

Construction du grain de sorgho : une feuille de route transcriptomique ciblant la teneur et digestibilité des protéines



SENE Mamadou

Sene M, Berger A, Calatayud C, Rios M, Bonicel J, Morel MH, Mameri H, Pot D, Terrier N

CIRAD, UMR AGAP Institut, F-34398 Montpellier, France

Colloque Graines 2023, 7-9 novembre, INRAE, Versailles















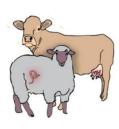








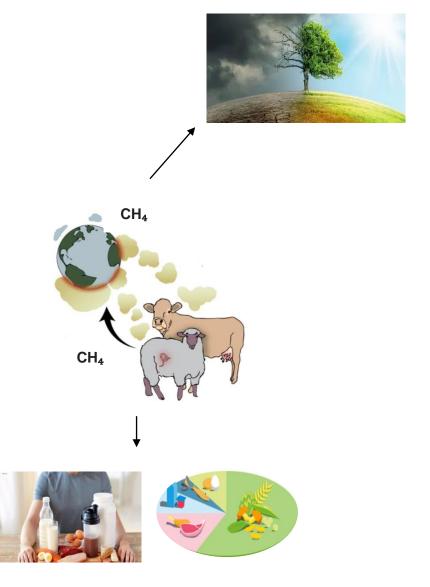






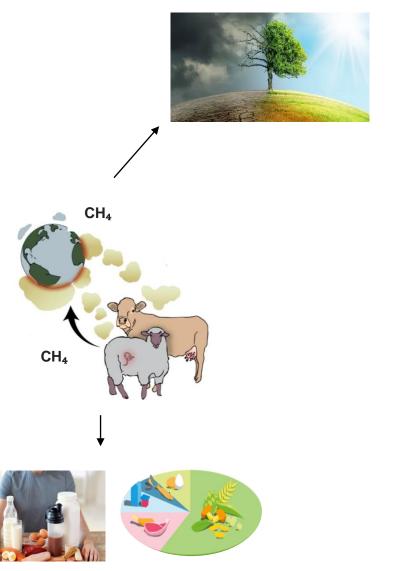






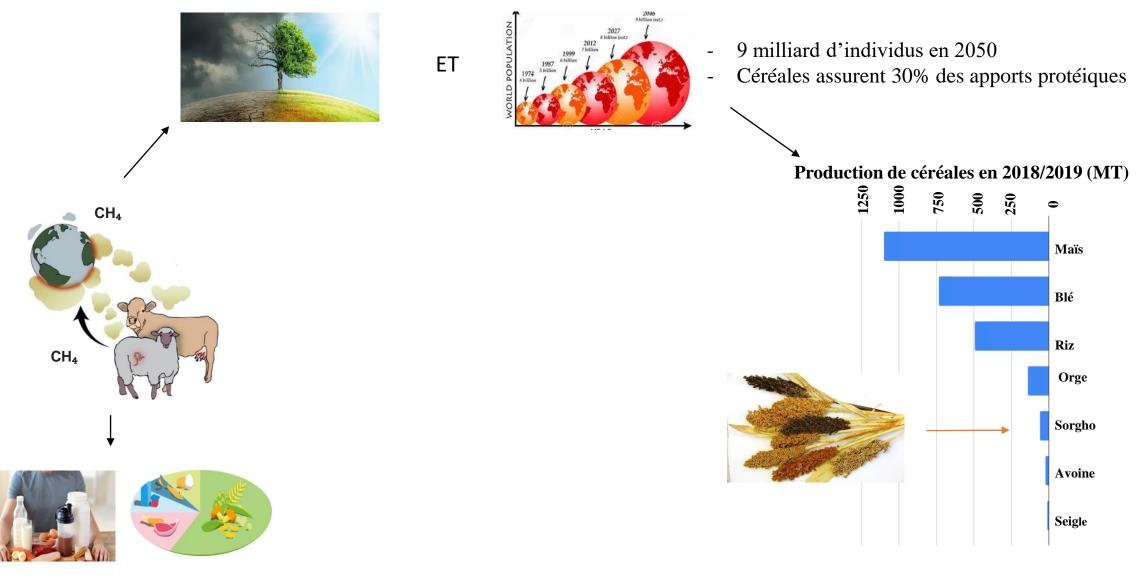


ET

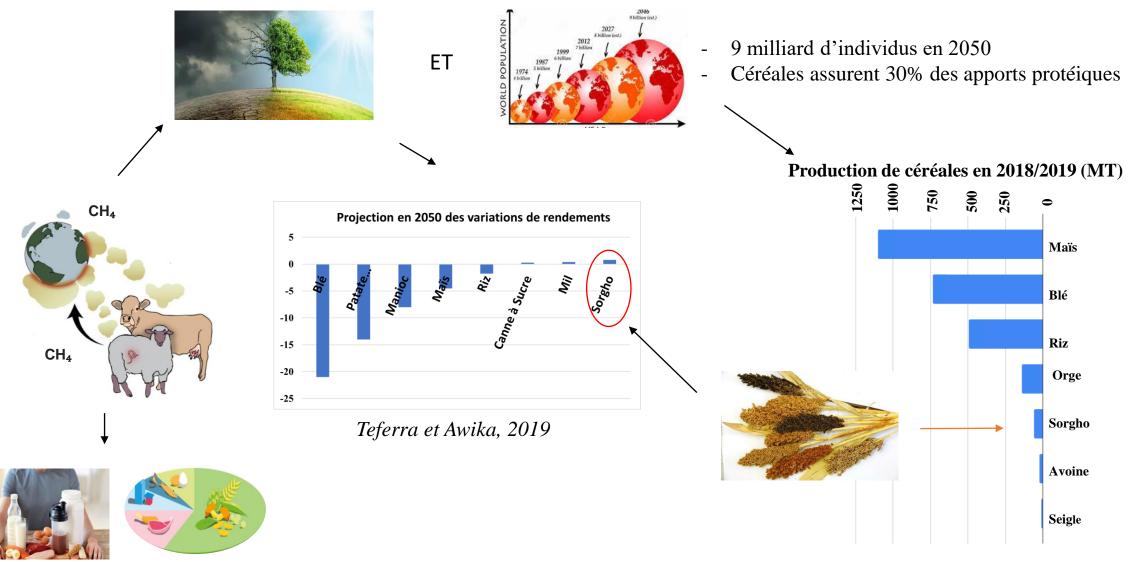




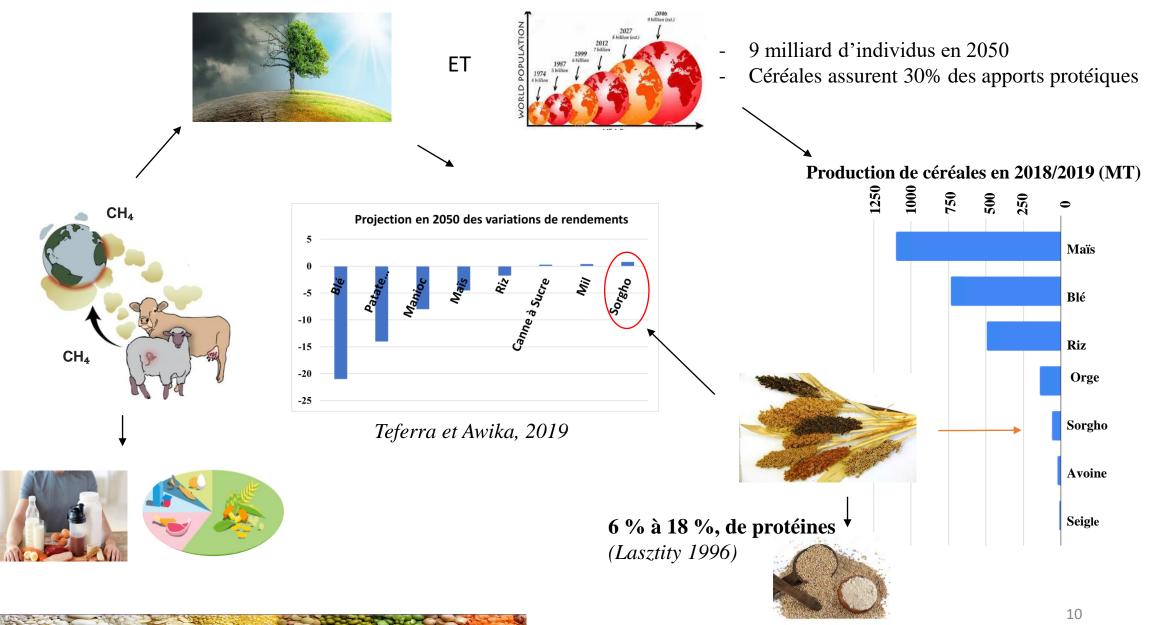
- 9 milliard d'individus en 2050
- Céréales assurent 30% des apports protéiques

