

**UCL**

Université catholique  
de Louvain

Institut des Sciences  
de la Vie



# Les mouvements de l'eau dans les organismes vivants : l'exemple de la plante

François Chaumont

*Société Royale des Sciences de Liège, le 3 décembre 2010*

# Les mouvements de l'eau dans les organismes vivants : l'exemple de la plante

---

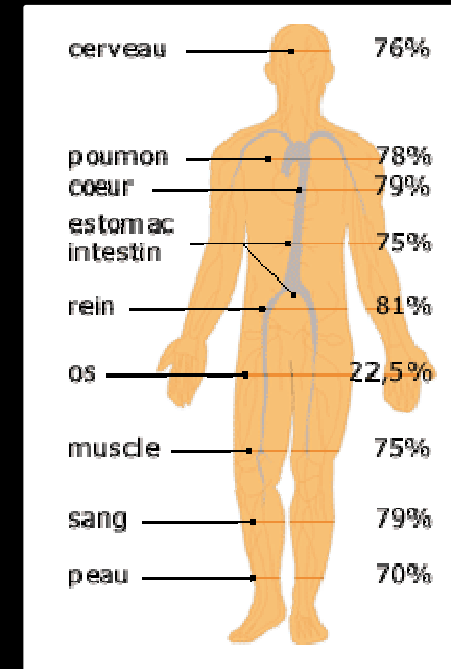


- L'eau et les organismes vivants
- L'eau et son mouvement au sein des plantes
- Les aquaporines
- Le rôle des aquaporines végétales
- La régulation des aquaporines végétales
- Conclusions et perspectives

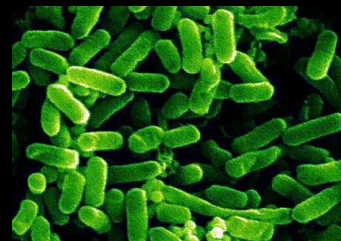
# L'eau, constituant majeur des organismes vivants

- Corps humain : 65 % du poids total

- Plantes : entre 80 et 95 % du poids total



- Bactéries : 70 % du poids total (*E. coli*)



# L'eau, constituant majeur des organismes vivants

---

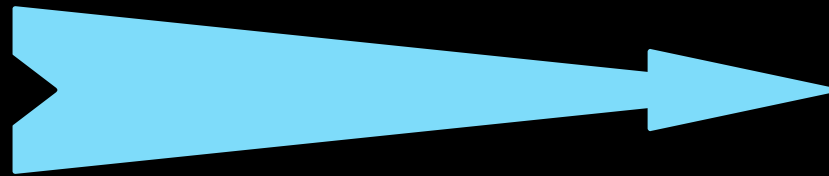
## Fonctions

- solvant
- réactions chimiques
- transport d'éléments nutritifs nécessaires au métabolisme
- pression de turgescence
- élimination des déchets métaboliques
- thermorégulation des organismes

