



Prix de thèse conjoint AAF-SFBV

Académie d'Agriculture de France 21 septembre 2022

# Localisation, dynamique et rôle des coumarines dans la nutrition en fer chez *Arabidopsis thaliana*

Kévin ROBE



Christian DUBOS et Esther IZQUIERDO ALEGRE  
INRAE, IPSiM (CNRS/INRAE/Institut Agro/Université Montpellier  
Montpellier, France

# La carence en fer chez les plantes





→ 4ème élément le plus abondant dans la croûte terrestre

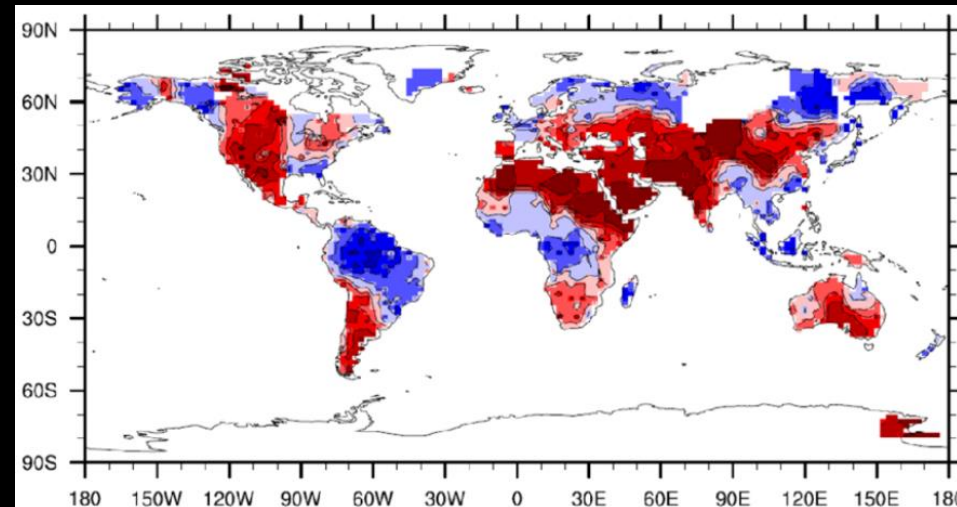


→ Chlorose internervaire



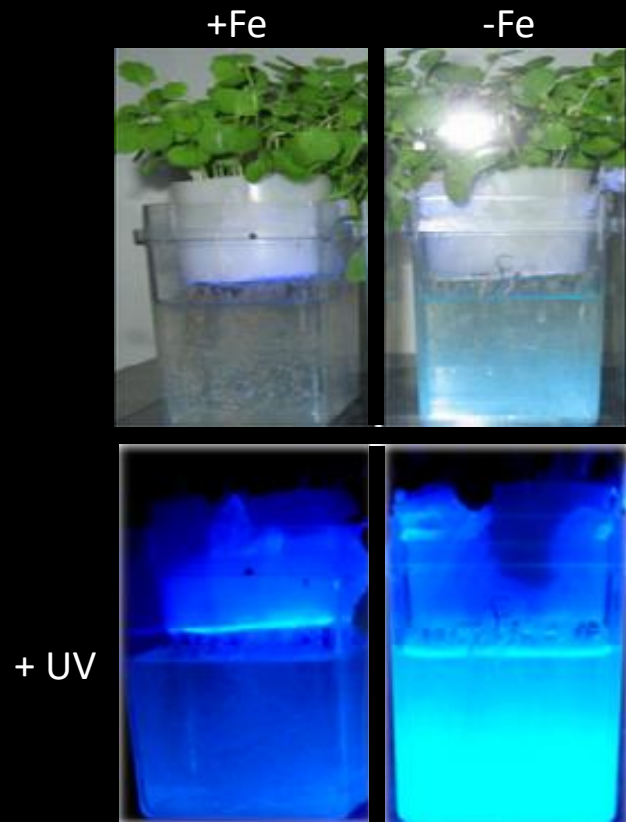
→ Baisse des rendements

 Sols alcalins  
 Sols acides




→ La carence en fer est fréquente dans les sols calcaires, qui représentent 1/3 des surfaces cultivées

# La carence en fer induit la biosynthèse et la sécrétion de coumarines fluorescentes



# La carence en fer induit la biosynthèse et la sécrétion de coumarines fluorescentes

**+Fe**      **-Fe**

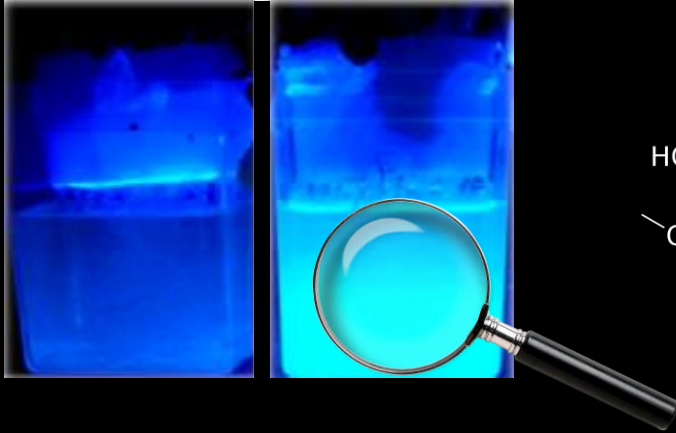


**Coumarines**

COc1cc(O)c2c(c1)oc(=O)c2  
Scopolétine

Oc1cc(O)c2c(c1)oc(=O)c2  
Esculétine

**+ UV**

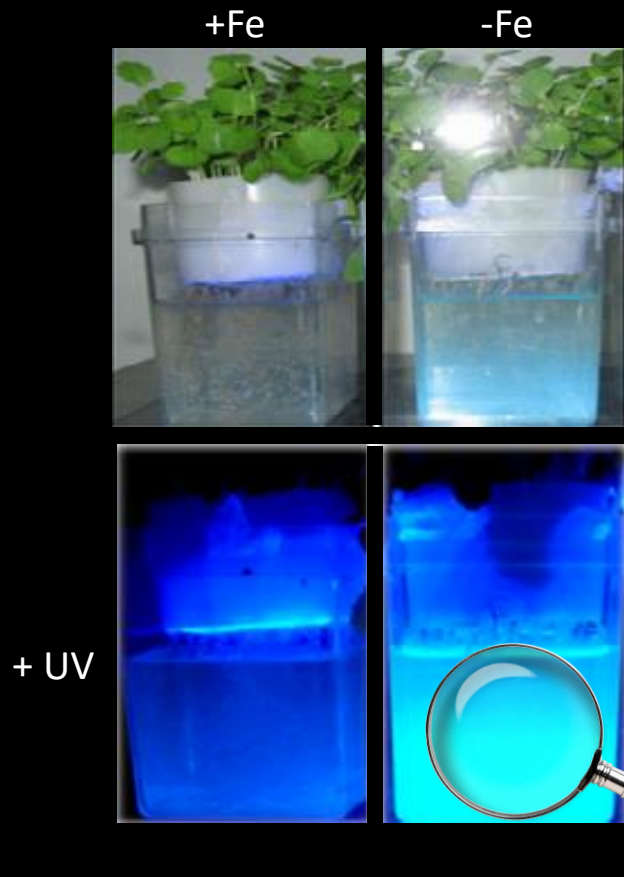


COc1c(O)c(O)c2c(c1)oc(=O)c2  
Fraxétine

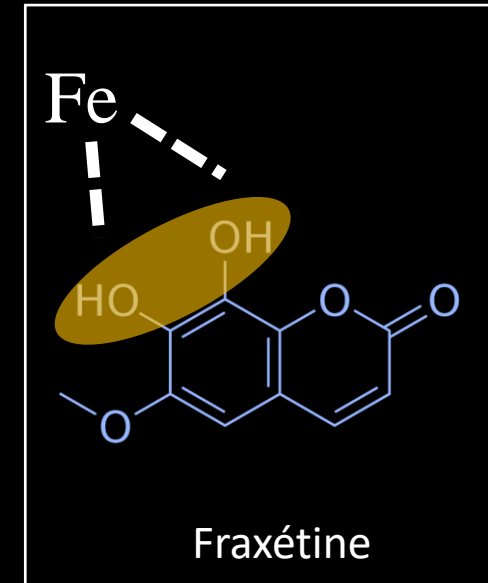
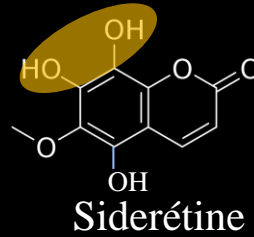
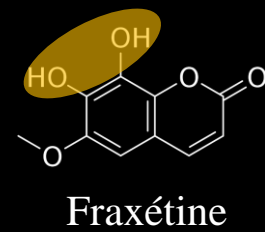
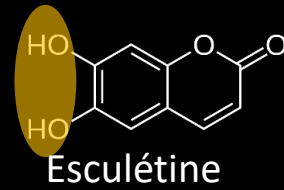
COc1c(O)c(O)c(O)c2c(c1)oc(=O)c2  
Siderétine



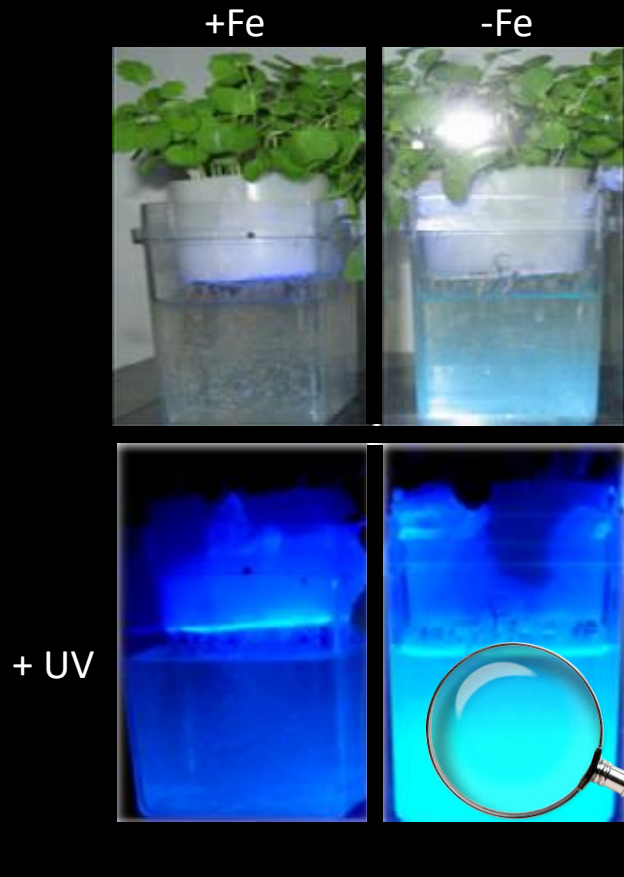
# La carence en fer induit la biosynthèse et la sécrétion de coumarines fluorescentes



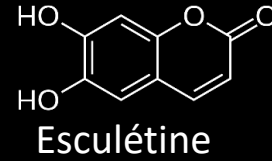
## Coumarines



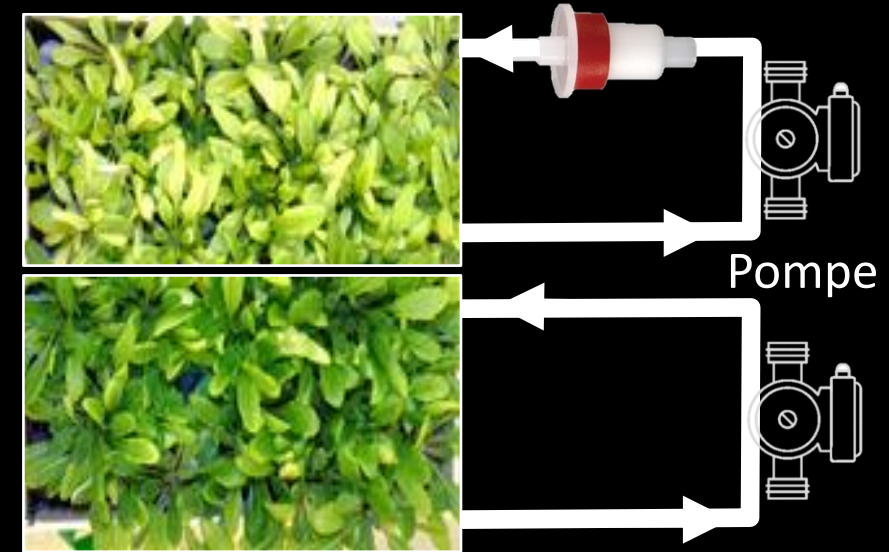
# La carence en fer induit la biosynthèse et la sécrétion de coumarines fluorescentes