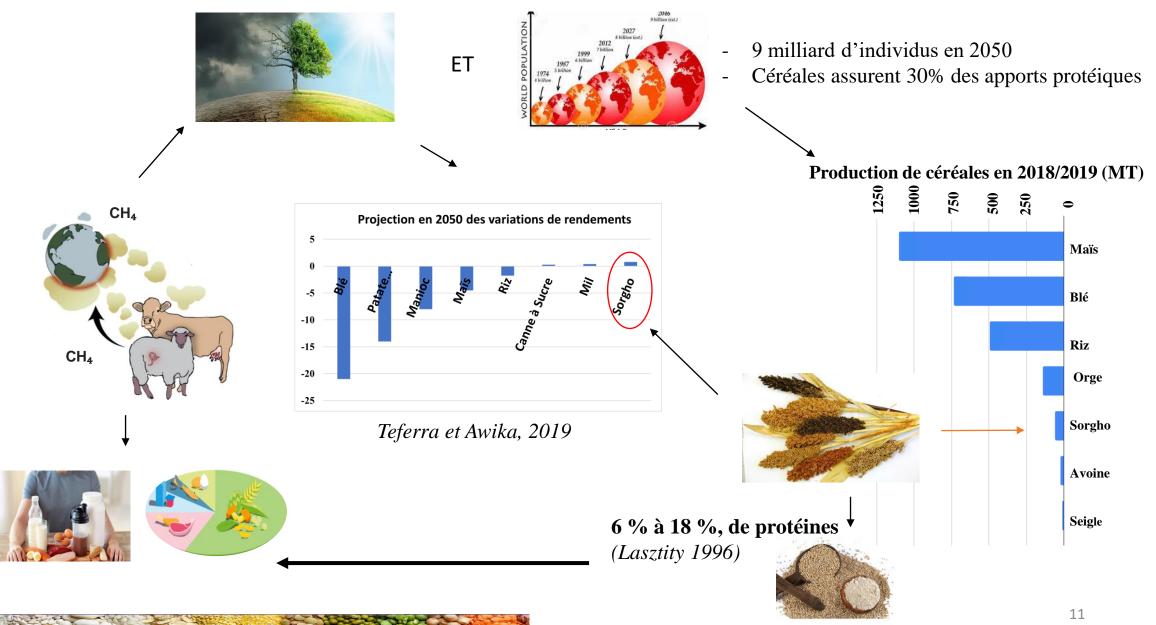








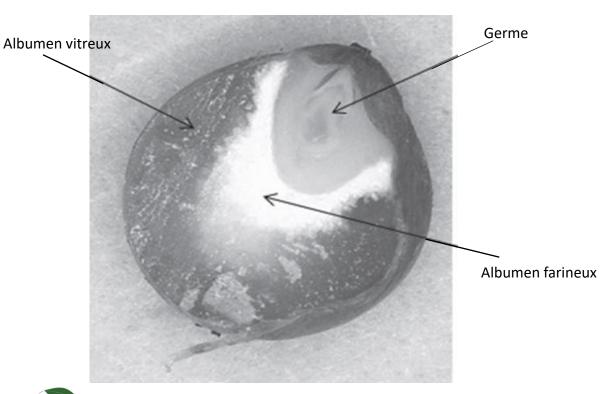




Kafirines principales protéines de stockage du sorgho, à digestibilité faible

Kafirines = principales protéines du sorgho

- ✓ protéines de stockage
- ✓ localisées dans l'albumen (77 % à 82 %)

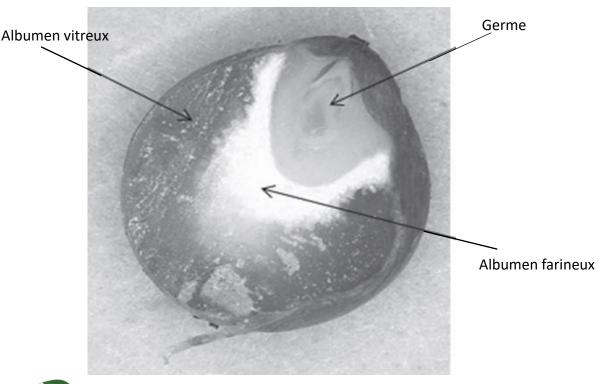




Kafirines principales protéines de stockage du sorgho, à digestibilité faible

Kafirines = principales protéines du sorgho

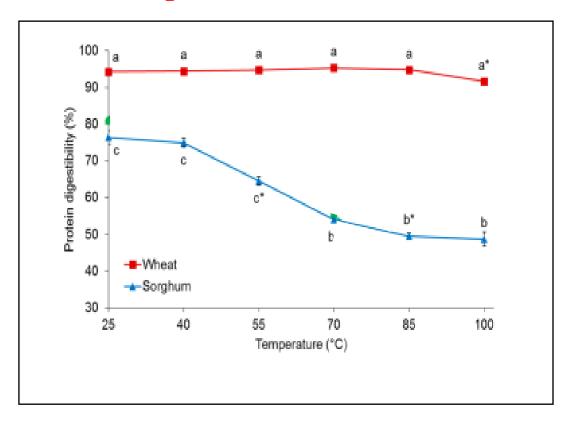
- ✓ protéines de stockage
- ✓ localisées dans l'albumen (77 % à 82 %)



Adaptée de Bean et al., 2019

Limites pour une utilisation dans l'alimentation

- ✓ déséquilibre en acide aminé (faible teneur en lysine)
- **✓ faible digestibilité** (diminue en cuisson)



Interactions entre les protéines et autres composant du grain :

- ✓ tanins
- ✓ amidon
- ✓ composants de la paroi cellulaire

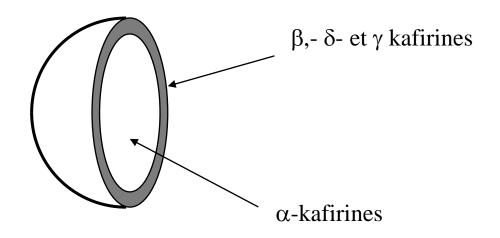


Interactions entre les protéines et autres composant du grain :

- ✓ tanins
- ✓ amidon
- ✓ composants de la paroi cellulaire

Structure de stockage des protéines :

✓ Formes de stockage des kafirines dans l'albumen



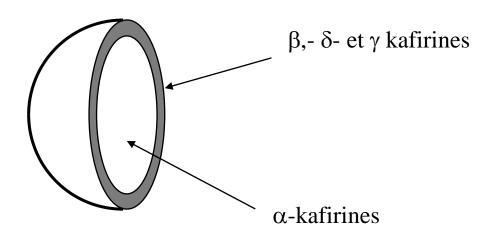


Interactions entre les protéines et autres composant du grain :

- ✓ tanins
- ✓ amidon
- ✓ composants de la paroi cellulaire

Structure de stockage des protéines :

✓ Formes de stockage des kafirines dans l'albumen



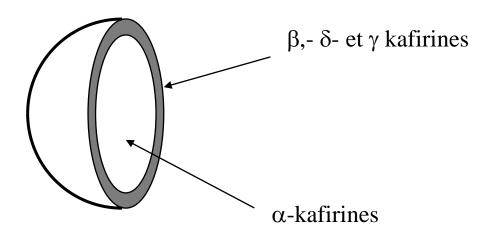
Apparition de ponts disulfures supplémentaires pendant le développement du grain et la cuisson

Interactions entre les protéines et autres composant du grain :

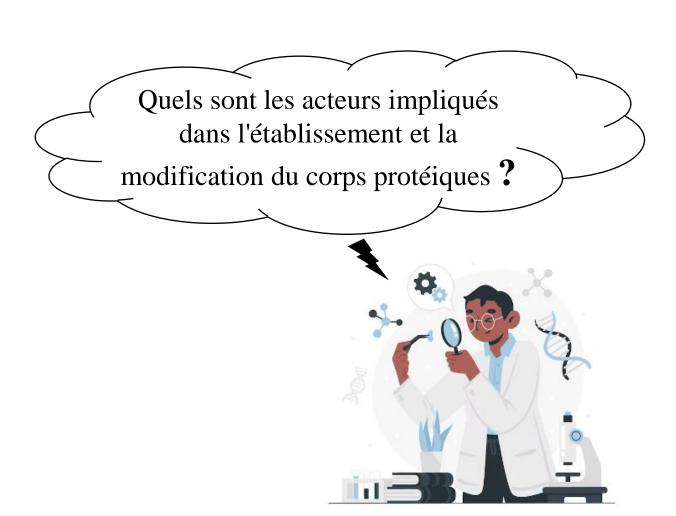
- ✓ tanins
- ✓ amidon
- ✓ composants de la paroi cellulaire

Structure de stockage des protéines :

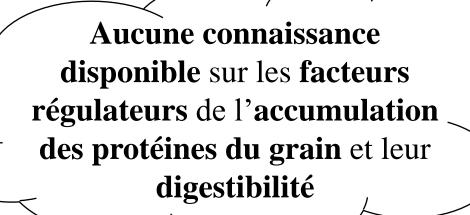
✓ Formes de stockage des kafirines dans l'albumen



✓ Apparition de ponts disulfures supplémentaires pendant le développement du grain et la cuisson



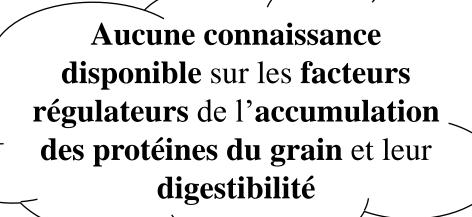
Acteurs clés dans la régulation des protéines de stockage et leur digestibilité chez le sorgho



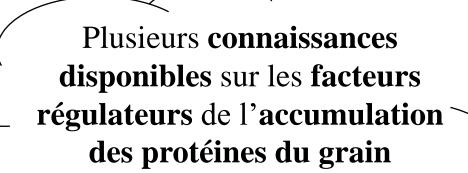




Acteurs clés dans la régulation des protéines de stockage et leur digestibilité chez le sorgho













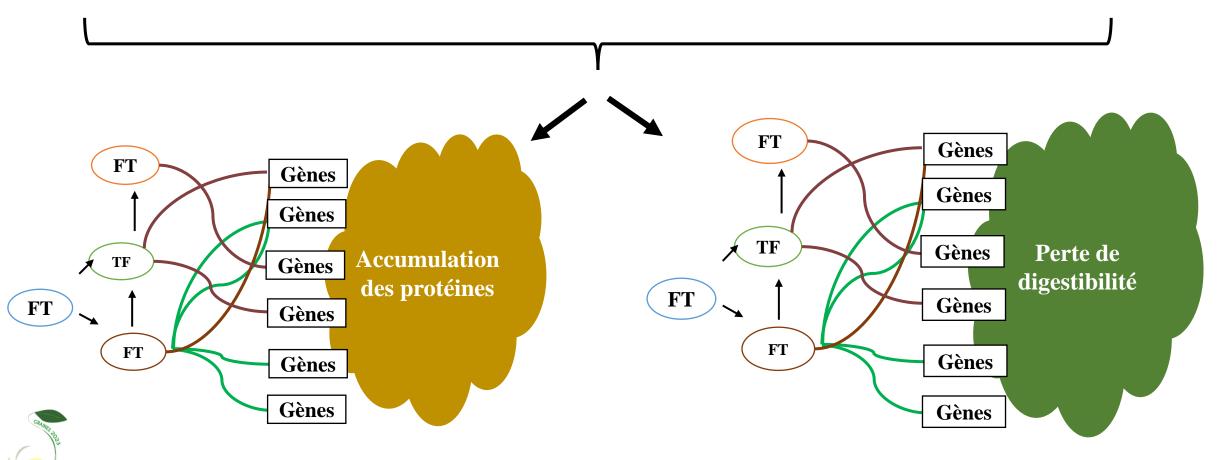
Objectifs

Générer des connaissances sur les mécanismes moléculaires impliqués dans l'accumulation des protéines du grain de sorgho et leur faible digestibilité



