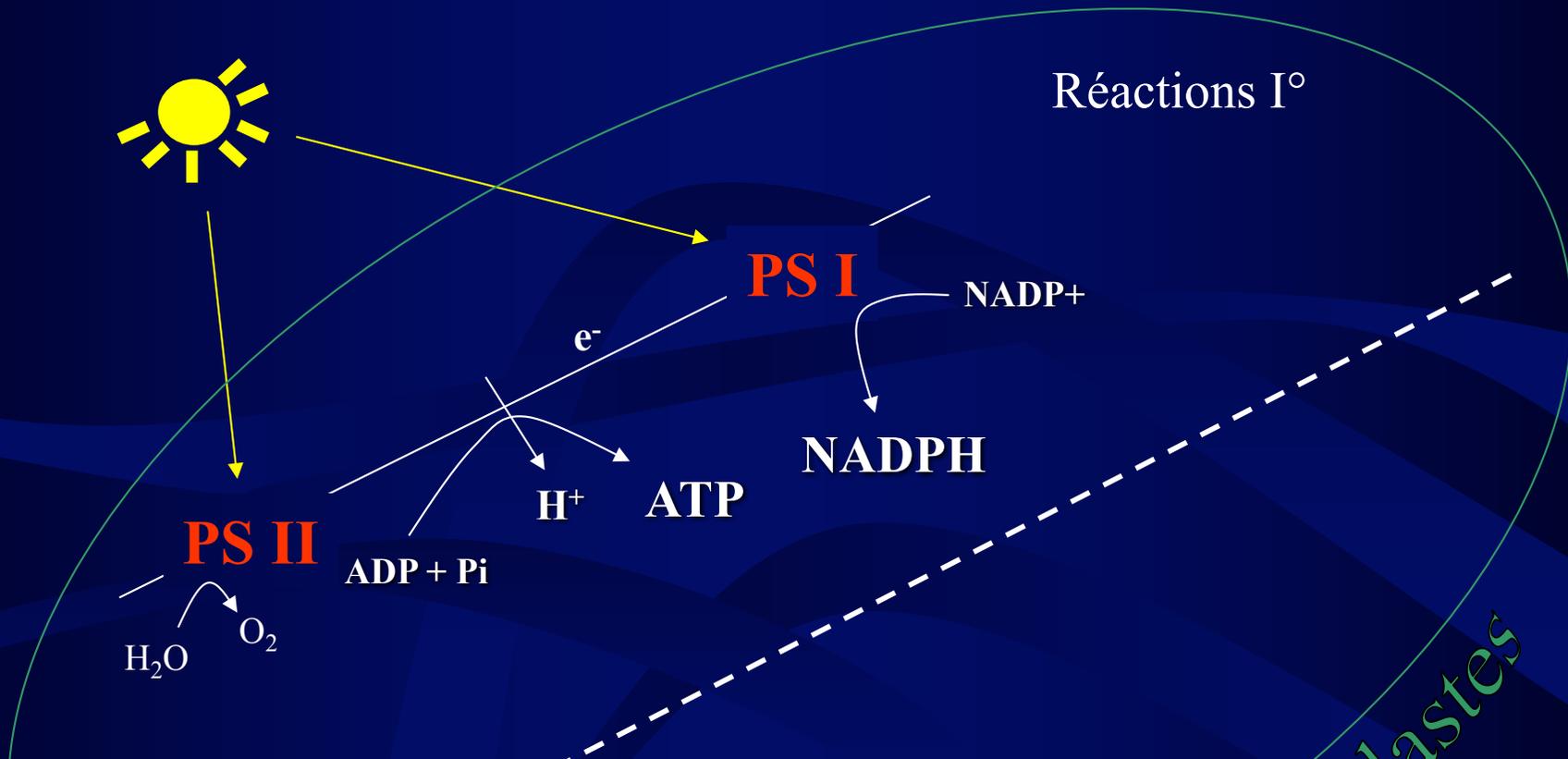


Réactions primaires (I°) et secondaires (II°) de la photosynthèse ?