## Coumarines




C18 → Piège les coumarines



# La carence en fer induit la biosynthèse et la sécrétion de coumarines fluorescentes

**+Fe**      **-Fe**

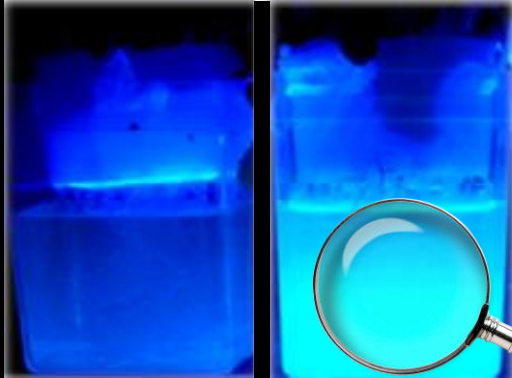


**Coumarines**

COc1cc(O)c2c(c1)oc(=O)cc2  
Scopolétine

Oc1cc(O)c2c(c1)oc(=O)cc2  
Esculétine

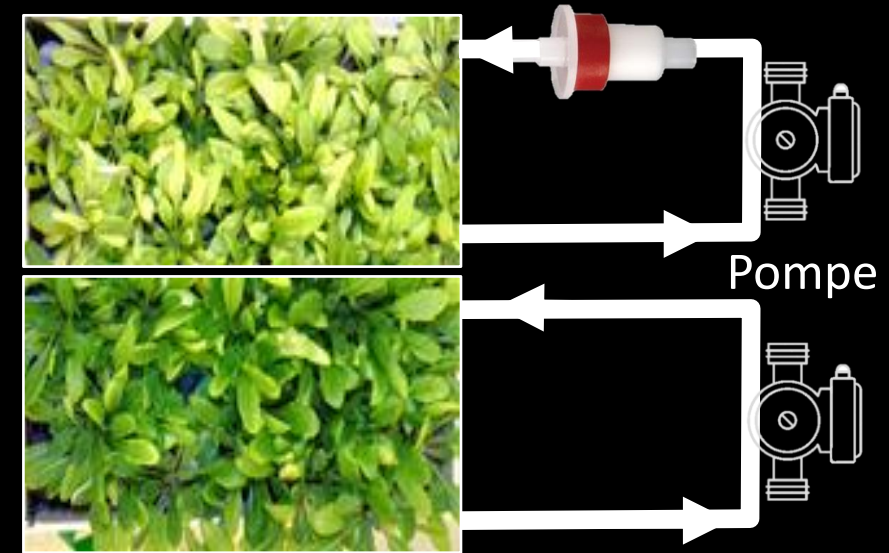
**+ UV**



Oc1c(O)c(O)c2c(c1)oc(=O)cc2  
Fraxétine

COc1c(O)c(O)c2c(c1)oc(=O)cc2  
Siderétine

C18 → Piège les coumarines



→ La sécrétion de coumarines est cruciale pour l'acquisition du fer



Biosynthèse des coumarines



Sécrétion des coumarines par le transporteur PDR9



Importance de leur sécrétion pour la nutrition en Fer





# Objectifs et questions de recherches



**Objectif 1:** Comprendre la localisation et dynamique des coumarines dans la racine

Où sont stockées les coumarines dans la racine?

Sont-elles toutes localisées dans les mêmes tissus?

Comment sont-elles secrétées?

# Objectifs et questions de recherches



**Objectif 1:** Comprendre la localisation et dynamique des coumarines dans la racine

Où sont stockées les coumarines dans la racine?

Sont-elles toutes localisées dans les mêmes tissus?

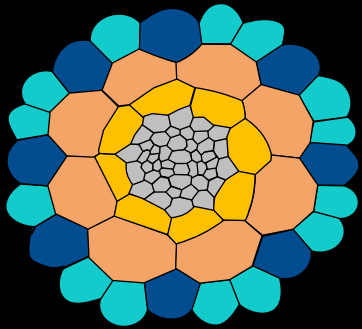
Comment sont-elles secrétées?

**Objectif 2:** Comprendre comment les coumarines améliorent la nutrition en fer

Les plantes sont-elles capable de prélever les coumarines?

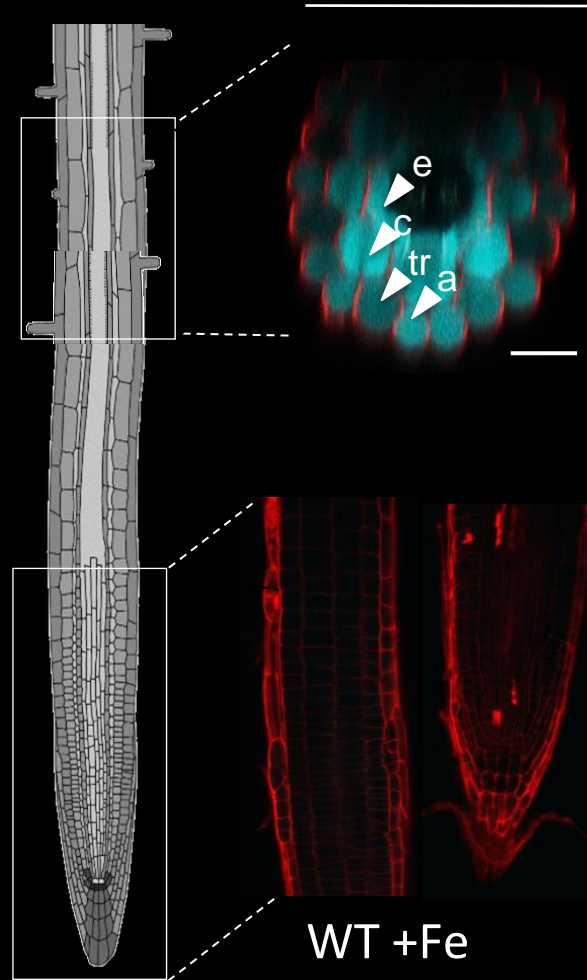
Quels complexes forment les coumarines avec le Fer?

Les plantes peuvent elles prélever les coumarines liées au fer?

Localisation des coumarines dans la racine d'*Arabidopsis thaliana*Coupe transversale de  
racine d'*Arabidopsis*

- Stele
- Endoderme (e)
- Cortex (c)
- Atrichoblast (a)
- Trichoblast (tr)

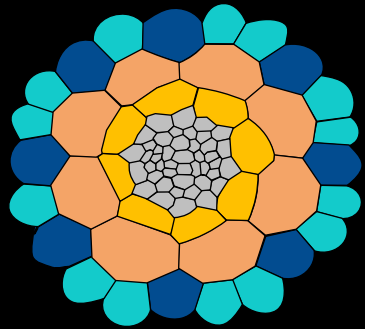
IP + Coumarines



WT=wild type

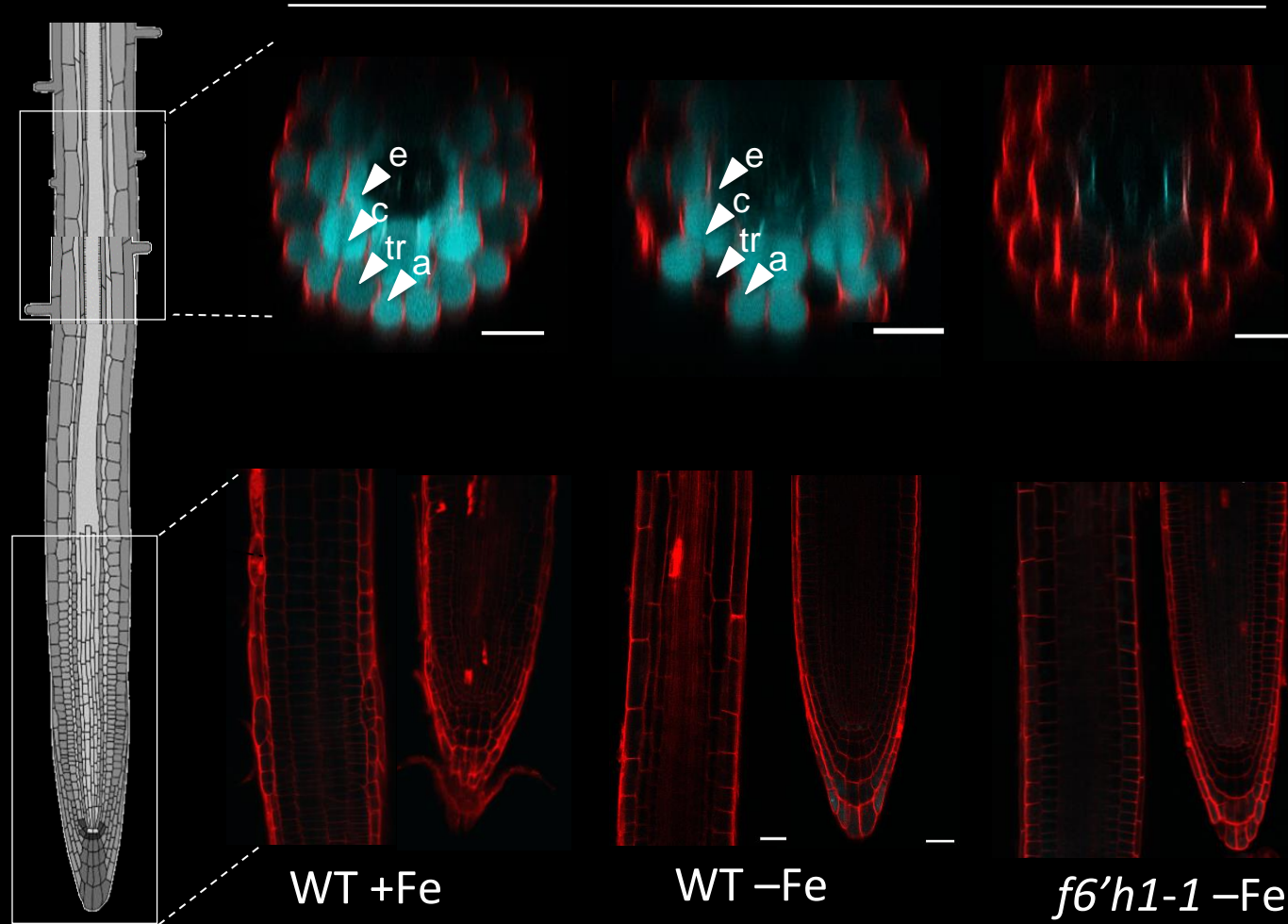
# Localisation des coumarines dans la racine d'*Arabidopsis thaliana*

Coupe transversale de racine d'*Arabidopsis*



- Stele
- Endoderme (e)
- Cortex (c)
- Atrichoblast (a)
- Trichoblast (tr)