Objectifs

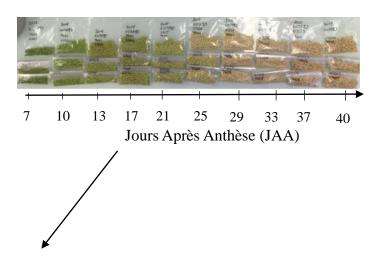
Générer des connaissances sur les mécanismes moléculaires impliqués dans l'accumulation des protéines du grain de sorgho et leur faible digestibilité





- Genotype Macia
- 2 années (2017, 2018)
- 3 réplicas biologiques/année
- 10 stades de développement (Anthèse+7 à Anthèse+40)

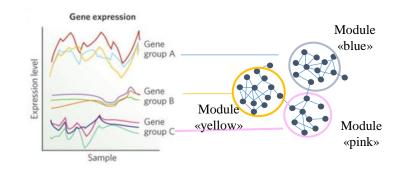


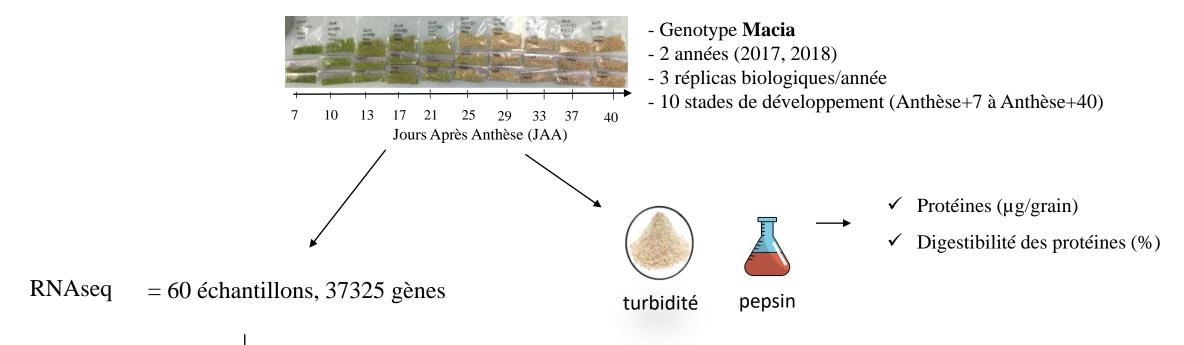


- Genotype Macia
- 2 années (2017, 2018)
- 3 réplicas biologiques/année
- 10 stades de développement (Anthèse+7 à Anthèse+40)

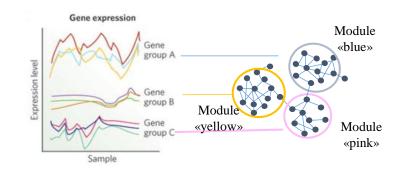
RNAseq = 60 échantillons, 37325 gènes

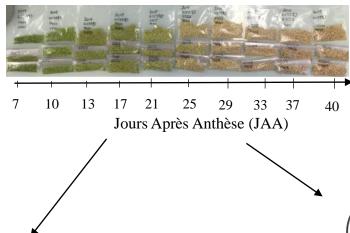
Analyse de reseau de gènes (WGCNA, Cytoscape)





Analyse de reseau de gènes (WGCNA, Cytoscape)

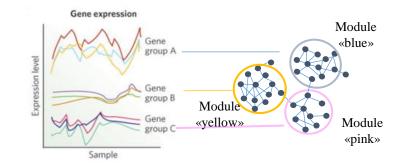




- Genotype Macia
- 2 années (2017, 2018)
- 3 réplicas biologiques/année
- 10 stades de développement (Anthèse+7 à Anthèse+40)



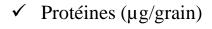
Analyse de reseau de gènes (WGCNA, Cytoscape)

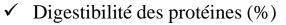


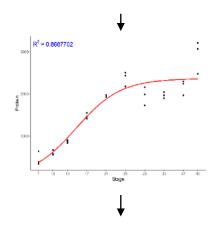


turbidité

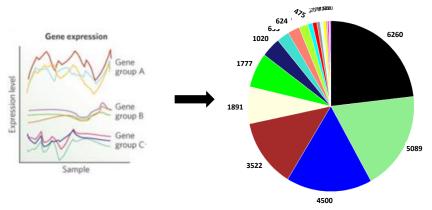








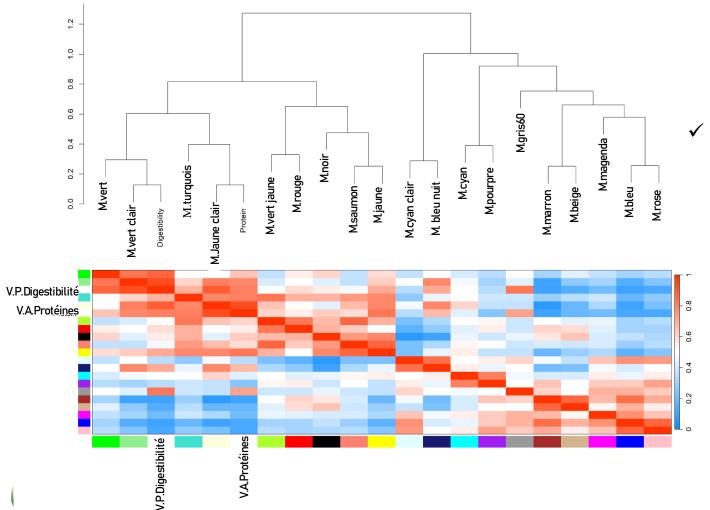
- ✓ Vitesse d'accumulation des protéines (V.A.Protéines)
- ✓ Vitesse de perte de digestibilité (V.P.Digestibilité)

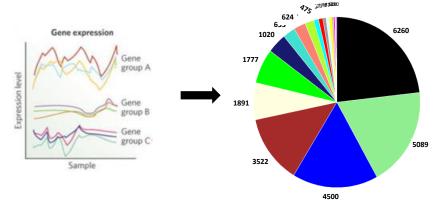


✓ Identification de 19 modules de co-expressions



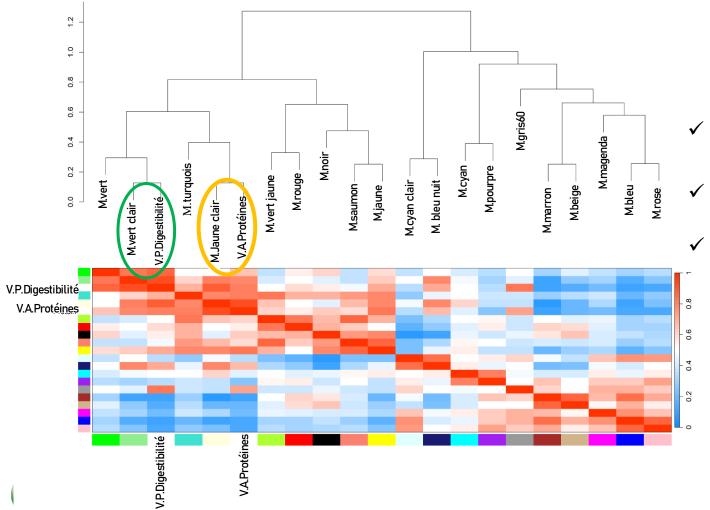
Liens entre modules, V.A.Protéines et V.P.Digestibilité

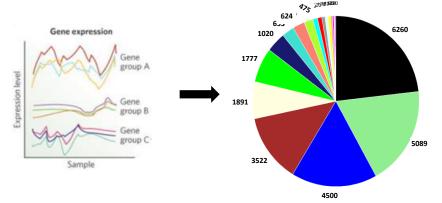




✓ Identification de 19 modules de co-expressions

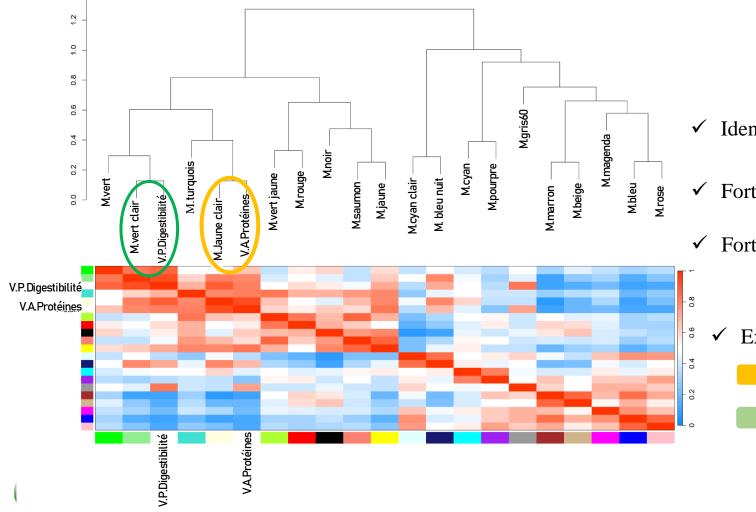
Liens entre modules, V.A.Protéines et V.P.Digestibilité