Réactions I°

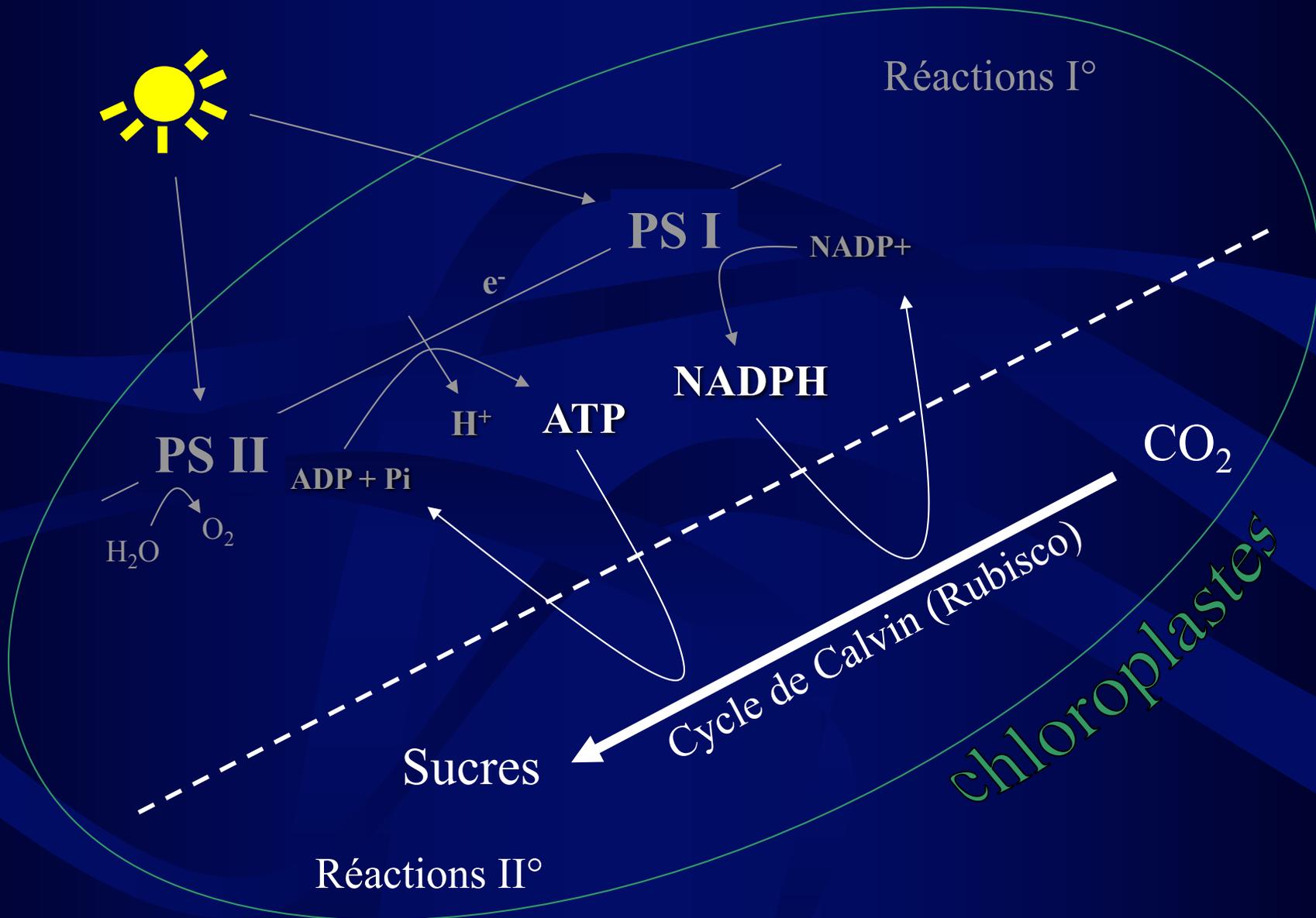


Réactions I°

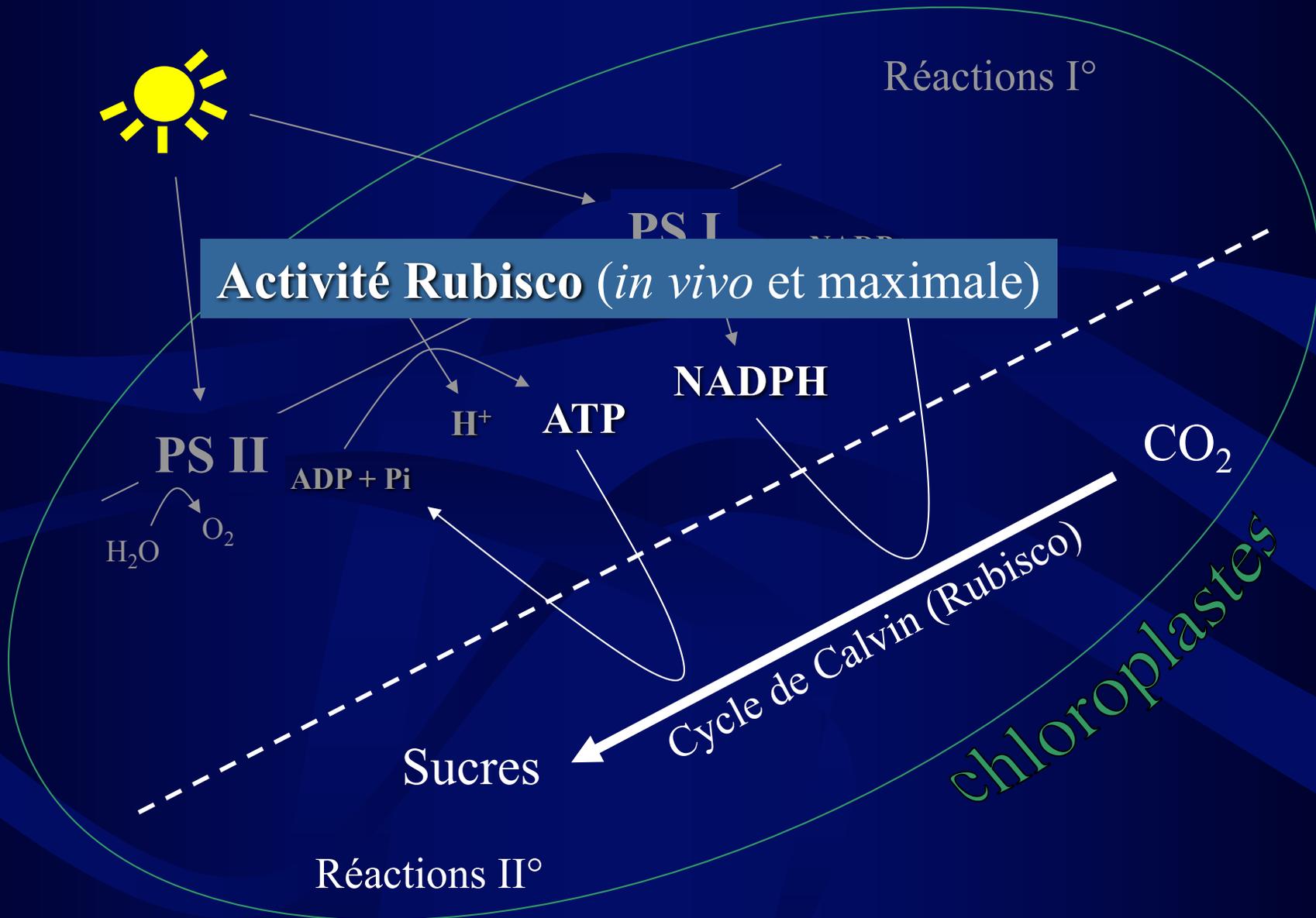


- **Absorption** (propriétés optiques, contenu quantitatif et qualitatif en pigments assimilateurs)
- **Transport électronique**

Réactions II°



Réactions II°



Réactions I°: les chlorophylles

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Age (weeks)	12-15	6-9	15-18	10-12
Surface (cm ²)	198,5 ± 7,81 ^a	149,6 ± 10,22 ^b	95,25 ± 3,33 ^c	92,7 ± 6,49 ^c
Prot. solubles (g m ⁻²)	1,08 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,07 ^b	1,4 ± 0,06 ^c	2,25 ± 0,1 ^d
Poids Frais (g m ⁻²)	253,43 ± 2,47 ^a	273,49 ± 6,35 ^a	260,39 ± 9,87 ^a	333,77 ± 5,13 ^b
Poids Sec (g m ⁻²)	22,99 ± 1,02 ^a	34,47 ± 1,39 ^b	21,22 ± 1,73 ^a	46,55 ± 2,52 ^c
Chl totales (g m⁻²)	0,27 ± 0,01^a	0,52 ± 0,09^b	0,44 ± 0,05^{ab}	0,45 ± 0,06^b
Chl a/b	3,44 ± 0,06^a	3,68 ± 0,05^b	3,45 ± 0,1^a	3,44 ± 0,03^a
PCL (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	21,0±5,0 ^a	33,3±1,5 ^b	37,4±6,2 ^b	59,0±2,0 ^c
RQ	0,049±0,003 ^a	0,061±0,003 ^b	0,038±0,002 ^c	0,045±0,003 ^{ac}
<i>A_nmax</i> (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32 ^a	19,8 ± 0,95 ^b	11,82 ± 0,45 ^a	13,87 ± 0,45 ^c