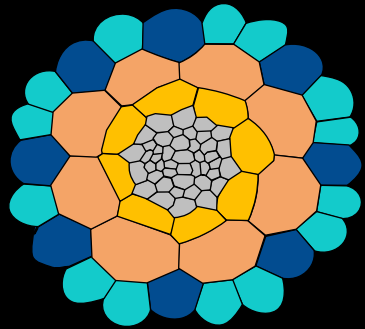
IP + Coumarines



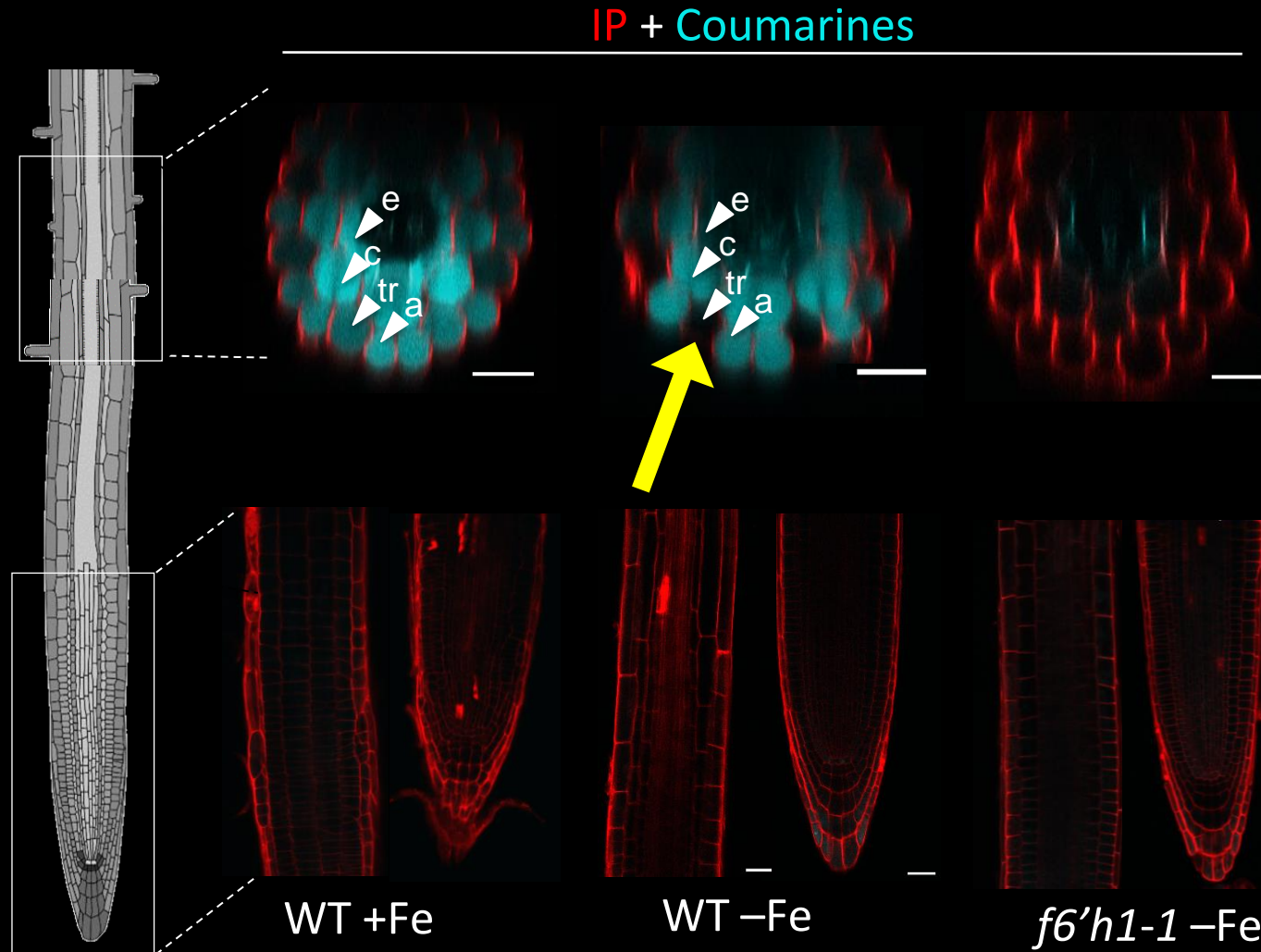


# Localisation des coumarines dans la racine d'*Arabidopsis thaliana*

Coupe transversale de racine d'*Arabidopsis*



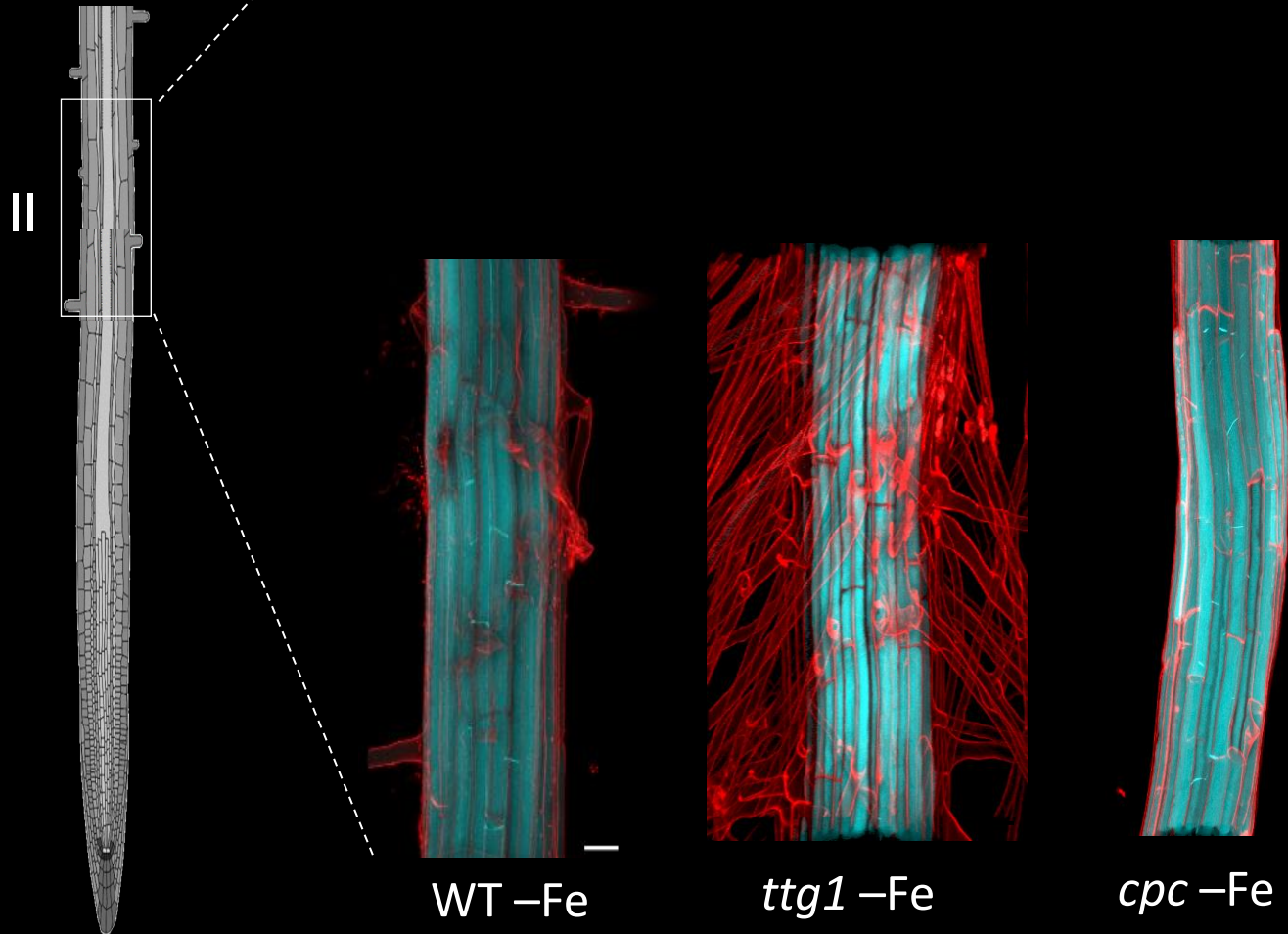
- Stele
- Endoderme (e)
- Cortex (c)
- Atrichoblast (a)
- Trichoblast (tr)



Sécrétion des coumarines par les poils absorbants?