# Le mouvement de l'eau

$\Psi$  = potentiel hydrique

$\Psi$  le plus élevé

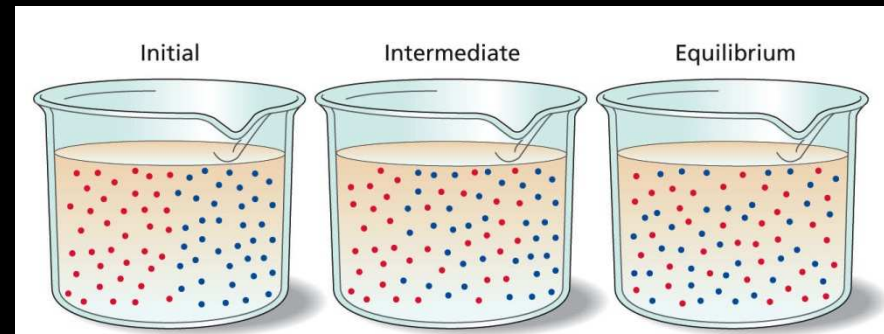


$\Psi$  le plus bas

Flux de masse

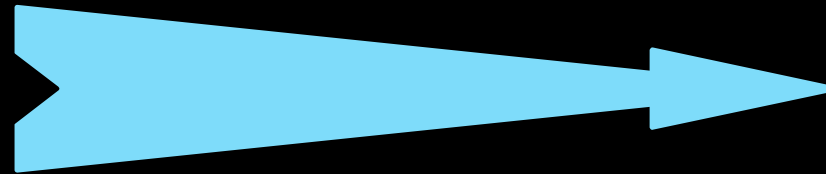


Diffusion



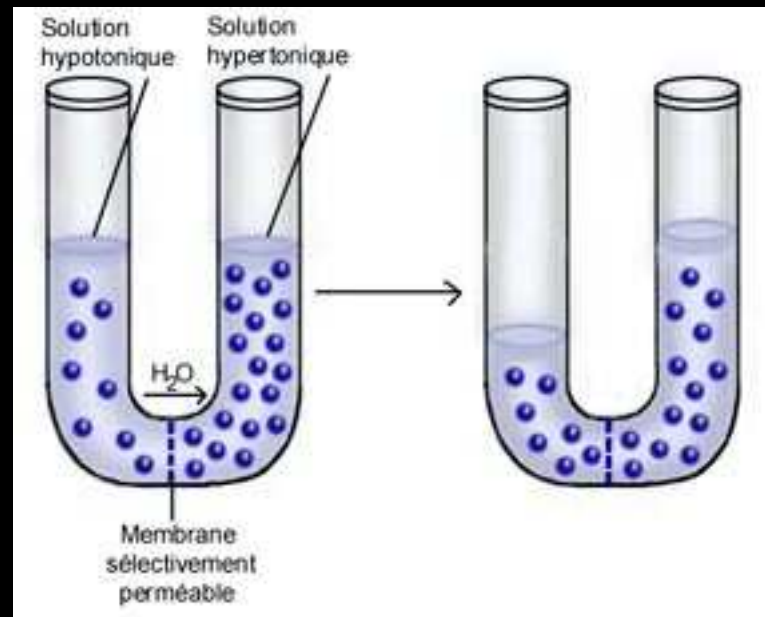
# Le mouvement de l'eau

$\Psi$  le plus élevé



$\Psi$  le plus bas

Osmose

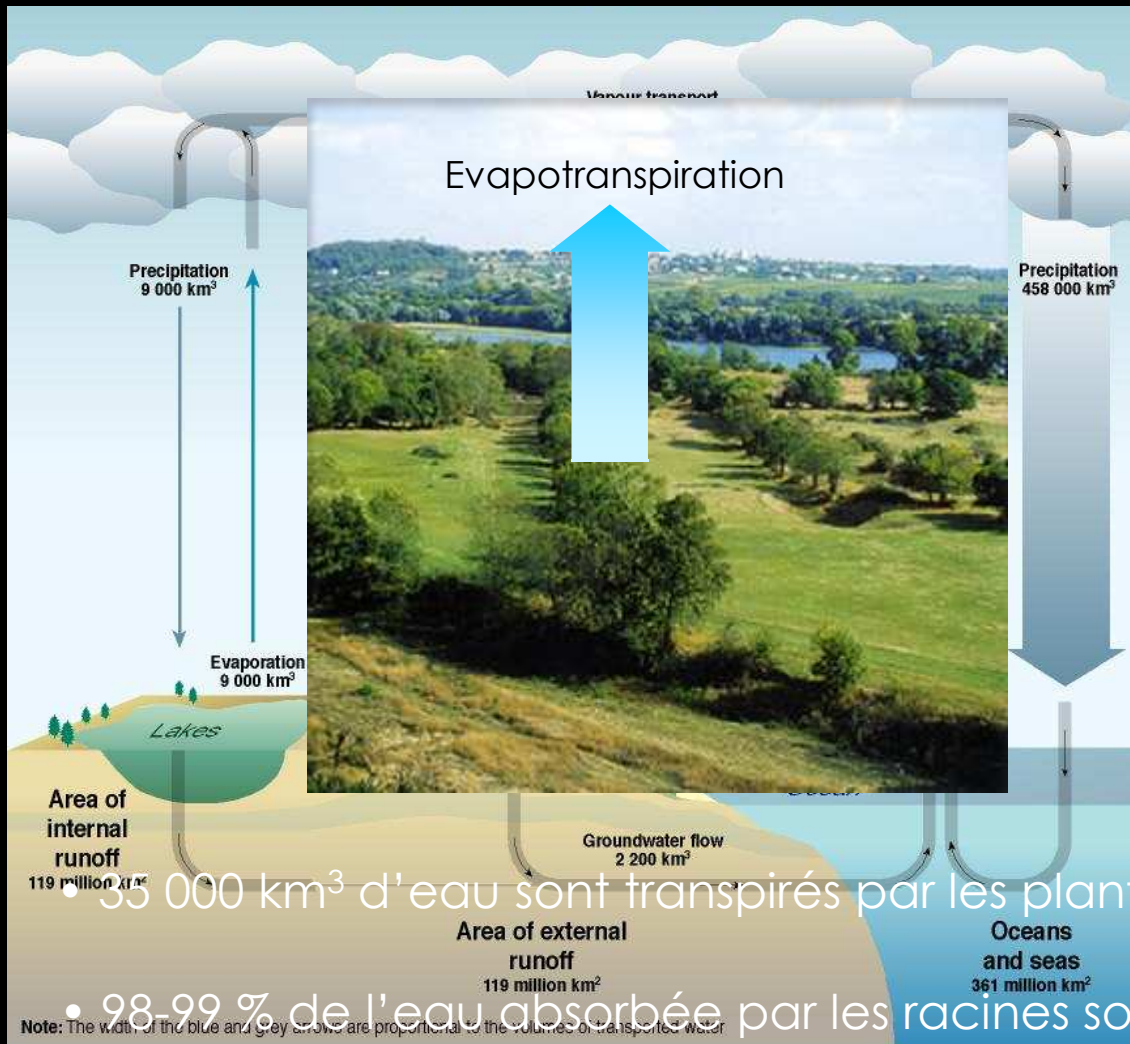


$$\Pi = icRT$$