<i>ETR_{max}</i> (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	80,75 ± 4,21 ^a	143,87 ± 8,13 ^b	92,52 ± 2,74 ^a	126,32 ± 5,97 ^b

Réactions I°: les chlorophylles

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Age (weeks)	12-15	6-9	15-18	10-12
Surface (cm ²)	198,5 ± 7,81 ^a	149,6 ± 10,22 ^b	95,25 ± 3,33 ^c	92,7 ± 6,49 ^c
Prot. solubles (g m ⁻²)	1,08 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,07 ^b	1,4 ± 0,06 ^c	2,25 ± 0,1 ^d
Poids Frais (g m ⁻²)	253,43 ± 2,47 ^a	273,49 ± 6,35 ^a	260,39 ± 9,87 ^a	333,77 ± 5,13 ^b
Poids Sec (g m ⁻²)	22,99 ± 1,02 ^a	34,47 ± 1,39 ^b	21,22 ± 1,73 ^a	46,55 ± 2,52 ^c
Chl totales (g m⁻²)	0,27 ± 0,01^a	0,52 ± 0,09^b	0,44 ± 0,05^{ab}	0,45 ± 0,06^b
Chl a/b	3,44 ± 0,06^a	3,68 ± 0,05^b	3,45 ± 0,1^a	3,44 ± 0,03^a
PCL (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	21,0±5,0 ^a	33,3±1,5 ^b	37,4±6,2 ^b	59,0±2,0 ^c
RQ	0,049±0,003 ^a	0,061±0,003 ^b	0,038±0,002 ^c	0,045±0,003 ^{ac}
<i>A_{n max}</i> (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32 ^a	19,8 ± 0,95 ^b	11,82 ± 0,45 ^a	13,87 ± 0,45 ^c
<i>ETR_{max}</i> (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	80,75 ± 4,21 ^a	143,87 ± 8,13 ^b	92,52 ± 2,74 ^a	126,32 ± 5,97 ^b