# Implication des poils absorbants dans la sécrétion des coumarines

IP + Coumarines



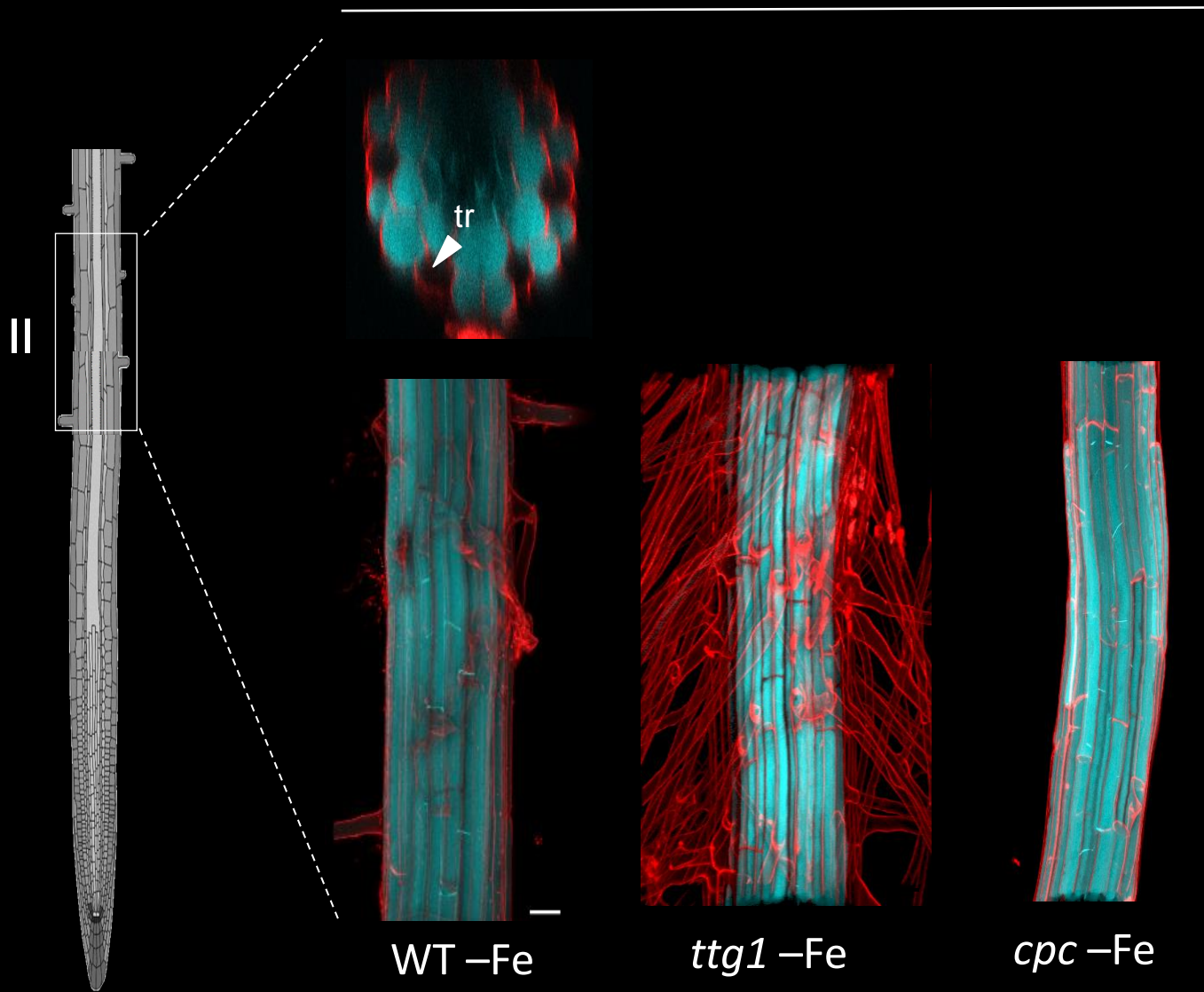
WT -Fe

*ttg1* -Fe

*cpc* -Fe

# Implication des poils absorbants dans la sécrétion des coumarines

IP + Coumarines



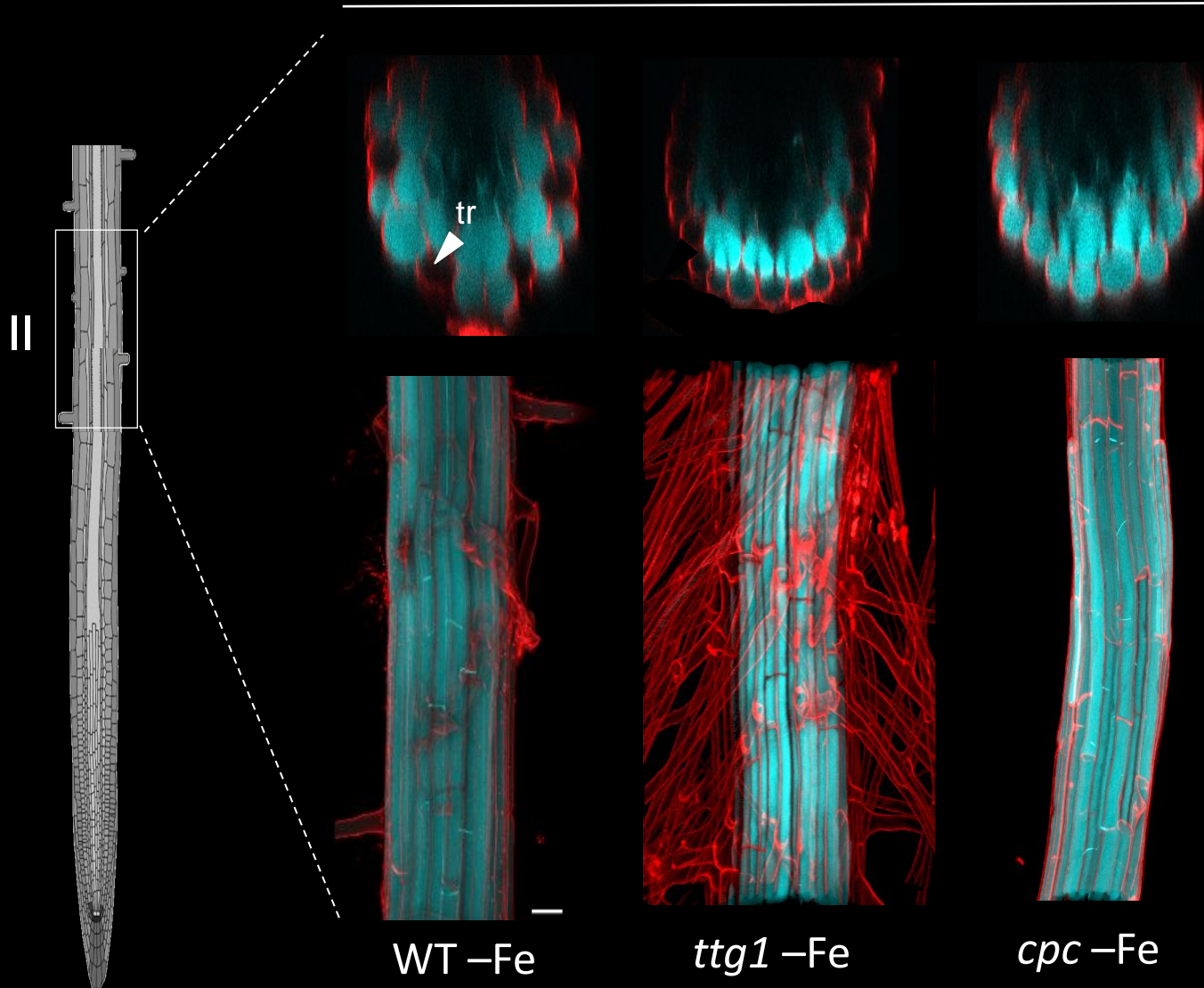
WT -Fe

*ttg1* -Fe

*cpc* -Fe

# Implication des poils absorbants dans la sécrétion des coumarines

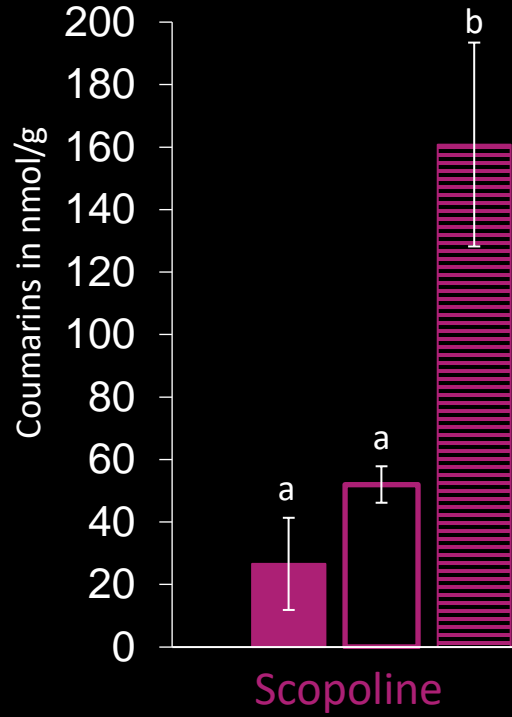
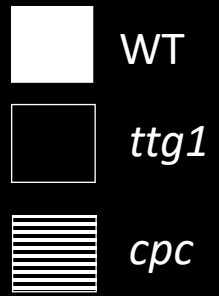
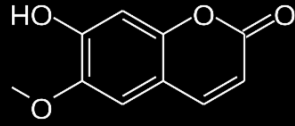
IP + Coumarines



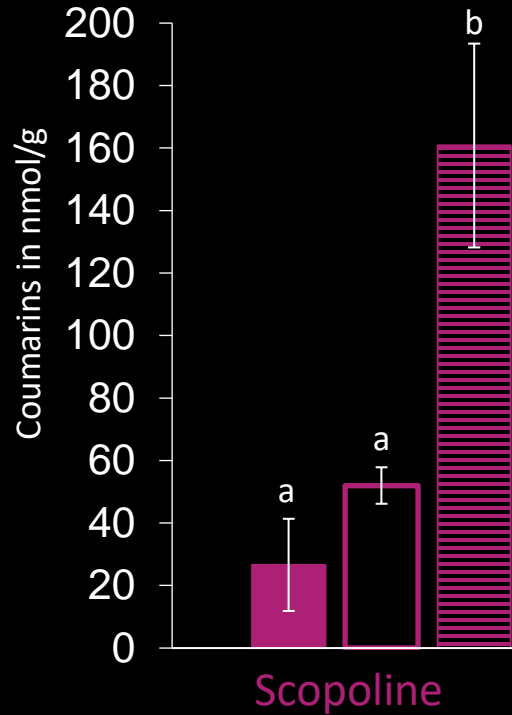
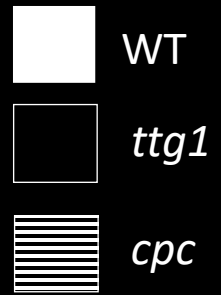
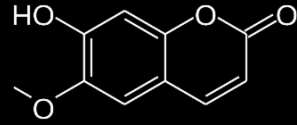
- Les poils absorbants sont impliqués dans la sécrétion des coumarines
- Quelles coumarines? Une ou plusieurs?



# Analyse des coumarines par HPLC

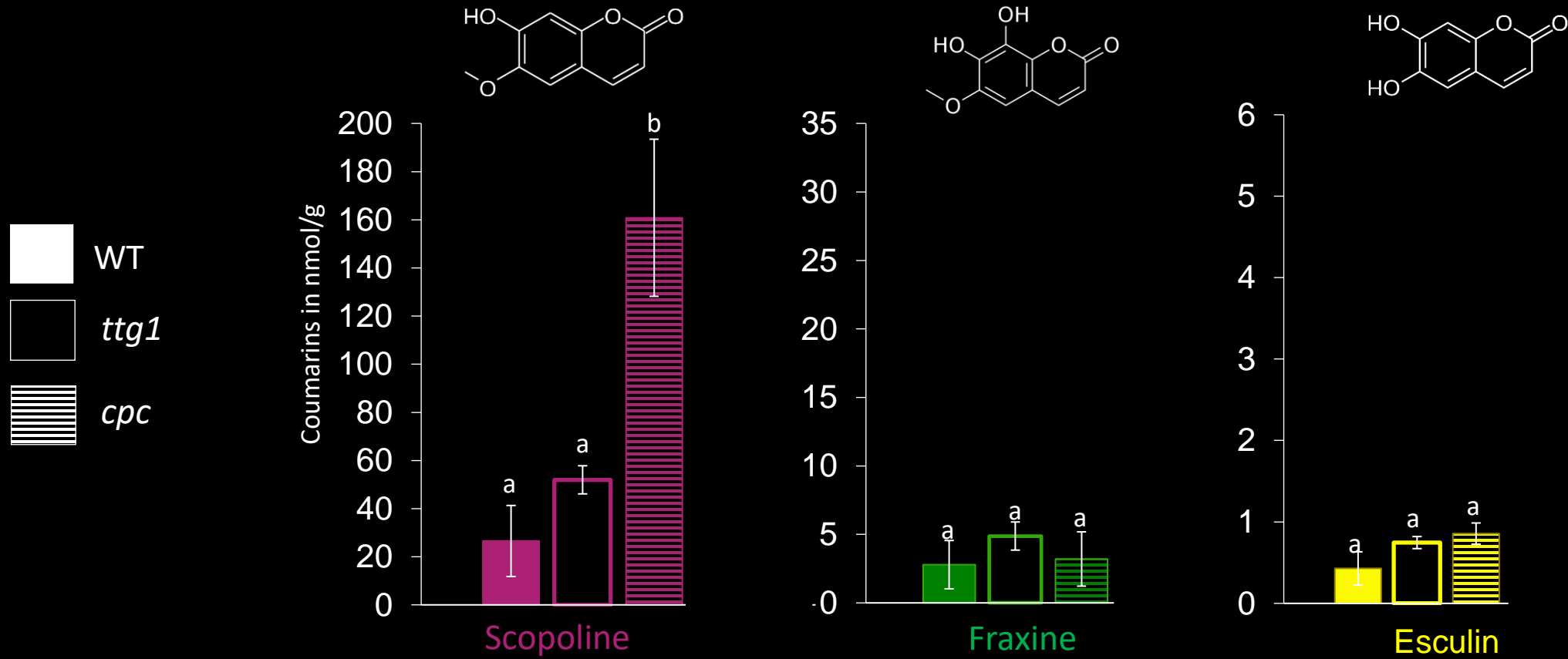


# Analyse des coumarines par HPLC

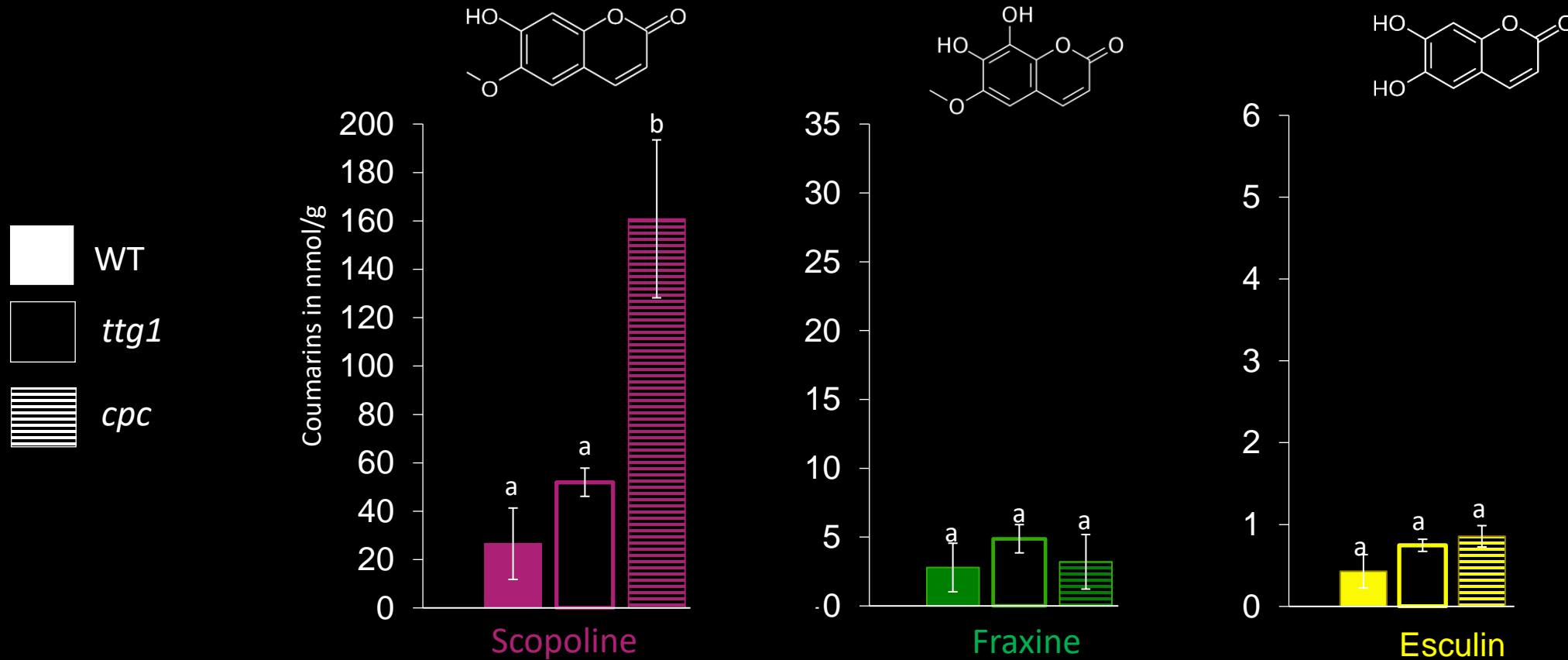


→ La scopolétine est spécifiquement sécrétée par les poils absorbants

# Analyse des coumarines par HPLC



# Analyse des coumarines par HPLC



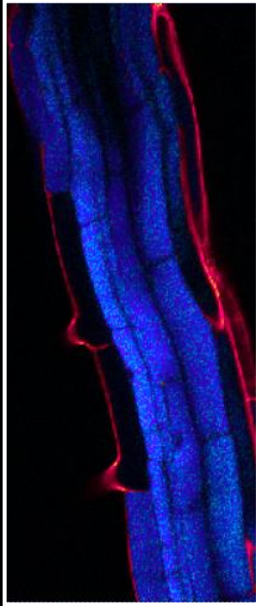
→ La fraxétine et l'esculétine sont secrétées à la fois par les poils absordants et les atrichoblastes