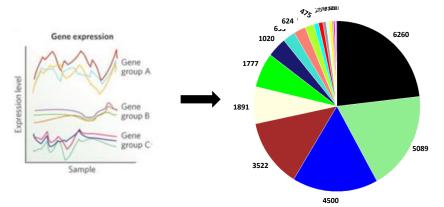




- ✓ Identification de 19 modules de co-expressions
- ✓ Forte corrélation entre le module jaune clair et V.A.Protéines
- ✓ Forte corrélation entre le module vert clair et la V.P.Digestibilité







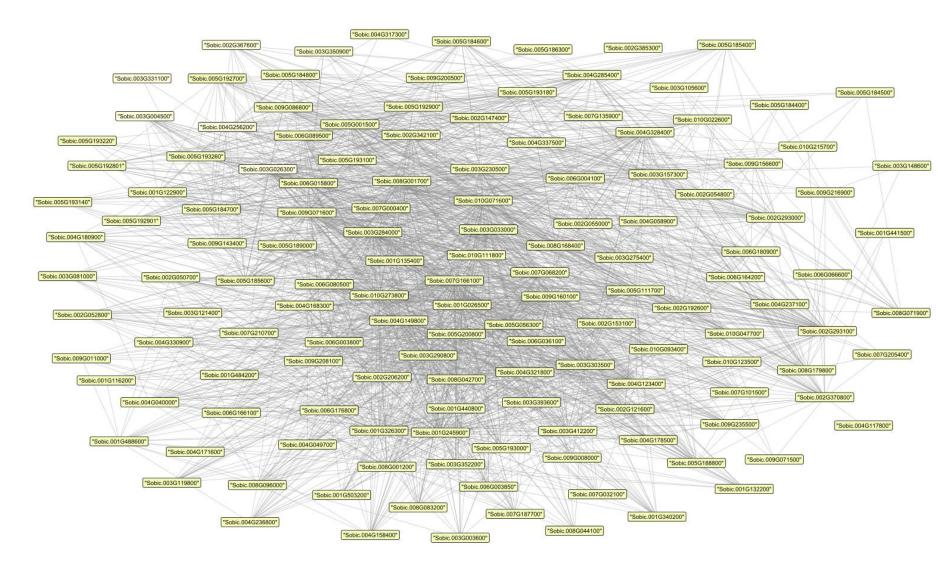
- ✓ Identification de 19 modules de co-expressions
- ✓ Forte corrélation entre le module jaune clair et V.A.Protéines
- ✓ Forte corrélation entre le module vert clair et la V.P.Digestibilité

- ✓ Explorer
 - → gènes clés dans l'accumulation des protéines
 - → gènes clés dans la perte de digestibilité

✓ Module jaune clair

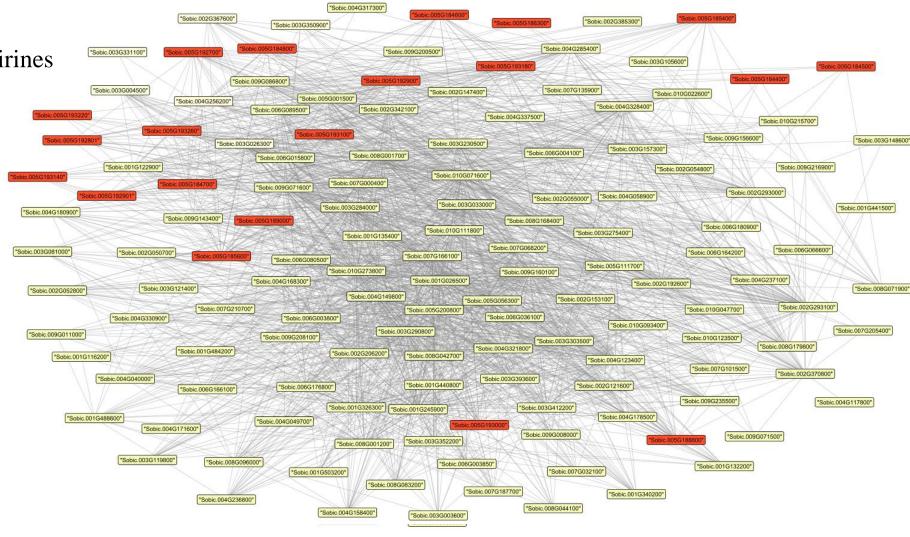


✓ Module jaune clair





- ✓ Module jaune clair
- ✓ 20/23 des gènes connus d'α-Kafirines

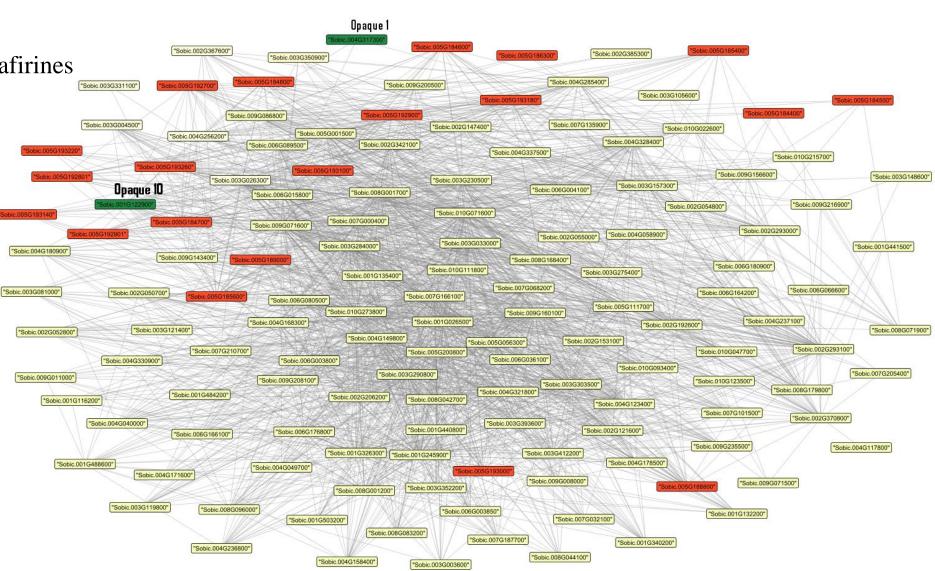


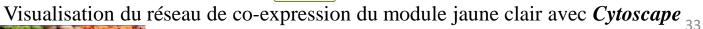


✓ Module jaune clair

✓ 20/23 des gènes connus d'α-Kafirines

✓ Orthologues de gènes de maïs dont les mutants sont affectés dans l'accumulation des protéines

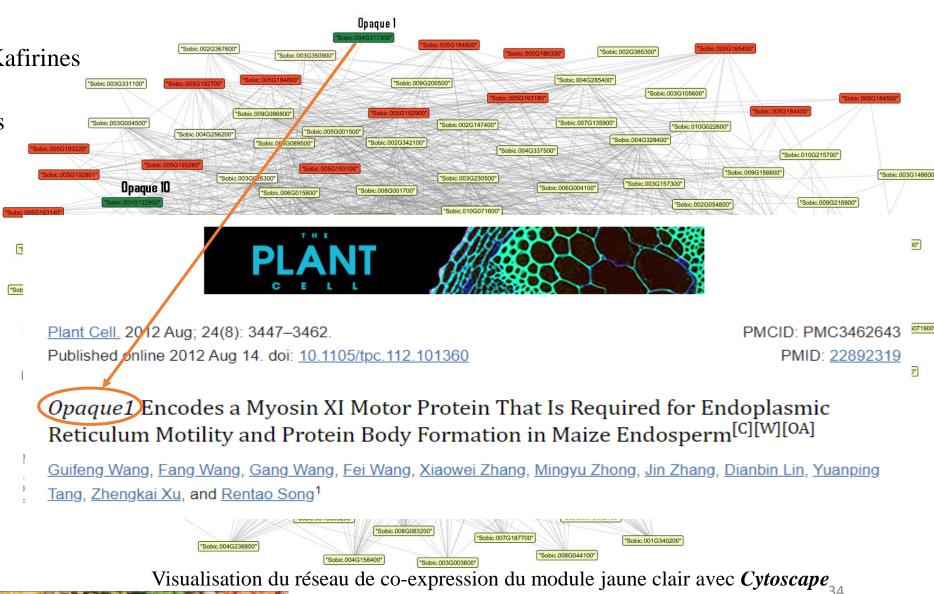




✓ Module jaune clair

✓ 20/23 des gènes connus d'a-Kafirines

✓ Orthologues de gènes de maïs dont les mutants sont affectés dans l'accumulation des protéines

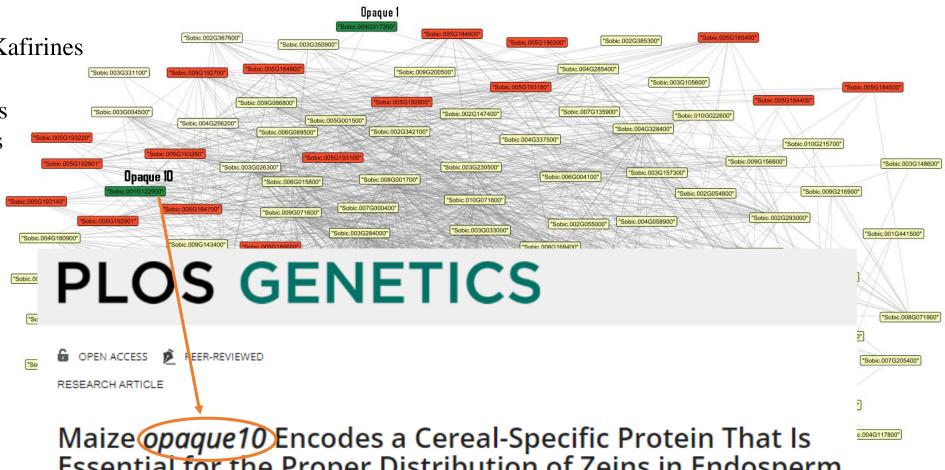




✓ Module jaune clair

✓ 20/23 des gènes connus d'α-Kafirines

✓ Orthologues de gènes de maïs dont les mutants sont affectés dans l'accumulation des protéines