Réactions I°: les chlorophylles

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Age (weeks)	12-15	6-9	15-18	10-12
Surface (cm ²)	198,5 ± 7,81 ^a	149,6 ± 10,22 ^b	95,25 ± 3,33 ^c	92,7 ± 6,49 ^c
Prot. solubles (g m ⁻²)	1,08 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,07 ^b	1,4 ± 0,06 ^c	2,25 ± 0,1 ^d
Poids Frais (g m ⁻²)	253,43 ± 2,47 ^a	273,49 ± 6,35 ^a	260,39 ± 9,87 ^a	333,77 ± 5,13 ^b
Poids Sec (g m ⁻²)	22,99 ± 1,02 ^a	34,47 ± 1,39 ^b	21,22 ± 1,73 ^a	46,55 ± 2,52 ^c
Chl totales (g m⁻²)	0,27 ± 0,01^a	0,52 ± 0,09^b	0,44 ± 0,05^{ab}	0,45 ± 0,06^b
Chl a/b	3,44 ± 0,06^a	3,68 ± 0,05^b	3,45 ± 0,1^a	3,44 ± 0,03^a
PCL (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	21,0±5,0 ^a	33,3±1,5 ^b	37,4±6,2 ^b	59,0±2,0 ^c
RQ	0,049±0,003 ^a	0,061±0,003 ^b	0,038±0,002 ^c	0,045±0,003 ^{ac}
<i>A_nmax</i> (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32 ^a	19,8 ± 0,95 ^b	11,82 ± 0,45 ^a	13,87 ± 0,45 ^c
<i>ETR_{max}</i> (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	80,75 ± 4,21 ^a	143,87 ± 8,13 ^b	92,52 ± 2,74 ^a	126,32 ± 5,97 ^b

Réactions I°: les chlorophylles

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Age (weeks)	12-15	6-9	15-18	10-12
Surface (cm ²)	198,5 ± 7,81 ^a	149,6 ± 10,22 ^b	95,25 ± 3,33 ^c	92,7 ± 6,49 ^c
Prot. solubles (g m ⁻²)	1,08 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,07 ^b	1,4 ± 0,06 ^c	2,25 ± 0,1 ^d
Poids Frais (g m ⁻²)	253,43 ± 2,47 ^a	273,49 ± 6,35 ^a	260,39 ± 9,87 ^a	333,77 ± 5,13 ^b
Poids Sec (g m ⁻²)	22,99 ± 1,02 ^a	34,47 ± 1,39 ^b	21,22 ± 1,73 ^a	46,55 ± 2,52 ^c
Chl totales (g m⁻²)	0,27 ± 0,01^a	0,52 ± 0,09^b	0,44 ± 0,05^{ab}	0,45 ± 0,06^b
Chl a/b	3,44 ± 0,06^a	3,68 ± 0,05^b	3,45 ± 0,1^a	3,44 ± 0,03^a
PCL (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	21,0±5,0 ^a	33,3±1,5 ^b	37,4±6,2 ^b	59,0±2,0 ^c
RQ	0,049±0,003 ^a	0,061±0,003 ^b	0,038±0,002 ^c	0,045±0,003 ^{ac}
<i>A_nmax</i> (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32 ^a	19,8 ± 0,95 ^b	11,82 ± 0,45 ^a	13,87 ± 0,45 ^c
<i>ETR_{max}</i> (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	80,75 ± 4,21 ^a	143,87 ± 8,13 ^b	92,52 ± 2,74 ^a	126,32 ± 5,97 ^b

Réactions I°: le transport électronique

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Age (weeks)	12-15	6-9	15-18	10-12
Surface (cm ²)	198,5 ± 7,81 ^a	149,6 ± 10,22 ^b	95,25 ± 3,33 ^c	92,7 ± 6,49 ^c
Prot. solubles (g m ⁻²)	1,08 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,07 ^b	1,4 ± 0,06 ^c	2,25 ± 0,1 ^d
Poids Frais (g m ⁻²)	253,43 ± 2,47 ^a	273,49 ± 6,35 ^a	260,39 ± 9,87 ^a	333,77 ± 5,13 ^b
Poids Sec (g m ⁻²)	22,99 ± 1,02 ^a	34,47 ± 1,39 ^b	21,22 ± 1,73 ^c	46,55 ± 2,52 ^c
<i>ETR</i>_{max} (μmol e⁻ m⁻² s⁻¹)	80,75 ± 4,21^a	143,87 ± 8,13^b	92,52 ± 2,74^a	126,32 ± 5,97^b
LSA (m ² g ⁻¹)	0,043 ^a	0,047 ^b	0,022 ^c	
Chl totales (g m ⁻²)	0,27 ± 0,01 ^a	0,52 ± 0,09 ^b	0,44 ± 0,05 ^{ab}	0,45 ± 0,06 ^b
Chl a/b	3,44 ± 0,06 ^a	3,68 ± 0,05 ^b	3,45 ± 0,1 ^a	3,44 ± 0,03 ^a
PCL (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	21,0 ± 5,0 ^a	33,3 ± 1,5 ^b	37,4 ± 6,2 ^b	59,0 ± 2,0 ^c
RQ	0,049 ± 0,003 ^a	0,061 ± 0,003 ^b	0,038 ± 0,002 ^c	0,045 ± 0,003 ^{ac}
<i>A_n</i> _{max} (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32 ^a	19,8 ± 0,95 ^b	11,82 ± 0,45 ^a	13,87 ± 0,45 ^c
<i>ETR</i> _{max} (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	80,75 ± 4,21 ^a	143,87 ± 8,13 ^b	92,52 ± 2,74 ^a	126,32 ± 5,97 ^b