# Localisation des coumarines par imagerie spectrale

Image spectrale  
410/650 nm

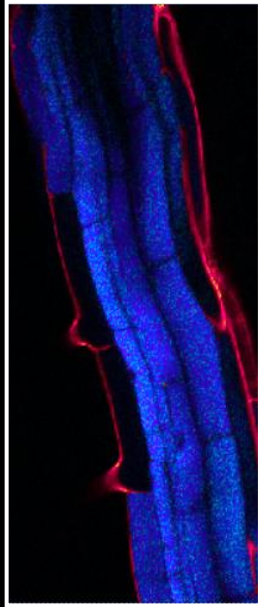
Imagerie  
spectrale



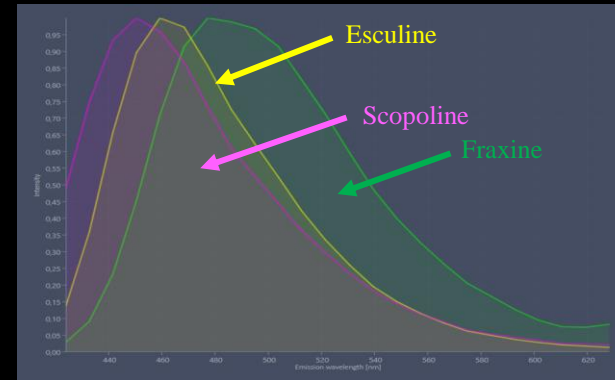
# Localisation des coumarines par imagerie spectrale

Image spectrale  
410/650 nm

Imagerie  
spectrale



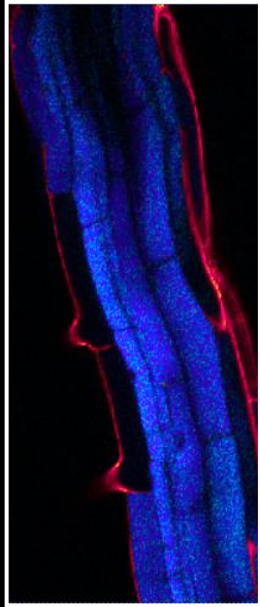
Spectre d'émission de chaque coumarine



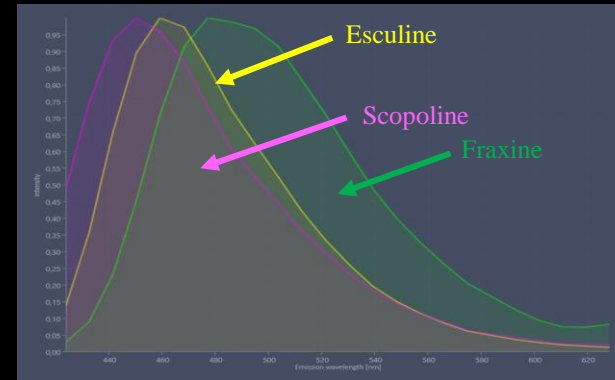
# Localisation des coumarines par imagerie spectrale

Image spectrale  
410/650 nm

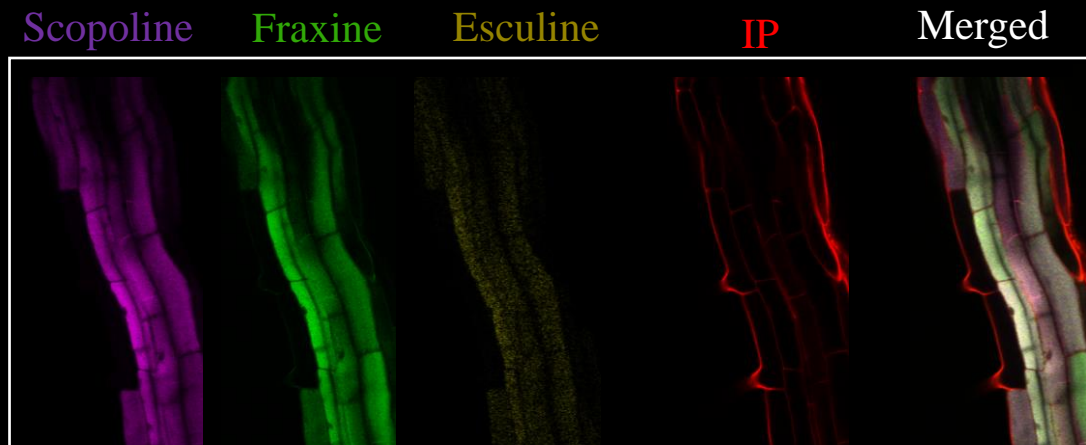
Imagerie  
spectrale



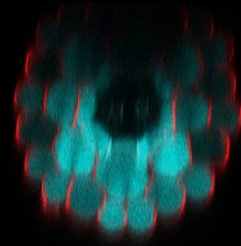
Spectre d'émission de chaque coumarine



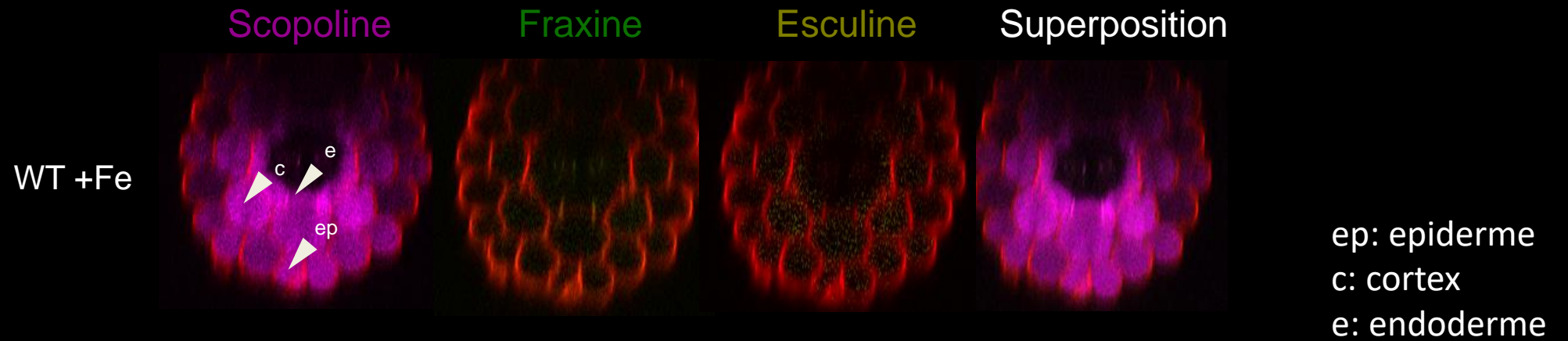
Déconvolution spectrale



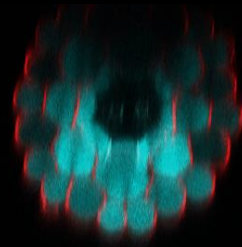
# Localisation des coumarines par imagerie spectrale



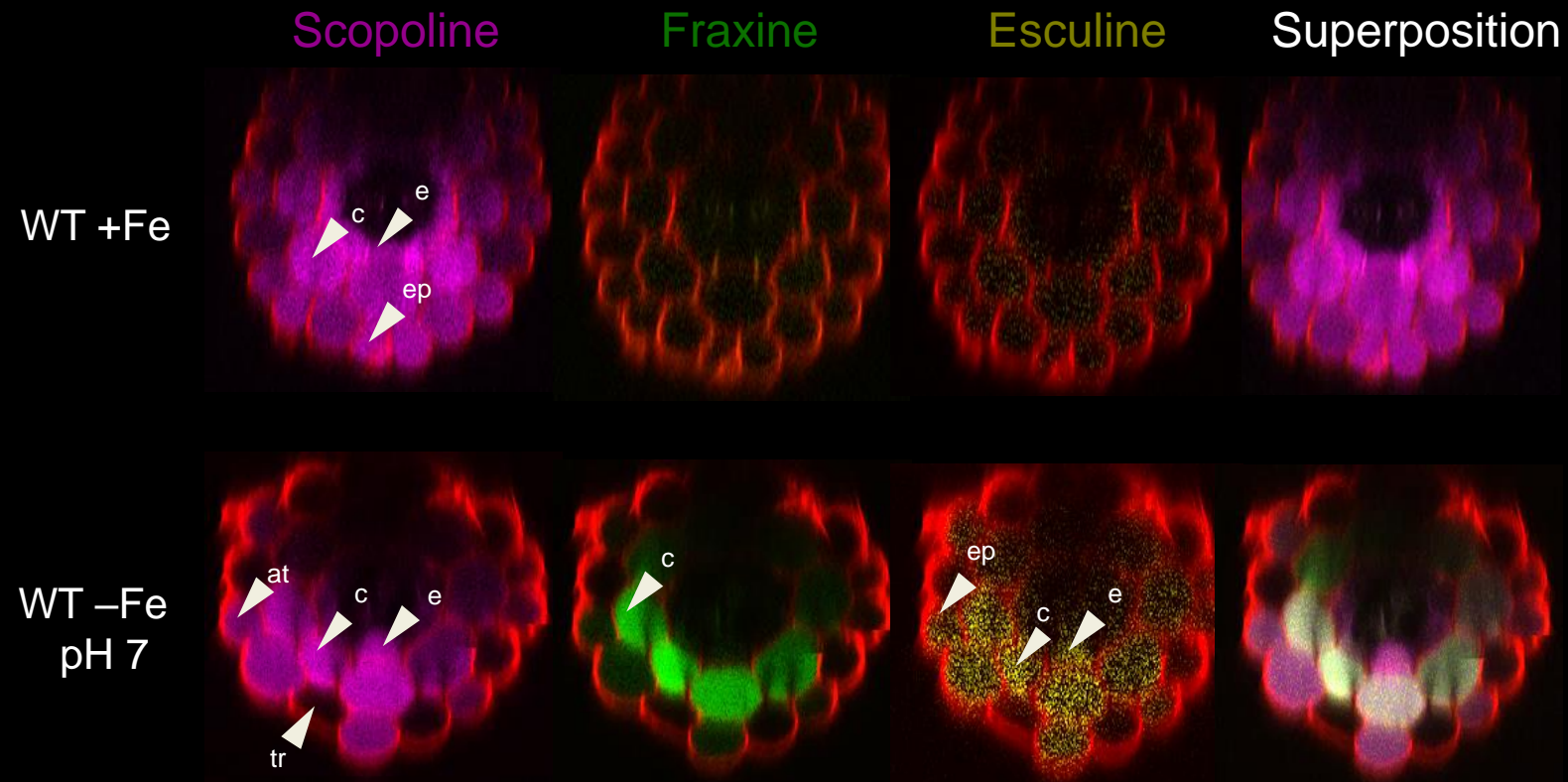
Fluorescence globale de toute les coumarines