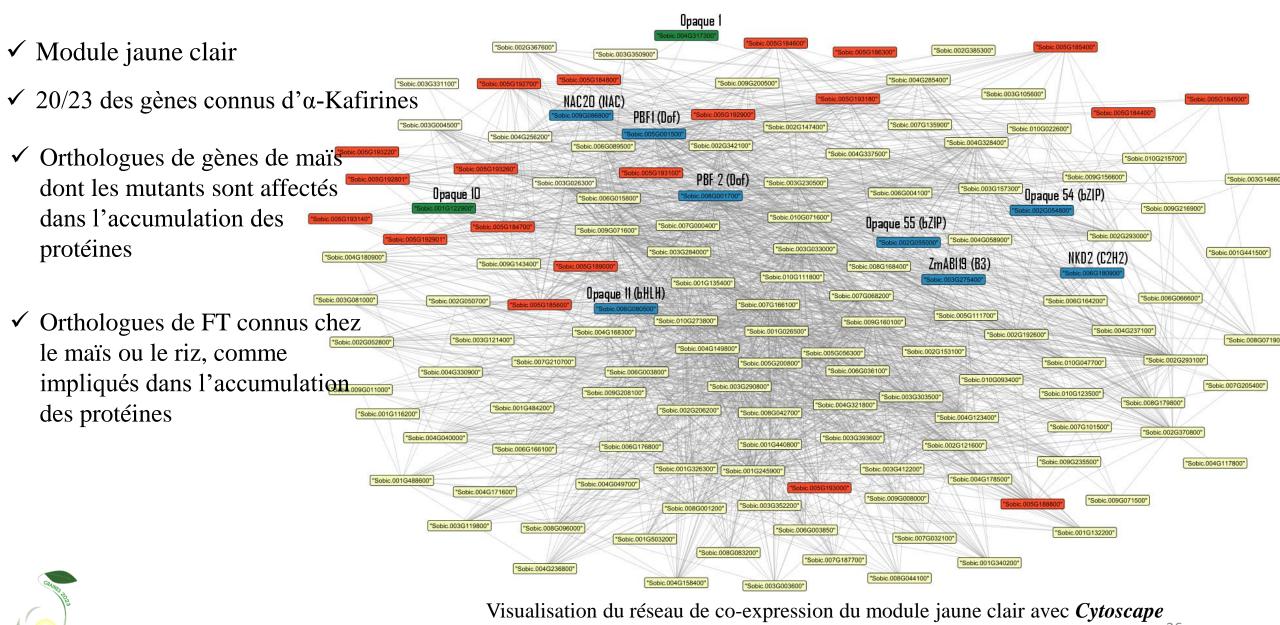


Essential for the Proper Distribution of Zeins in Endosperm **Protein Bodies**

Dongsheng Yao, Weiwei Qi, Xia Li, Qing Yang, Shumei Yan, Huiling Ling, Gang Wang, Guifeng Wang, Rentao Song 🖸

Published: August 19, 2016 • https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006270





*Sobic.003G350900

Opaque 11 (6HLH)

NAC20 (NAC)

"Sobic.006G089500"

"Sobic.004G256200"

Opaque 10

"Sobic.002G050700"

Opaque

"Sobic.002G342100"

PBF 2 (Dof)

Sobje 007G000400

"Sobic.001G135400"

✓ Module jaune clair

✓ 20/23 des gènes connus d'a-Kafirines

✓ Orthologues de gènes de maïs dont les mutants sont affectés dans l'accumulation des protéines

✓ Orthologues de FT connus chez le maïs ou le riz, comme impliqués dans l'accumulation des protéines (Sobic.002G052800°)

Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Sep 27; 113(39): 10842–10847.
Published online 2016 Sep 12. doi: 10.1073/pnas.1613721113

Maize endosperm-specific transcription factors 02 and PBF network the regulation of protein and starch synthesis

*Sobic.002G147400"

"Sobic 003G230500"

"Sobic.010G071600"

"Sobic.003G033000"

obic. 10G111800"

"Sobje 004G337500"

"Sobic.007G068200"

*Sobic.004G285400'

*Sobic 007G135900

"Sobic.006G004100"

Opaque 55 (bZIP)

"Sobic.003G105600"

"Sobic.004G328400

ZmAB119 (B3)

"Sobic.010G022600

Opaque 54 (bZIP)

"Sobic.010G215700"

"Sobic.002G293000"

NKD2 (C2H2)

"Sobic.006G164200"

"Sobic.009G216900"

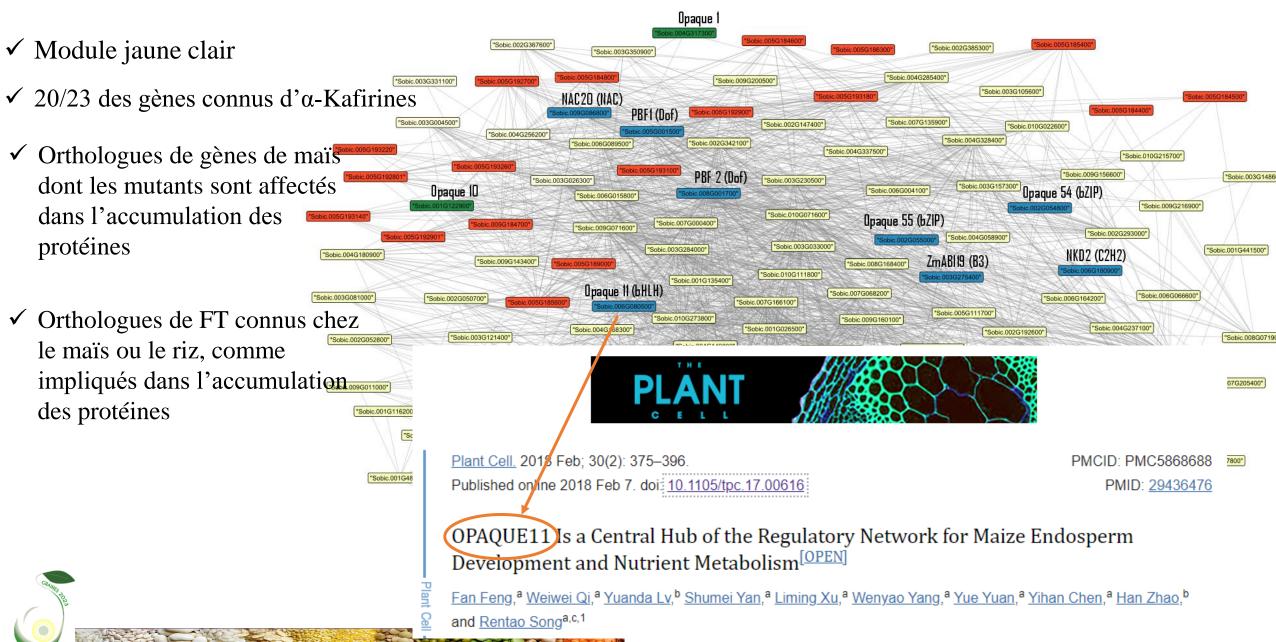
*Sobic.003G1486

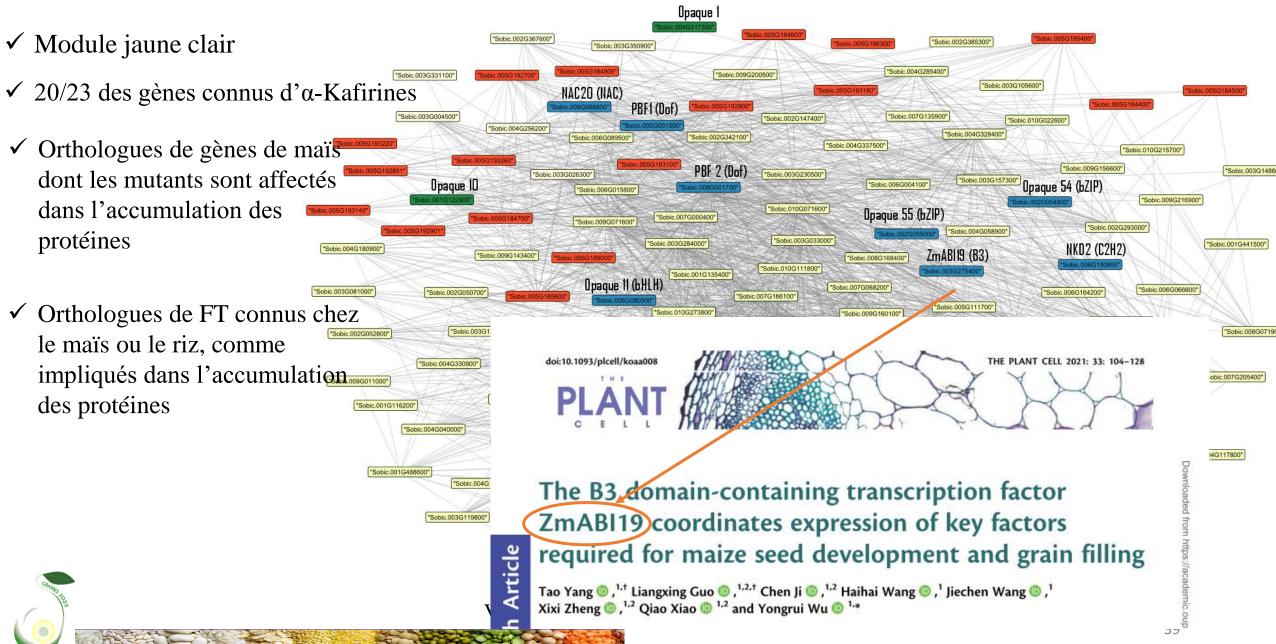
"Sobic.001G441500"

Zhiyong Zhang, a,b Xixi Zheng, Jun Yang, Joachim Messing, b,1 and Yongrui Wua,1

Visualisation du réseau de co-expression du module jaune clair avec *Cytoscape* 37







"Sobic.003G350900"