Réactions I°: le transport électronique

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Age (weeks)	12-15	6-9	15-18	10-12
Surface (cm ²)	198,5 ± 7,81 ^a	149,6 ± 10,22 ^b	95,25 ± 3,33 ^c	92,7 ± 6,49 ^c
Prot. solubles (g m ⁻²)	1,08 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,07 ^b	1,4 ± 0,06 ^c	2,25 ± 0,1 ^d
Poids Frais (g m ⁻²)	253,43 ± 2,47 ^a	273,49 ± 6,35 ^a	260,39 ± 9,87 ^a	333,77 ± 5,13 ^b
Poids Sec (g m ⁻²)	22,99 ± 1,02 ^a	34,47 ± 1,39 ^b	21,22 ± 1,73 ^c	46,55 ± 2,52 ^c
<i>ETR</i>_{max} (μmol e⁻ m⁻² s⁻¹)	80,75 ± 4,21^a	143,87 ± 8,13^b	92,52 ± 2,74^a	126,32 ± 5,97^b
LSA (m ² g ⁻¹)	0,043 ^a	0,047 ^b	0,022 ^c	
Chl totales (g m ⁻²)	0,27 ± 0,01 ^a	0,52 ± 0,09 ^c	0,44 ± 0,05 ^{ab}	0,45 ± 0,06 ^b
Chl a/b	3,44 ± 0,06 ^a	3,68 ± 0,05 ^b	3,45 ± 0,1 ^a	3,44 ± 0,03 ^a
PCL (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	21,0 ± 5,0 ^a	33,3 ± 1,5 ^b	37,4 ± 6,2 ^b	59,0 ± 2,0 ^c
RQ	0,049 ± 0,003 ^a	0,061 ± 0,003 ^b	0,038 ± 0,002 ^c	0,045 ± 0,003 ^{ac}
<i>A_n</i> _{max} (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	11,83 ± 0,32 ^a	19,8 ± 0,95 ^b	11,82 ± 0,45 ^a	13,87 ± 0,45 ^c
<i>ETR</i> _{max} (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	80,75 ± 4,21 ^a	143,87 ± 8,13 ^b	92,52 ± 2,74 ^a	126,32 ± 5,97 ^b

Réactions I°: bilan

Les réactions primaires de la photosynthèse ne semblent pas être limitantes pour l'assimilation nette de CO₂ chez le mutant cultivé sous fort éclairement.

Réactions II°: la Rubisco

Activité maximale (capacité) et activité initiale (*in vivo*)

Réactions II°: la Rubisco

Activité maximale (capacité) et activité initiale (*in vivo*)

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
Act_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	$17,76 \pm 1,44^a$	$27,39 \pm 1,13^b$	$19,19 \pm 1,27^a$	$26,76 \pm 1,59^b$



Réactions II°: la Rubisco

Activité maximale (capacité) et activité initiale (*in vivo*)

	WT 80	WT 350	CMS 80	CMS 350
<i>Act</i> initiale ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	12,09 \pm 1,42 ^a	18,85 \pm 0,9 ^b	10,9 \pm 1,52 ^a	14,49 \pm 2,08 ^a