# Localisation des coumarines par imagerie spectrale

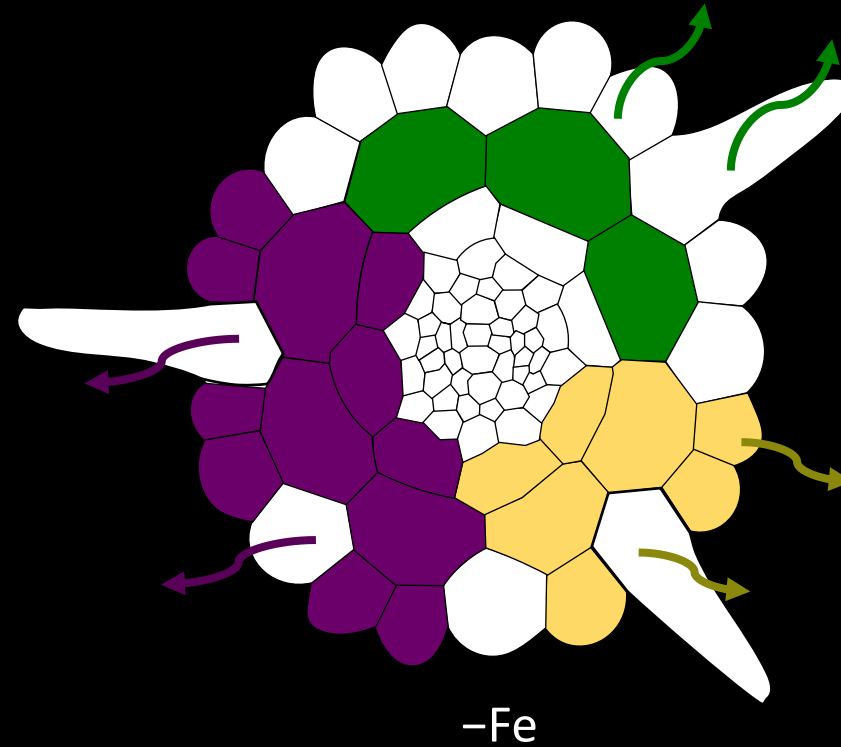


Fluorescence globale de toute les coumarines



ep: épiderme  
at: atrichoblaste  
tr: trichoblaste  
c: cortex  
e: endoderme

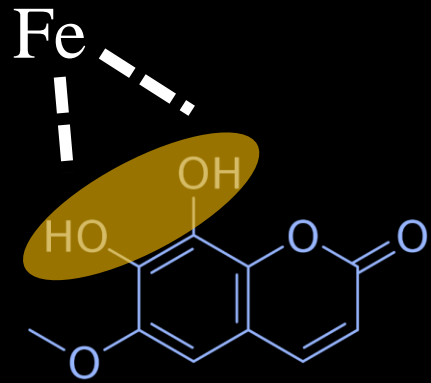
# Résumé: Localisation et sécrétion des coumarines



Scopoline Fraxine Esculine

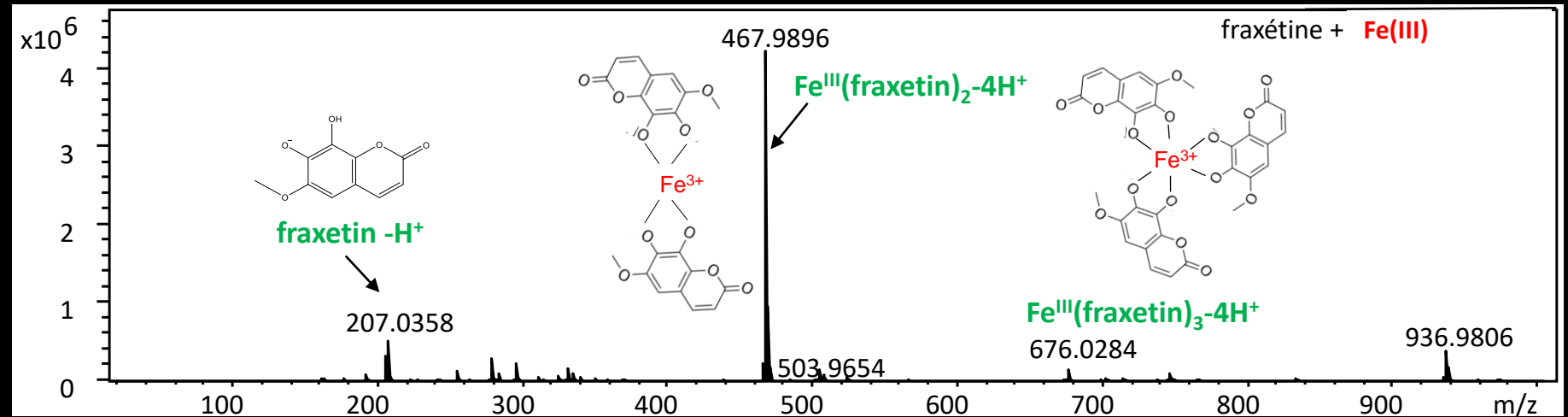
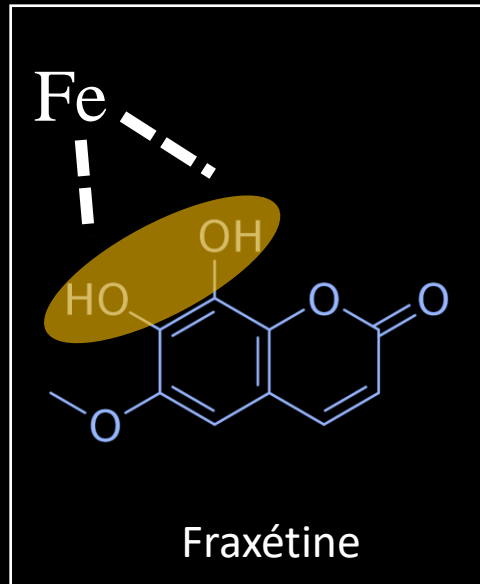


# Rôle des coumarines dans la nutrition en fer d'*Arabidopsis thaliana*

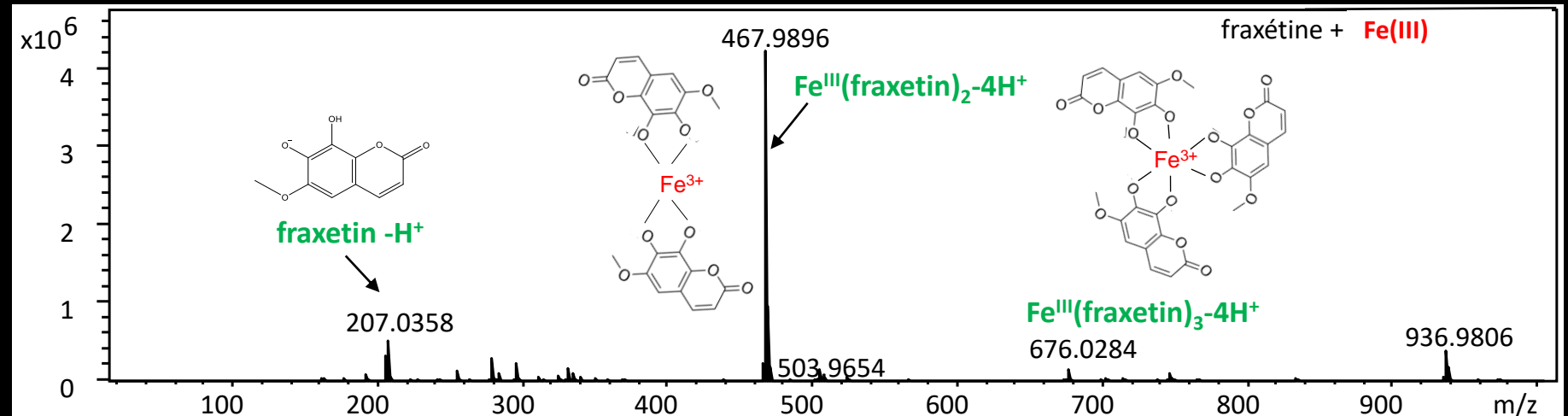
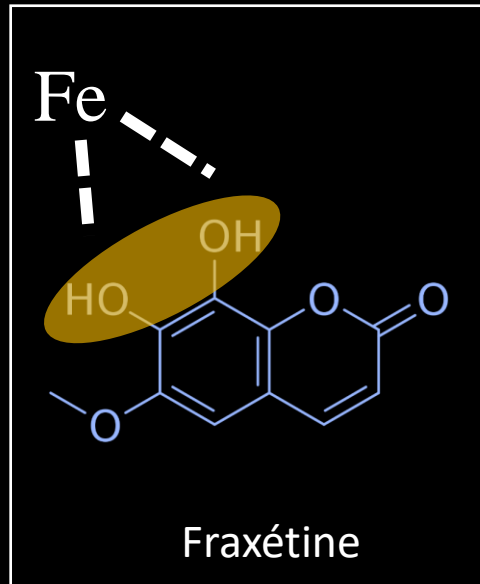