"Sobic.002G367600"

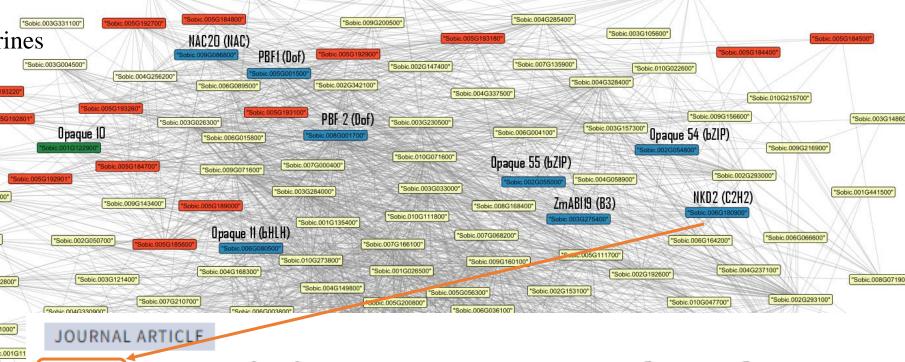
✓ Module jaune clair

✓ 20/23 des gènes connus d'a-Kafirines

✓ Orthologues de gènes de maïs dont les mutants sont affectés dans l'accumulation des protéines

✓ Orthologues de FT connus chez le maïs ou le riz, comme impliqués dans l'accumulation des protéines (SOLLOUGE SOLLOUS CONTROLLOUS CONTRO

"Sobic.003G081000"



"Sobic.002G385300"

NKD Transcription Factors Are Central Regulators of Maize Endosperm Development @

Bryan C. Gontarek, Anjanasree K. Neelakandan, Hao Wu, Philip W. Becraft
Author Notes

The Plant Cell, Volume 28, Issue 12, December 2016, Pages 2916–2936,



FT les plus liés aux gènes de α-kafirines



FT les plus liés aux gènes de α-kafirines

FT	Sobic_Name	Fréquence
PBF_2 (Dof)	Sobic.008G001700	17
PBF_1 (Dof)	Sobic.005G001500	14
NAC75 (NAC)	Sobic.009G071600	16
PTF1 (bHLH)	Sobic.010G071600	16
CO_like	Sobic.004G256200	14
DD7 (C2H2)	Sobic.002G293000	13
DD4 (C2H2)	Sobic.002G293100	13
DD4 (C2H2)	Sobic.004G285400	13
RGA (GRAS)	Sobic.008G168400	12
GATA16 (GATA)	Sobic.003G157300	11
BRZ1 (BES1)	Sobic.003G026300	10
ZmABl19 (B3)	Sobic.003G275400	10
NAC75 (NAC75)	Sobic.006G004100	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.009G086800	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.002G192600	9
MYB3R4 (MYB)	Sobic.004G123400	7
OsSPL6 (SBP)	Sobic.001G026500	6
СЗН	Sobic.005G111700	6
G2_like	Sobic.002G147400	5
NKD2 (C2H2)	Sobic.006G180900	5
Opaque54 (bZIP)	Sobic.002G054800	4
HD_ZIP	Sobic.003G303500	4
NAC	Sobic.007G166100	4
NF_YC	Sobic.008G071900	4



FT les plus liés aux gènes de α-kafirines

Connus dans l'accumulation des protéines

FT	Sobic_Name	Fréquence
PBF_2 (Dof)	Sobic.008G001700	17
PBF_1 (Dof)	Sobic.005G001500	14
NAC75 (NAC)	Sobic.009G071600	16
PTF1 (bHLH)	Sobic.010G071600	16
CO_like	Sobic.004G256200	14
DD7 (C2H2)	Sobic.002G293000	13
DD4 (C2H2)	Sobic.002G293100	13
DD4 (C2H2)	Sobic.004G285400	13
RGA (GRAS)	Sobic.008G168400	12
GATA16 (GATA)	Sobic.003G157300	11
BRZ1 (BES1)	Sobic.003G026300	10
ZmABl19 (B3)	Sobic.003G275400	10
NAC75 (NAC75)	Sobic.006G004100	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.009G086800	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.002G192600	9
MYB3R4 (MYB)	Sobic.004G123400	7
OsSPL6 (SBP)	Sobic.001G026500	6
СЗН	Sobic.005G111700	6
G2_like	Sobic.002G147400	5
NKD2 (C2H2)	Sobic.006G180900	5
Opaque54 (bZIP)	Sobic.002G054800	4
HD_ZIP	Sobic.003G303500	4
NAC	Sobic.007G166100	4
NF_YC	Sobic.008G071900	4



FT les plus liés aux gènes de α-kafirines

Connus dans l'accumulation des protéines

Connus dans l'accumulation des protéines

Connus dans l'accumulation des protéines

FT	Sobic_Name	Fréquence
PBF_2 (Dof)	Sobic.008G001700	17
PBF_1 (Dof)	Sobic.005G001500	14
NAC75 (NAC)	Sobic.009G071600	16
PTF1 (bHLH)	Sobic.010G071600	16
CO_like	Sobic.004G256200	14
DD7 (C2H2)	Sobic.002G293000	13
DD4 (C2H2)	Sobic.002G293100	13
DD4 (C2H2)	Sobic.004G285400	13
RGA (GRAS)	Sobic.008G168400	12
GATA16 (GATA)	Sobic.003G157300	11
BRZ1 (BES1)	Sobic.003G026300	10
ZmABl19 (B3)	Sobic.003G275400	10
NAC75 (NAC75)	Sobic.006G004100	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.009G086800	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.002G192600	9
MYB3R4 (MYB)	Sobic.004G123400	7
OsSPL6 (SBP)	Sobic.001G026500	6
СЗН	Sobic.005G111700	6
G2_like	Sobic.002G147400	5
NKD2 (C2H2)	Sobic.006G180900	5
Opaque54 (bZIP)	Sobic.002G054800	4
HD_ZIP	Sobic.003G303500	4
NAC	Sobic.007G166100	4
NF_YC	Sobic.008G071900	4



FT les plus liés aux gènes de α-kafirines

Connus dans l'accumulation des protéines

Non connus dans l'accumulation des protéines

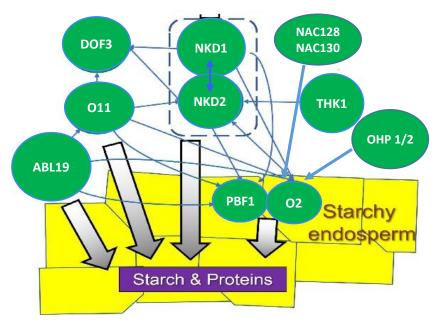
Connus dans l'accumulation des protéines

Connus dans l'accumulation des protéines

FT	Sobic_Name	Fréquence
PBF_2 (Dof)	Sobic.008G001700	17
PBF_1 (Dof)	Sobic.005G001500	14
NAC75 (NAC)	Sobic.009G071600	16
PTF1 (bHLH)	Sobic.010G071600	16
CO_like	Sobic.004G256200	14
DD7 (C2H2)	Sobic.002G293000	13
DD4 (C2H2)	Sobic.002G293100	13
DD4 (C2H2)	Sobic.004G285400	13
RGA (GRAS)	Sobic.008G168400	12
GATA16 (GATA)	Sobic.003G157300	11
BRZ1 (BES1)	Sobic.003G026300	10
ZmABl19 (B3)	Sobic.003G275400	10
NAC75 (NAC75)	Sobic.006G004100	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.009G086800	10
OsNAC20 (NAC)	Sobic.002G192600	9
MYB3R4 (MYB)	Sobic.004G123400	7
OsSPL6 (SBP)	Sobic.001G026500	6
СЗН	Sobic.005G111700	6
G2_like	Sobic.002G147400	5
NKD2 (C2H2)	Sobic.006G180900	5
Opaque54 (bZIP)	Sobic.002G054800	4
HD_ZIP	Sobic.003G303500	4
NAC	Sobic.007G166100	4
NF_YC	Sobic.008G071900	4