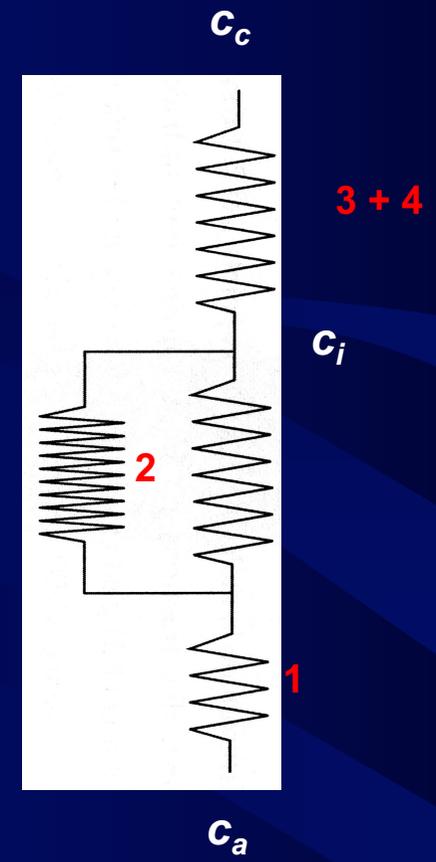
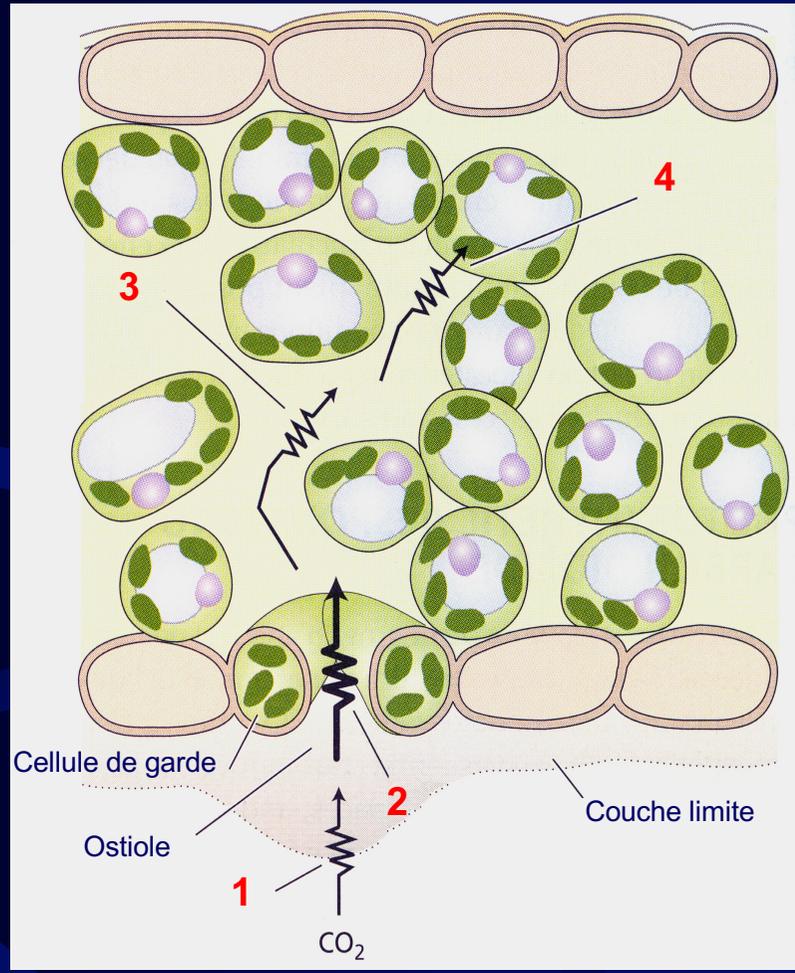
Réactions II°: la Rubisco

-
- Pas de différence en terme de capacité de l'enzyme
 - L'activité initiale de l'enzyme est plus faible chez les plantes CMSII comparativement aux plantes sauvages lorsqu'elles sont cultivées sous fort éclairement.
-

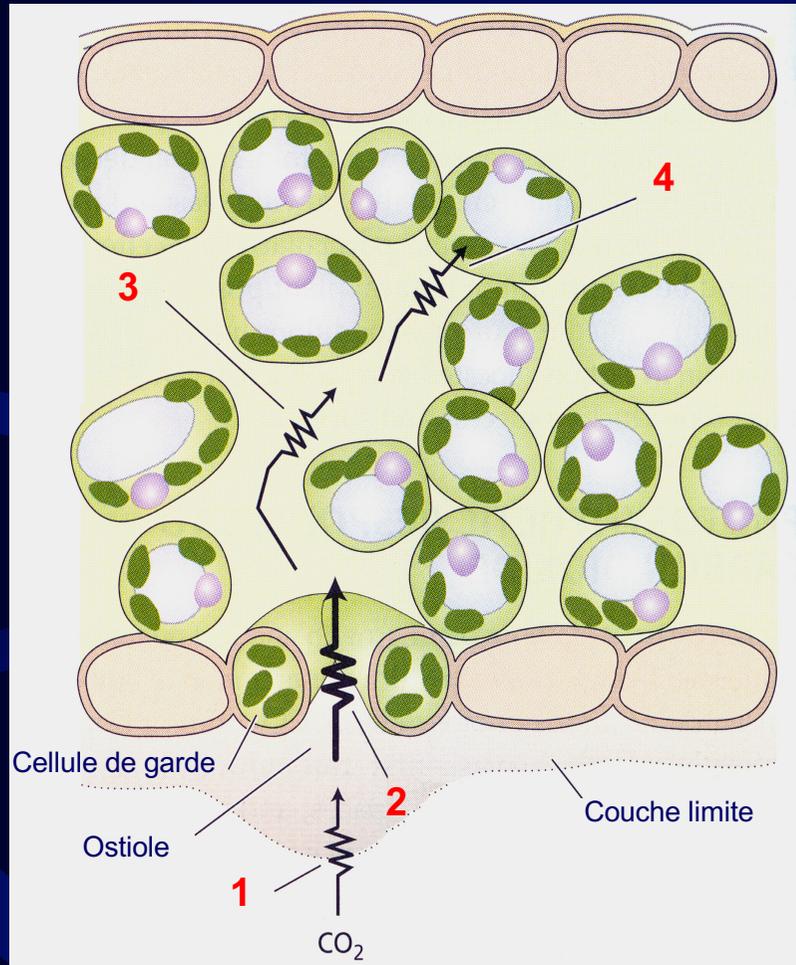
Réactions II°: la Rubisco

-
- Pas de différence en terme de capacité de l'enzyme
 - L'activité initiale de l'enzyme plus faible chez les plantes CMSII comparativement aux plantes sauvages lorsqu'elles sont cultivées sous fort éclairement
-

Limitation au cours de la diffusion du CO₂



Limitation au cours de la diffusion du CO₂



2 limitations potentielles seront envisagées:

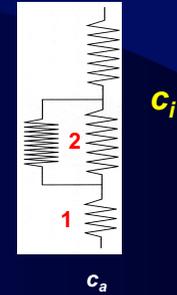
-Limitation stomatique

-Limitation interne

(comprenant la diffusion du CO₂ dans les espaces intercellulaires, la dissolution en phase aqueuse et sa diffusion dans les chloroplastes)

Limitation stomatique ?