Fraxétine

# Analyse des complexes Fe-fraxétin par ESI-QTOF

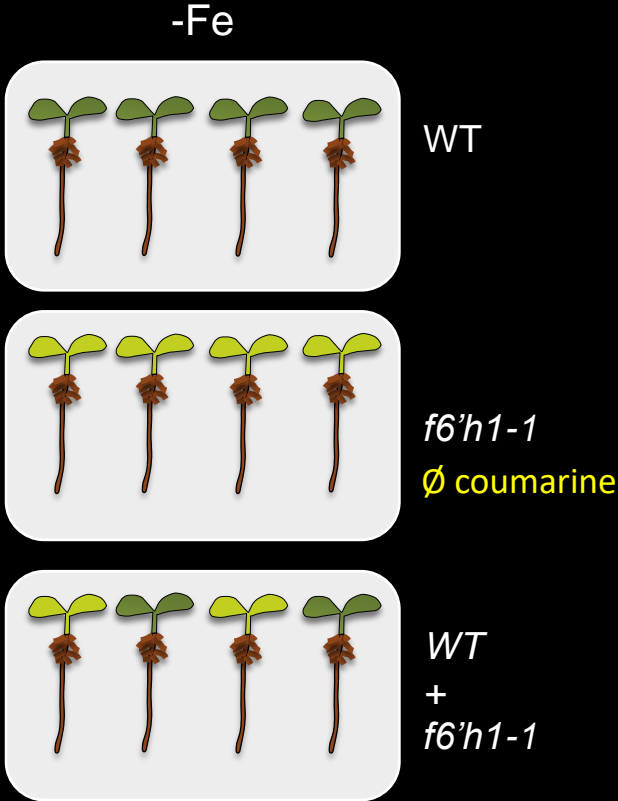


# Analyse des complexes Fe-fraxétin par ESI-QTOF

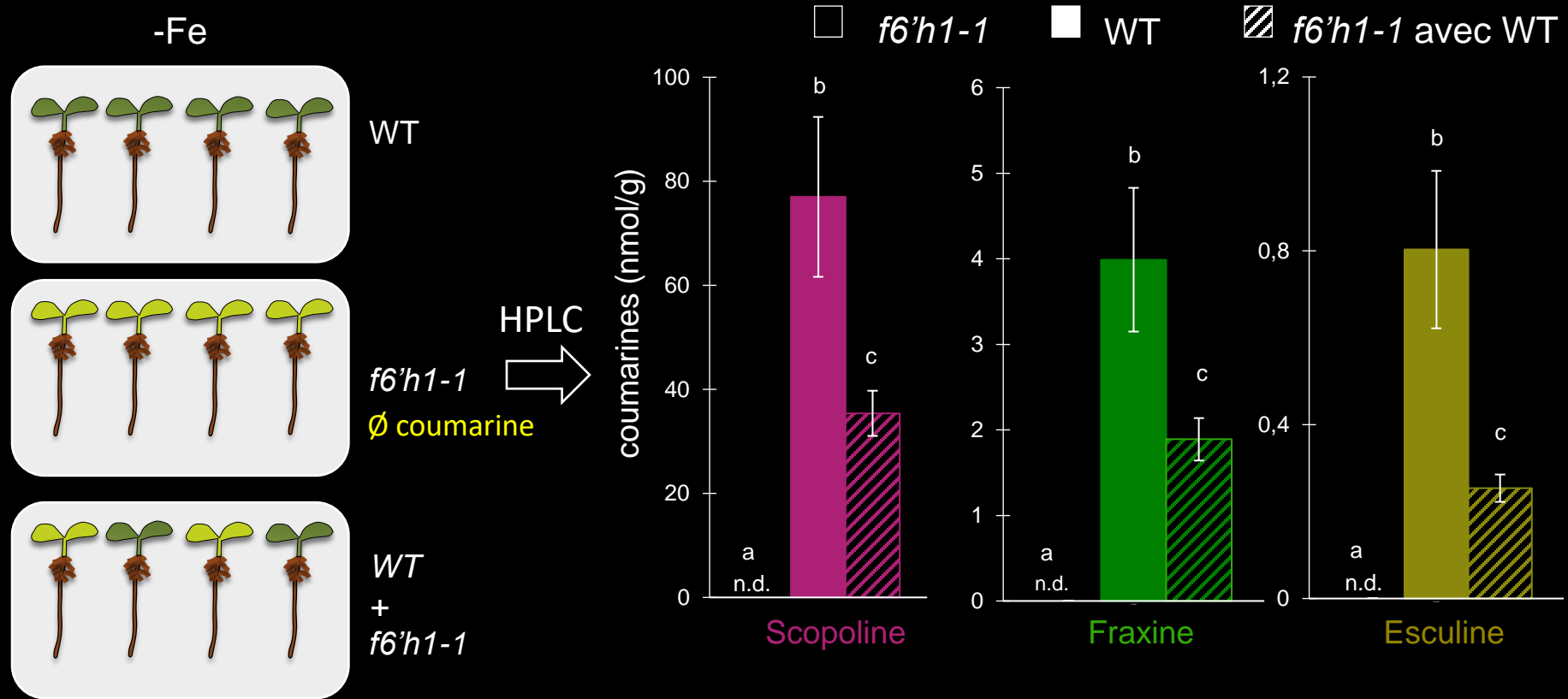


→ Les plantes sont-elles capable de prélever les coumarines?