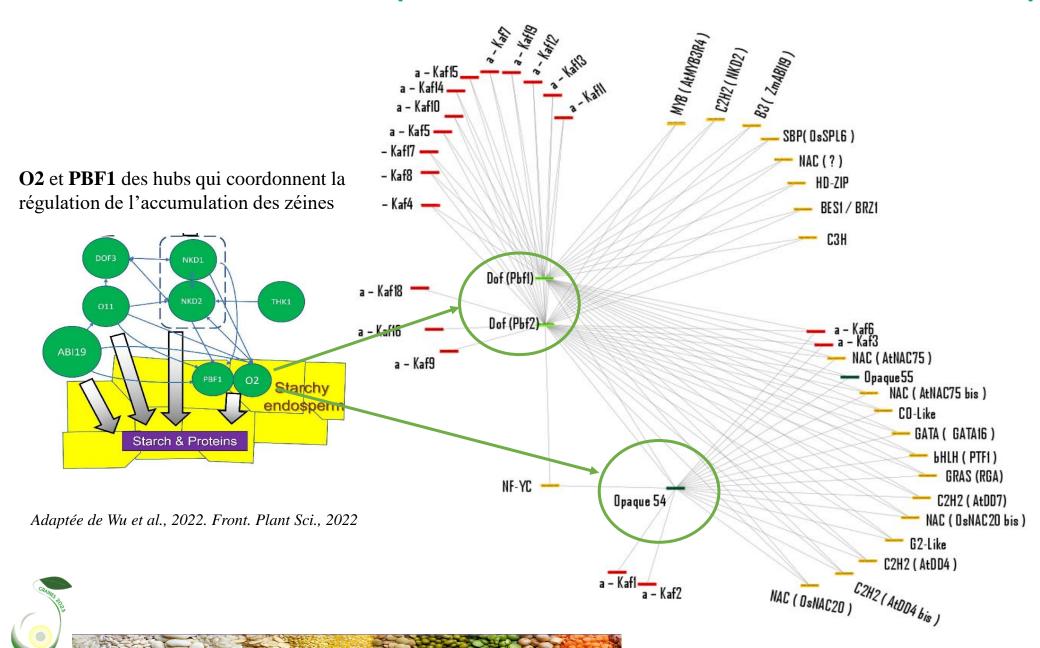


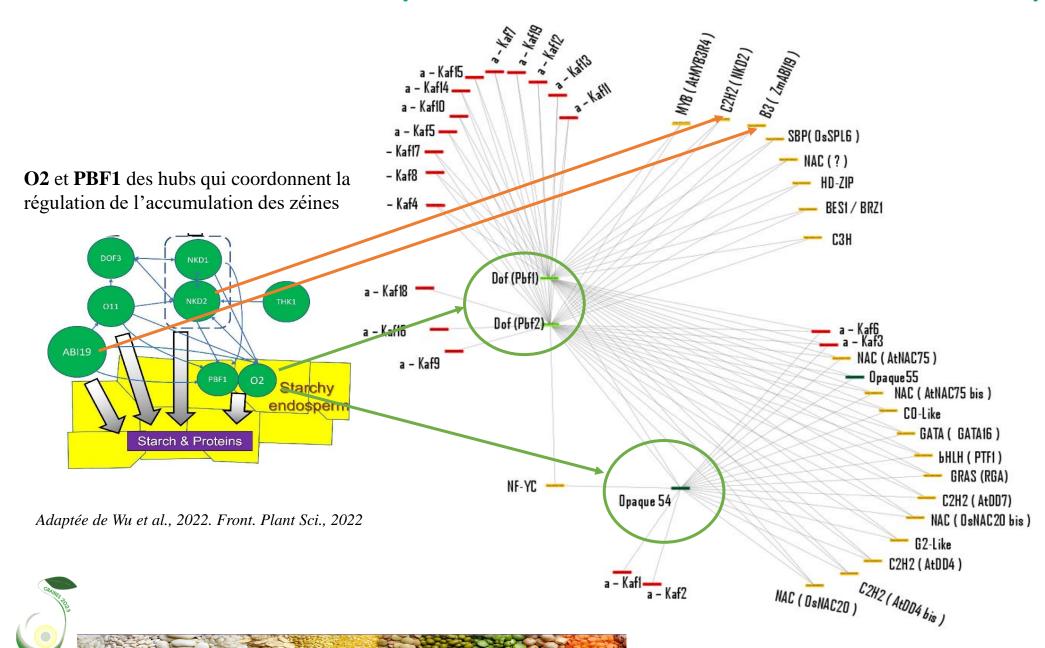
O2 et **PBF1** des hubs qui coordonnent la régulation de l'accumulation des zéines

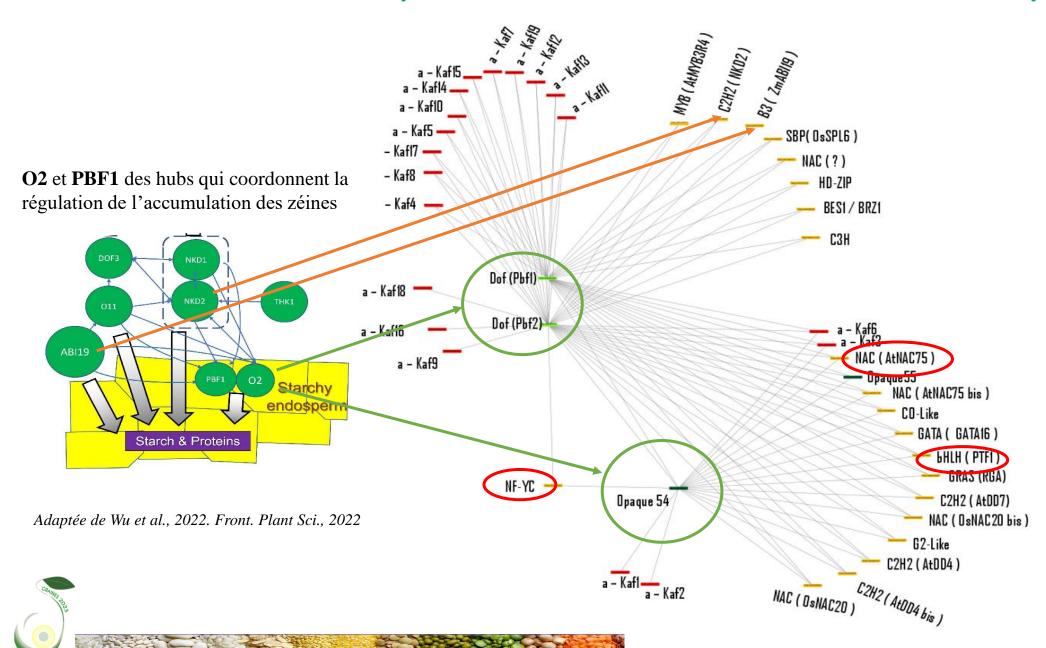


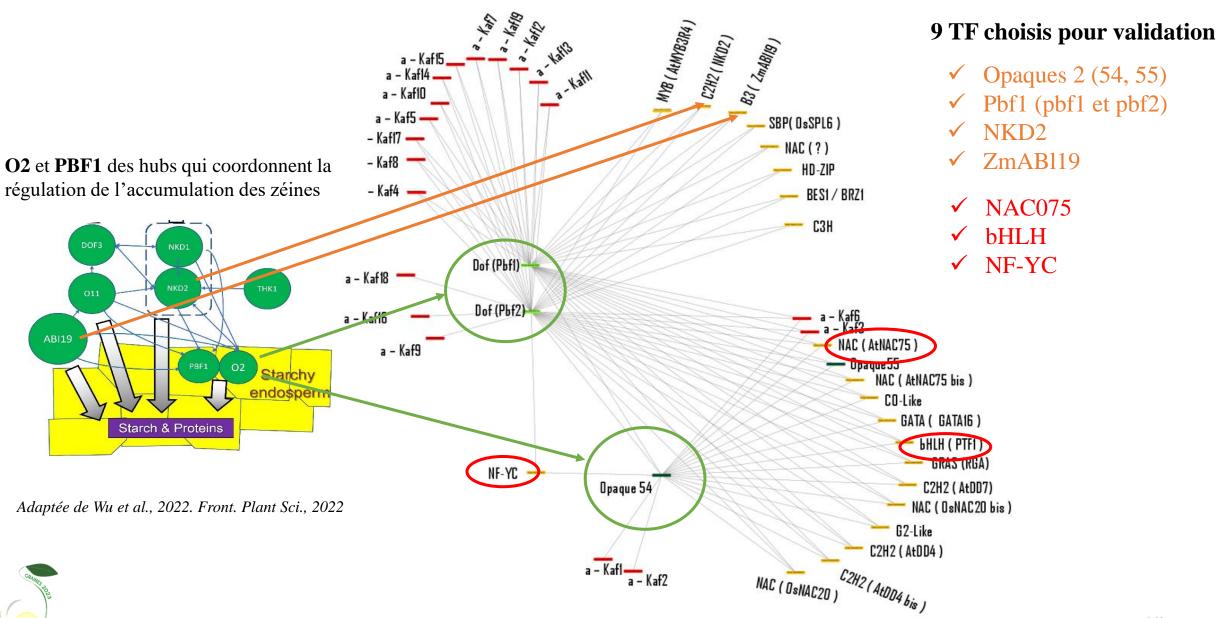
Adaptée de Wu et al., 2022. Front. Plant Sci., 2022