→ Estimer c_i



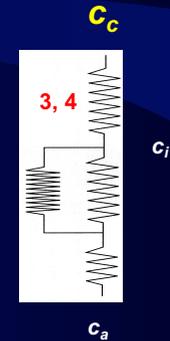
Courbes A/C_i :

Pour un même c_a , c_i identique entre WT et CMS 350

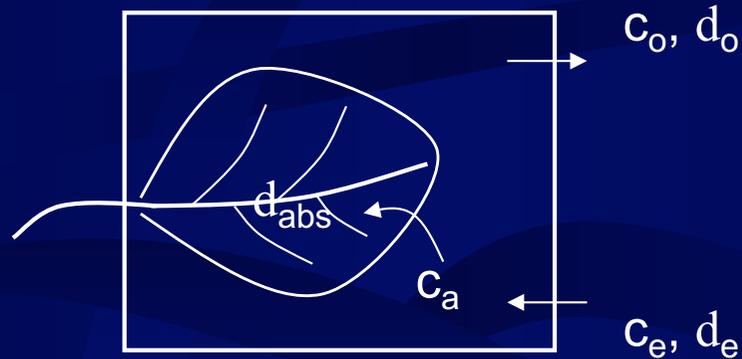
$$A_n = a + (b-a) \cdot p / p_a$$

Conductance interne ?

→ Estimer c_c



Utilisation des isotopes stables de carbone

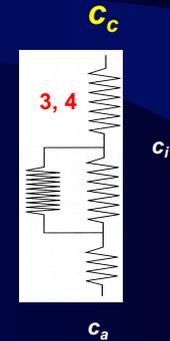


Par comparaison, pour différentes intensités lumineuses incidentes, de la discrimination isotopique observée avec la discrimination théorique basée sur le modèle de Farquhar (1982) tenant compte du rapport des concentrations c_i/c_a et de deux étapes discriminantes de la diffusion du CO_2 (passage de l'atmosphère vers l'intérieur de la feuille, et réaction de carboxylation de la rubisco).

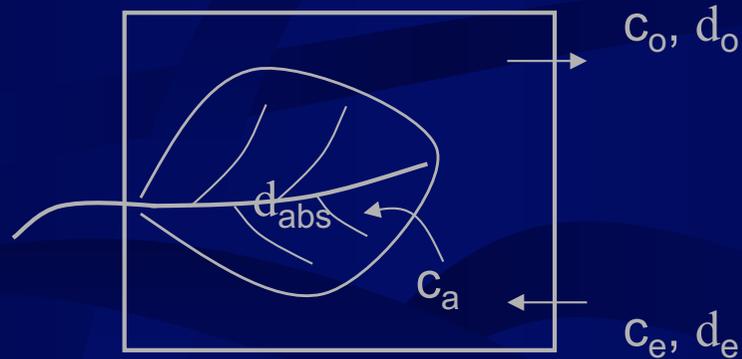
$$A_0 = a + (b - a) \cdot p / p_a$$

Conductance interne ?

→ Estimer c_c



Utilisation des isotopes stables de carbone



La conductance interne mesurée à 400 ppm de CO₂, est deux fois inférieure chez le CMS cultivé sous fort éclaircissement comparativement au sauvage cultivé dans les mêmes conditions.

$$A_n = a + (b - a) \cdot p / p_a$$

Conductance interne ?

La disponibilité en CO₂ au niveau des sites catalytiques de la rubisco à l'intérieur des chloroplastes serait dès lors à l'origine du non ajustement de l'assimilation nette et de l'activité initiale de la Rubisco chez le mutant cultivé sous fort éclairement.



Expérience pour tester cette hypothèse.