# Prélèvement des coumarines par les racines d'*Arabidopsis thaliana*

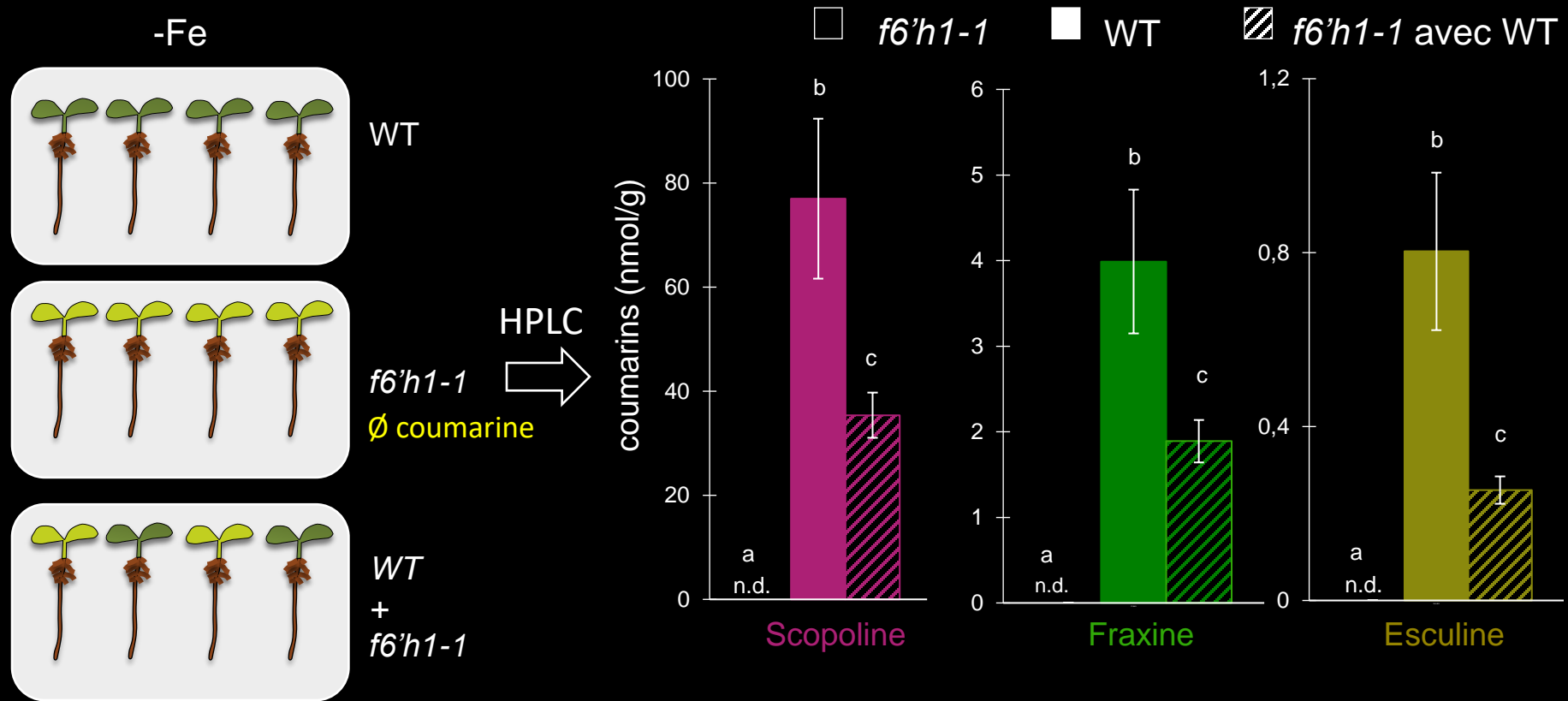


# Prélèvement des coumarines par les racines d'*Arabidopsis thaliana*



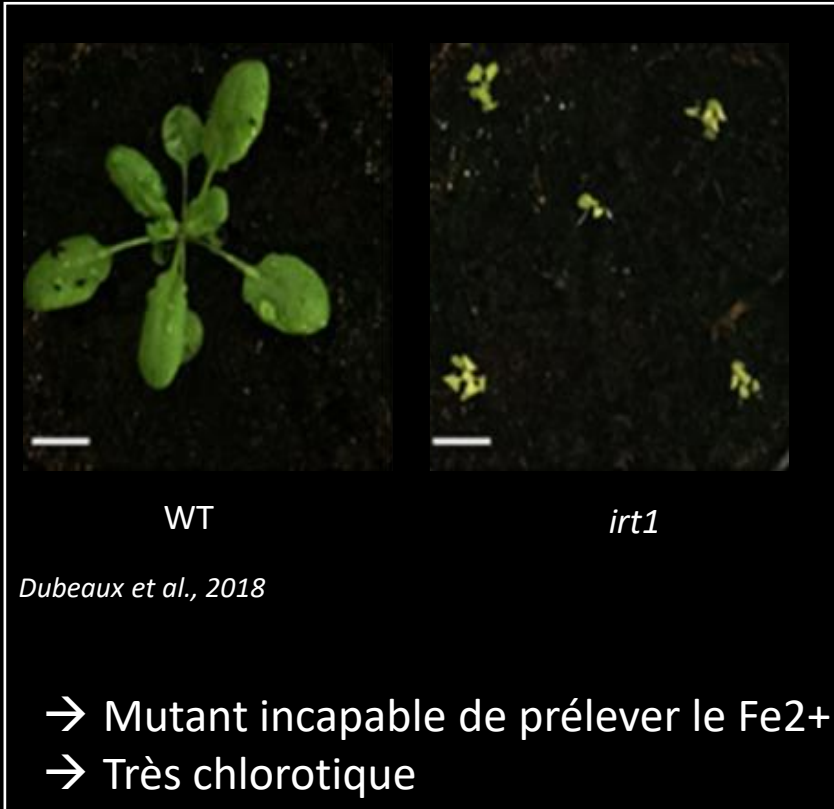


# Prélèvement des coumarines par les racines d'*Arabidopsis thaliana*

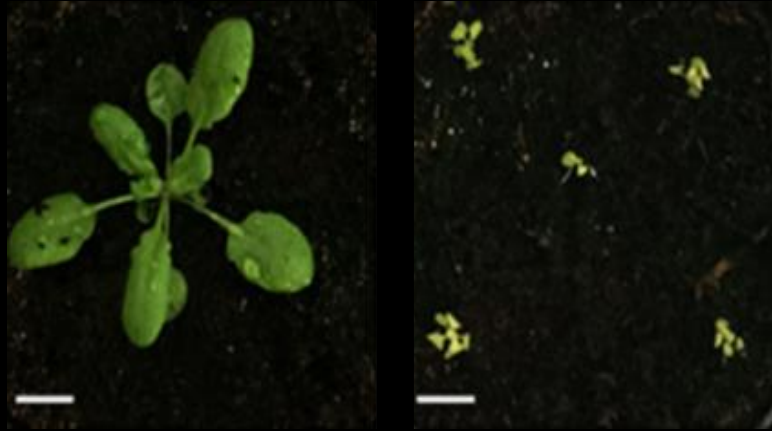


→ Les coumarines sont prélevées par les racines des plantes

# Les plantes peuvent elles prélever les coumarines liées au fer?



# Les plantes peuvent elles prélever les coumarines liées au fer?



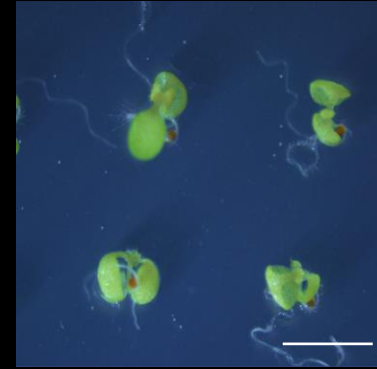
WT

*irt1*

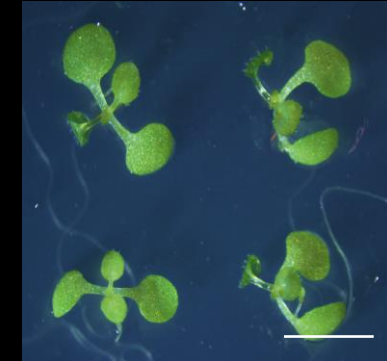
*Dubeaux et al., 2018*

- Mutant incapable de prélever le Fe<sup>2+</sup>
- Très chlorotique

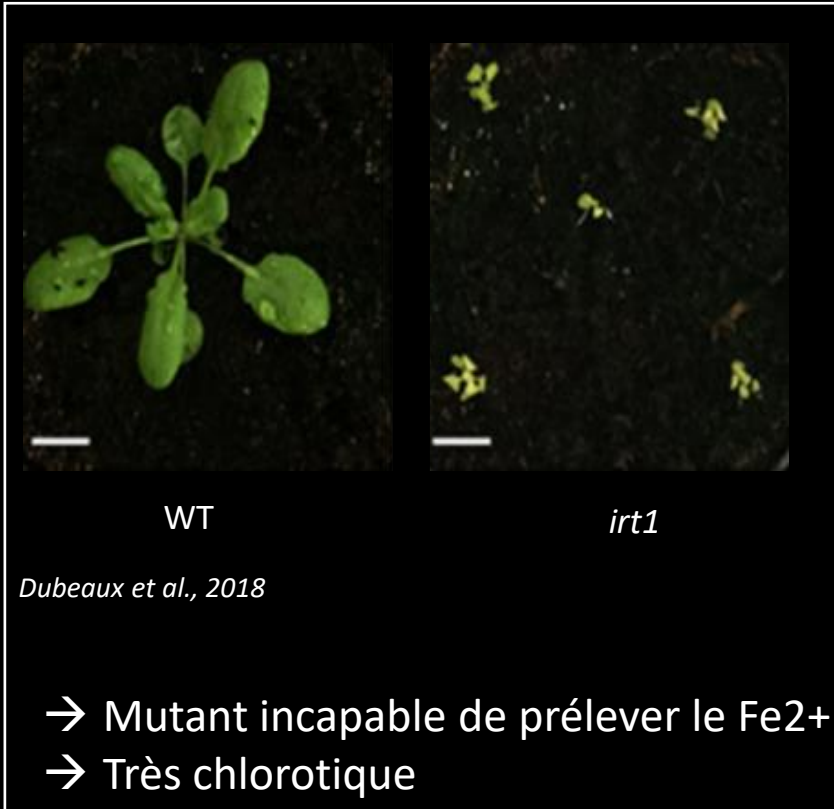
*irt1*



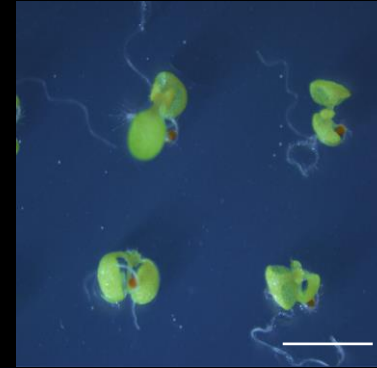
+ Fraxetine



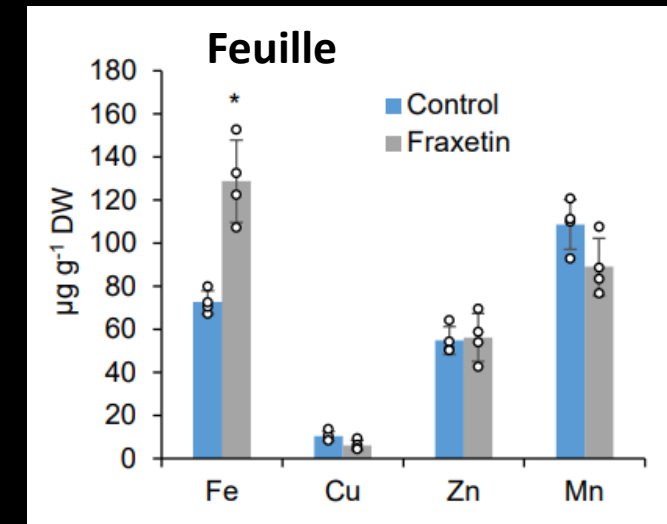
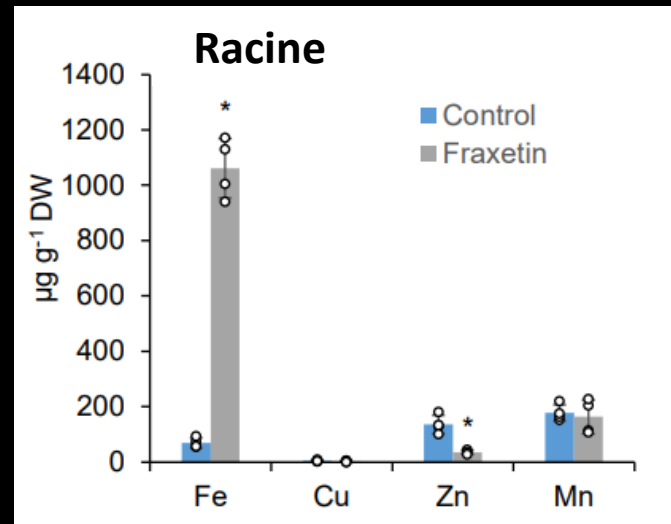
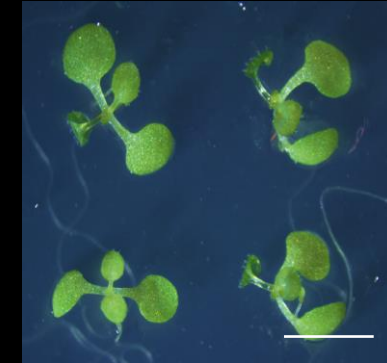
# Les plantes peuvent elles prélever les coumarines liées au fer?



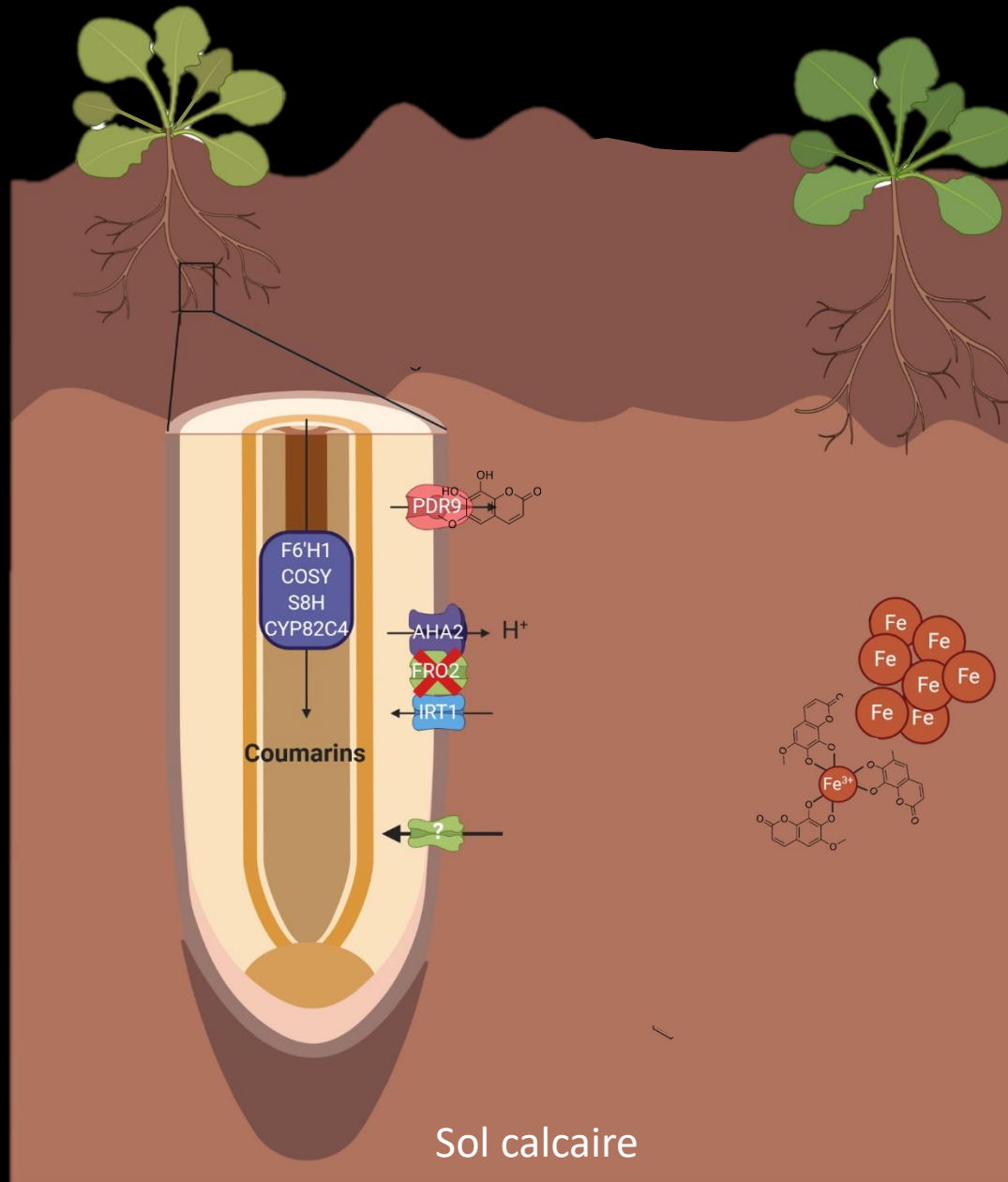
*irt1*



+ Fraxetine

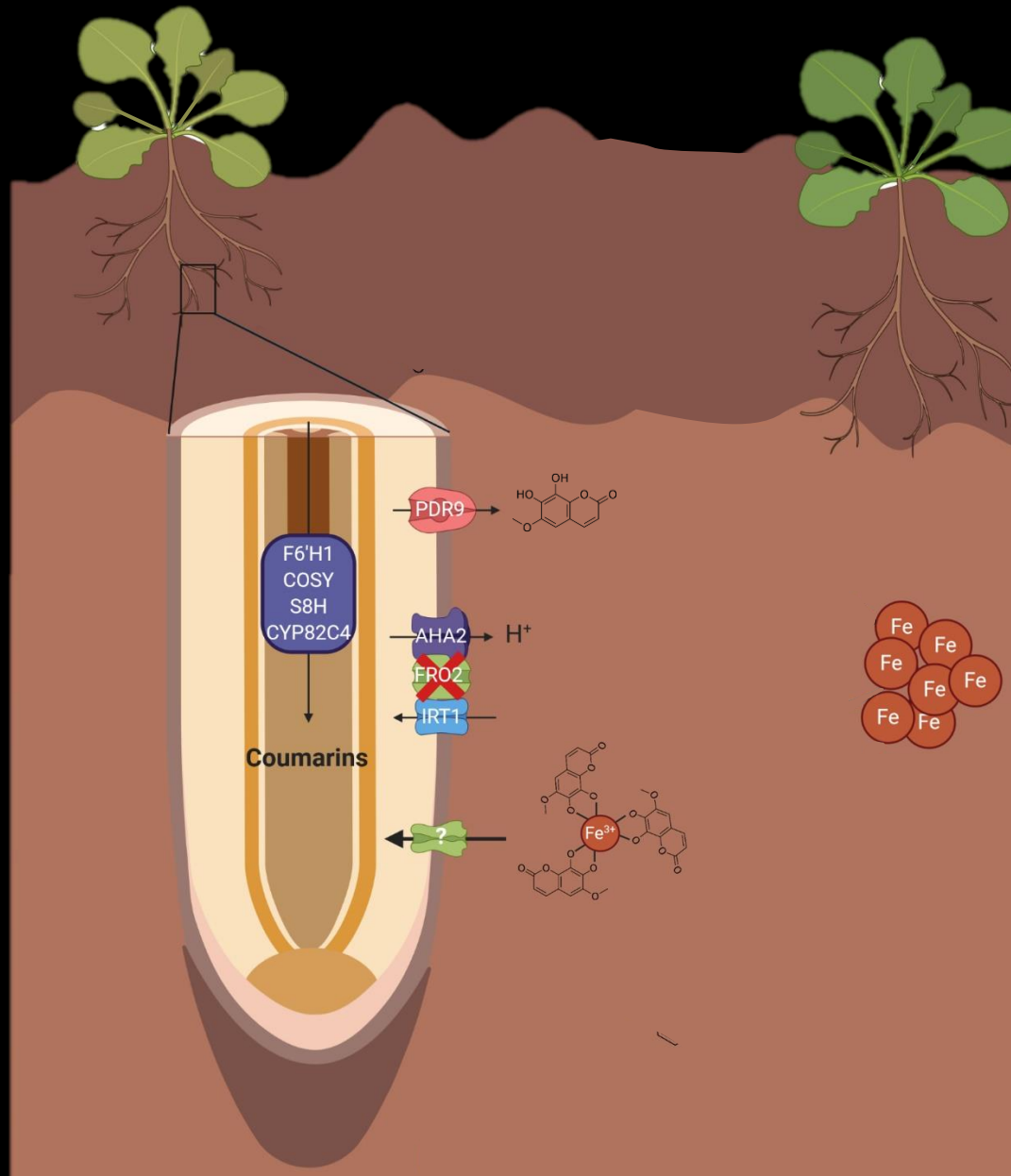


# Conclusion





# Conclusion



→ La fraxétine forme des complexes stables avec le  $\text{Fe}^{3+}$

→ Le prélèvement des complexes fer-fraxétine est une stratégie complémentaire (à pH alcalin) au prélèvement du fer par IRT1

→ C'est un nouveau mécanisme d'acquisition du fer !

# MERCI

**Dr Christian DUBOS**  
**Dr Esther IZQUIERDO ALEGRE**



Geneviève CONEJERO



Valérie ROFIDAL  
Sonia HEM  
Nathalie BERGER



Sandrine CHAY



**IPMB, Taiwan**  
Louis GRILLET  
Wolfgang SCHMIDT

**Comité de thèse**  
Marie BARBERON  
Fanchon DIVOL  
Laurent LAPLAZE  
Fabien MOUNET



**Projet**  
**MOBIFER**



Pierre FOURCROY