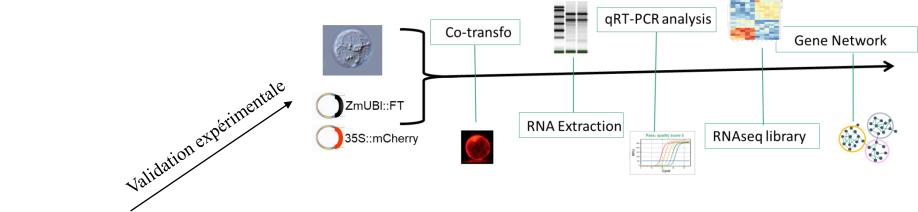






Validation des facteurs clés dans l'accumulation des protéines

Surexpression dans des protoplastes de Sorgho

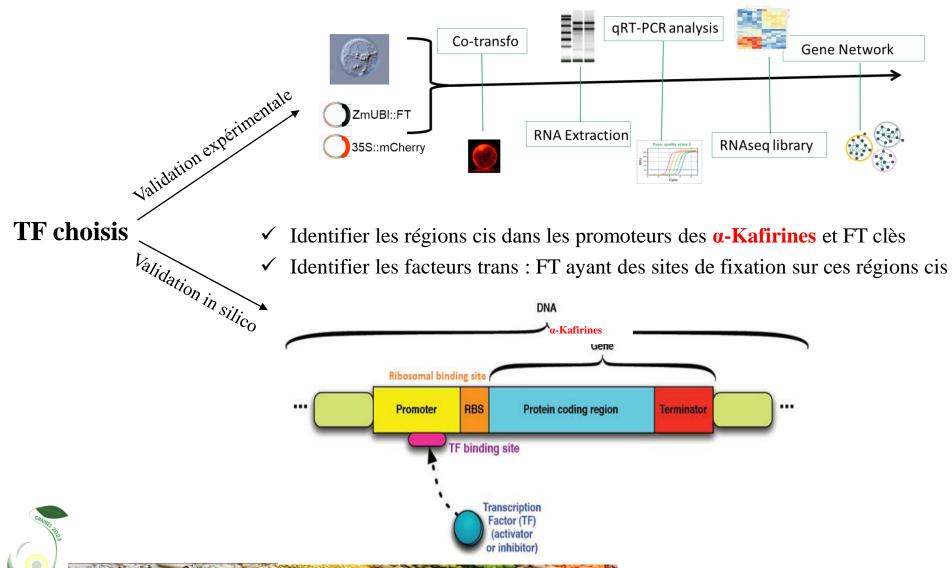






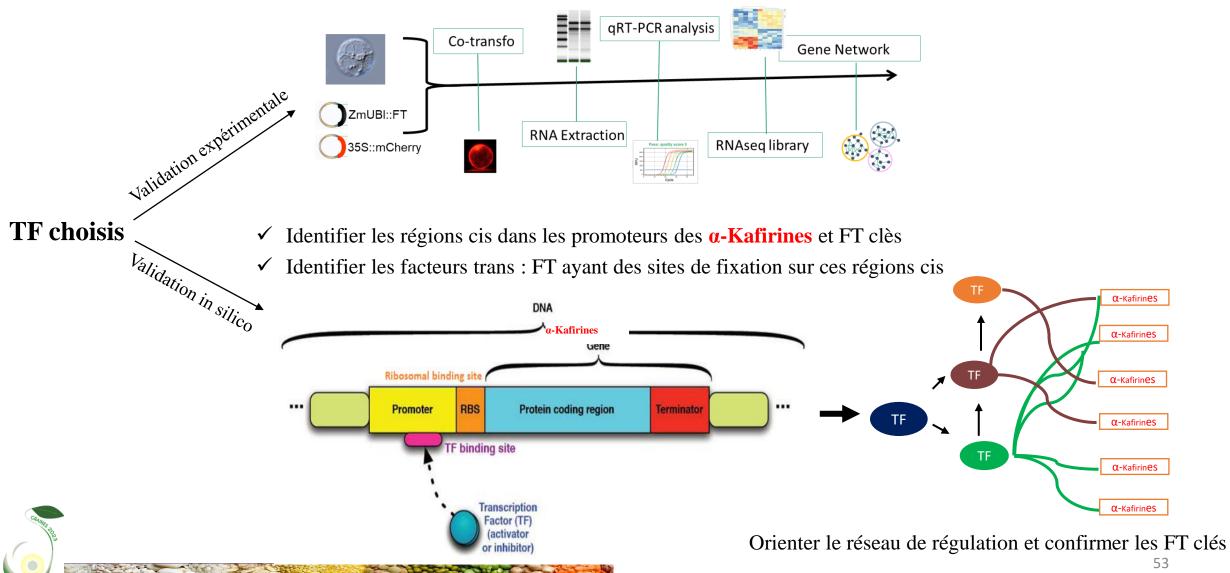
Validation des facteurs clés dans l'accumulation des protéines

Surexpression dans des protoplastes de Sorgho



Validation des facteurs clés dans l'accumulation des protéines

Surexpression dans des protoplastes de Sorgho













remerciements



N. Terrier





D. Pot



M. Rios

C. Calatayud



H. Mameri





A. Berger





J. Bonnicel



M.H. Morel

















Gènes clés impliqués dans la perte de digestibilité

/	N / 1 1	, 1 •
✓	Module	vert clair

- ✓ Gènes clés : GS>|0,8|
- ✓ Majoritairement des FT
- ✓ 8 gènes de structure :
 - GBSSI : amidon synthase 1-2
 - PDI : Protéine disulfure isomérase

	Nom de gène Sorgho	Espèce du gène orthologue	Symbole du gène	Classe de Facteur de Transcription	References	GS Digestibilité
	Sobic.002G116000	O. sativa	GBSSI or waxy	-	Smith., 1997	0,912
Ī	Sobic.009G057600	O. sativa	Os03g42280.1	В3	Jin et al., 2017	0,896
	Sobic.001G496600	S.bicolor	NA	STAT	Jin et al., 2017	0,895
	Sobic.003G027000	S.bicolor	NA	MIKC_MADS	Jin et al., 2018	0,892
	Sobic.004G056000	O. sativa	OsMADS29	MIKC_MADS	Ouyang et al., 2007	0,883
	Sobic.007G193300	O. sativa	OsMADS7/OsMADS45	MIKC_MADS	Zhang et al., 2018	0,877
	Sobic.001G086400	S.bicolor	NA	MIKC_MADS	Jin et al., 2017	0,874
	Sobic.003G381100	O. sativa	OsMADS21	MIKC_MADS	Ouyang et al., 2007	0,870
	Sobic.001G178100	A. thaliana	IMP	-	Rishi et al., 2015	0,865
	Sobic.001G217200	S.bicolor	NA	HD-ZIP	Jin et al., 2017	0,862
	Sobic.001G235100	S.bicolor	NA	MYB_related	Jin et al., 2017	0,857
	Sobic.002G054400	O. sativa	OsPK2	-	Cai et al., 2018	0,849
	Sobic.004G000400	Z. mays	PDI	-	Nancy_Mano	0,849
ľ	Sobic.001G537300	S.bicolor	NA	HD-ZIP	Jin et al., 2017	0,845
	Sobic.006G266400	Z. mays	ZmAFL4	В3	Grimault et al., 2015	0,839
	Sobic.001G217300	S.bicolor	NA	ARF	Jin et al., 2017	0,836
	Sobic.007G141600	S.bicolor	NA	C2H2	Jin et al., 2017	0,835
	Sobic.001G239500	O. sativa	SS 1-2	-	Ouyang et al., 2007	0,833
	Sobic.003G379000	O. sativa	OsMADS2	MIKC_MADS	Ouyang et al., 2007	0,829
	Sobic.002G368700	S.bicolor	NA	MIKC_MADS	Jin et al., 2017	0,829

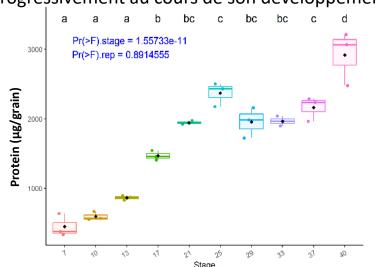
PDI: a des **propriétés d'oxydoréductase et d'isomérase** et peut **causer le repliement des protéines dans le réticulum endoplasmique** en catalysant la formation de ponts disulfures (Moretti & Laurindo, 2017)



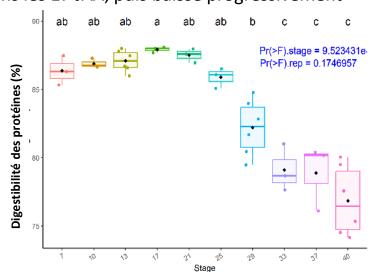
Sobic.001G219300	Z. mays	Mdh4		Chen et al., 2020	0,806
Sobic.004G026700	S.bicolor	NA	bZIP	Jin et al., 2017	0,802

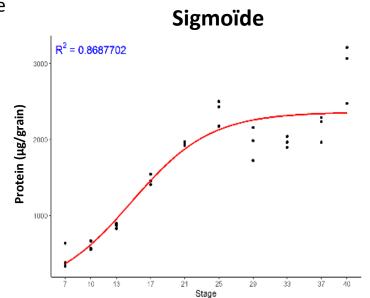
Evolution de l'accumulation des protéines et leur digestibilité au cours du développement du grain

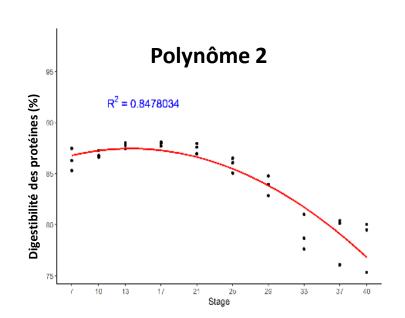
La **quantité de protéines** dans les grains augmente progressivement au cours de son développement



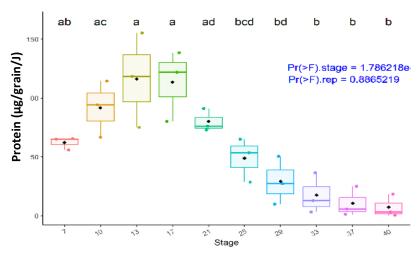
La **digestibilité des protéines** est assez stable dans les 17 JAA, puis baisse progressivement



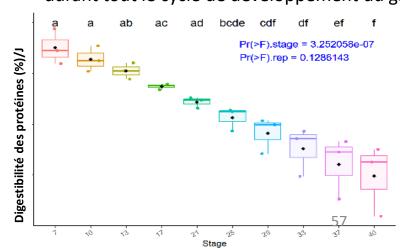




Vitesse d'accumulation des protéines est max entre le 13^{ème} et 17^{ème} JAA et baisse

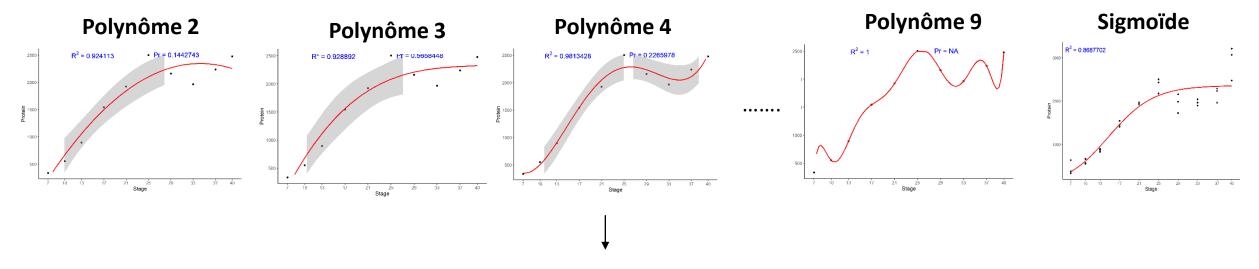


Vitesse de perte de digestibilité est progressive durant tout le cycle de développement du grain



Analyses statistiques des données phénotypiques

- ✓ **ANOVA** + **test HSD de Tukey** : étudier l'évolution de chaque trait et comparer les différents stades au cours du développement du grain
- ✓ **Test de plusieurs modèles mathématiques** (*Sigmoïde, Polynômes*) : calculer les vitesses d'accumulation des protéines et les vitesses de perte de digestibilité entre les différents stades



- ✓ Vitesse d'accumulation des protéines
- ✓ Vitesse d'accumulation de l'amidon
- ✓ Vitesse de perte de digestibilité