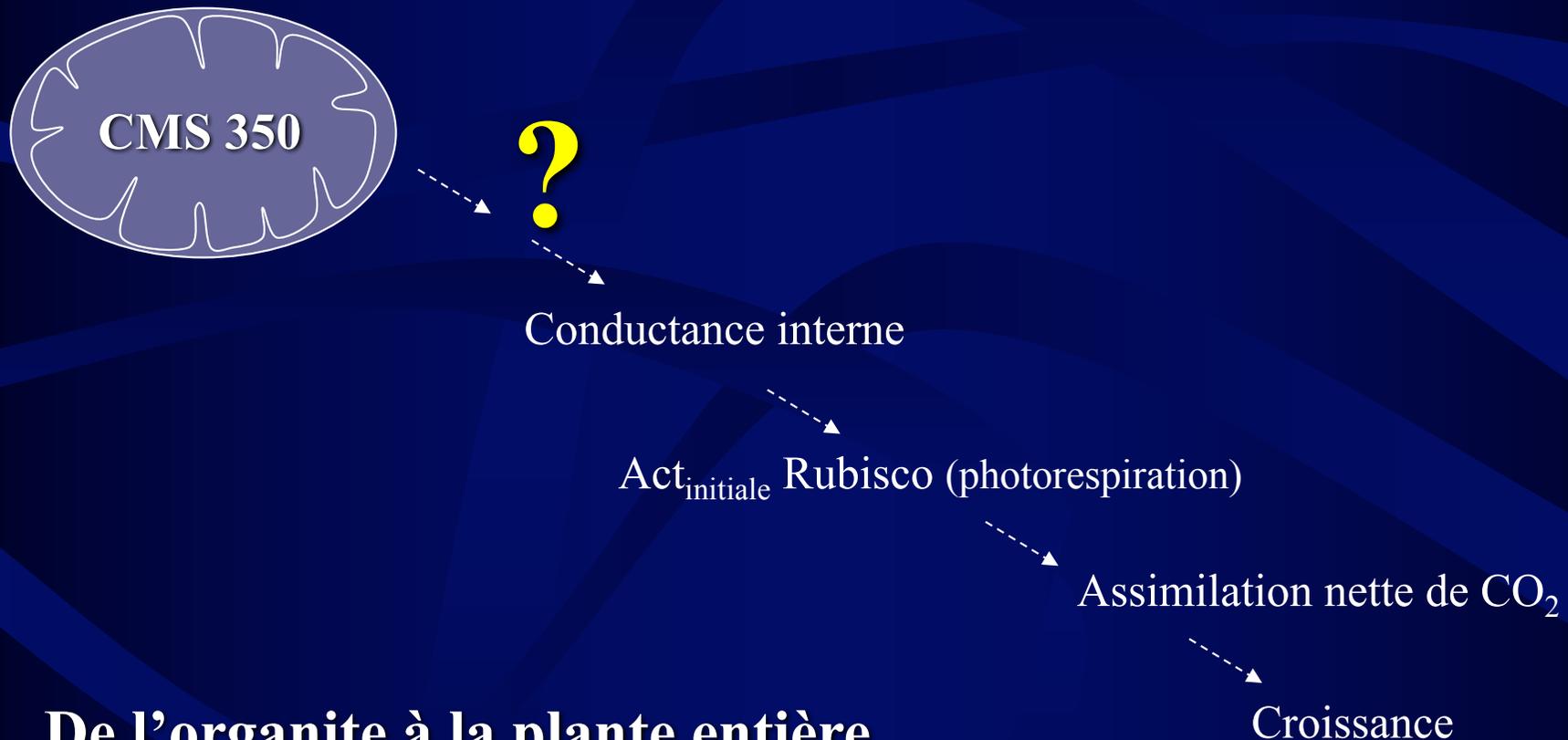
Croissance sous fort CO₂



Diminution du retard de croissance
An nette WT/CMS identique

Conclusions. Mitochondries et Acclimatation ?

Ces résultats montrent que la **fonction mitochondriale est nécessaire pour l'acclimatation des plantes à une plus forte intensité lumineuse de croissance.**



De l'organite à la plante entière ...



Peter Streb

Guillaume Tcherkez

Gabriel Cornic

Jaleh Ghashghaie

et al.



Rosine De Paepe



A l'équipe organisatrice...

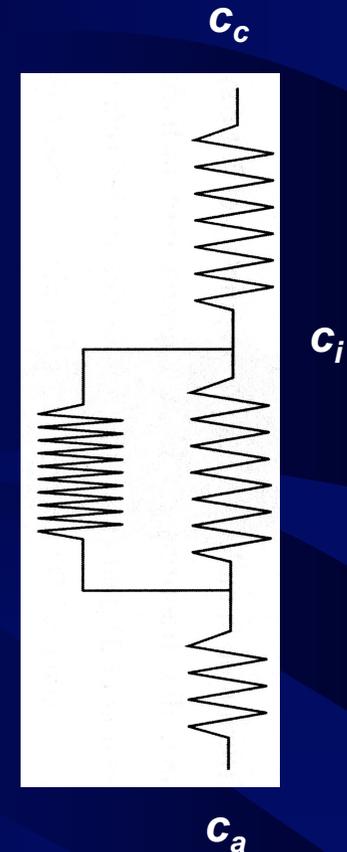
Merci !

Incubation de feuilles sous fort CO₂

A 400 ppm de CO₂ à l'extérieur (c_a), on a déterminé un c_c de 137 et de 200 ppm chez le WT 350 et le CMS 350 respectivement.

Dès lors, connaissant dans ces conditions les conductances interne et stomatique ainsi que la concentration intercellulaire en CO₂ (c_i), et en utilisant la formule ci-dessous,

$$A_n = g_s (c_a - c_i) = g_m (c_i - c_c)$$



Nous pouvons calculer les concentrations en CO₂ c_a à atteindre pour le WT et le CMS afin d'obtenir des c_c respectivement de 137 et 200 ppm.

Une heure d'exposition dans ces conditions induit un parfait ajustement des activités initiales Rubisco des plantes WT et CMS.