# L'eau et son mouvement au sein des plantes



# La contribution des plantes dans le cycle de l'eau



• 35 000 km<sup>3</sup> d'eau sont transpirés par les plantes supérieures

• 98-99 % de l'eau absorbée par les racines sont libérés dans l'air...

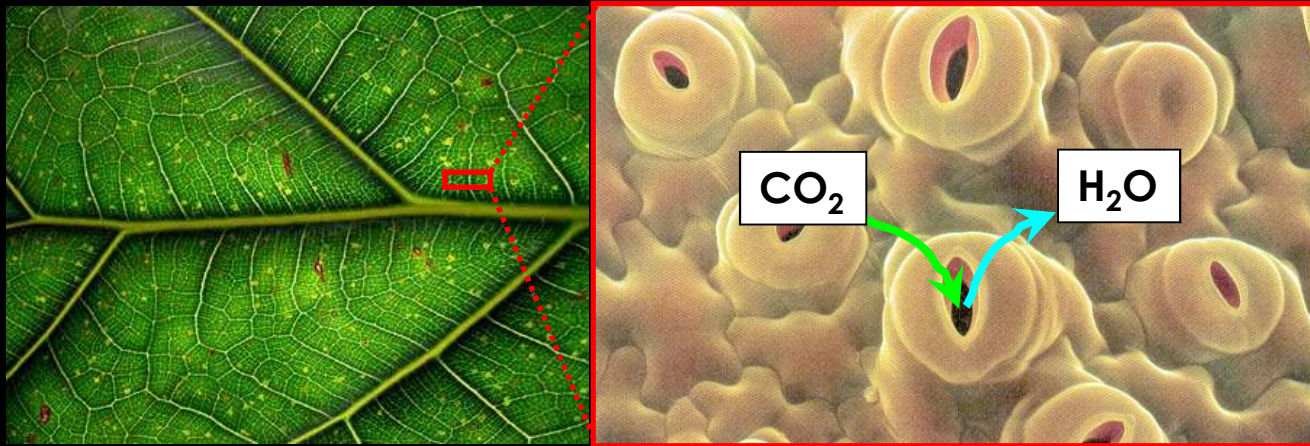
Note: The width of the blue and grey arrows are proportional to the volumes of transported water.



# Le prélèvement et le mouvement de l'eau chez la plante

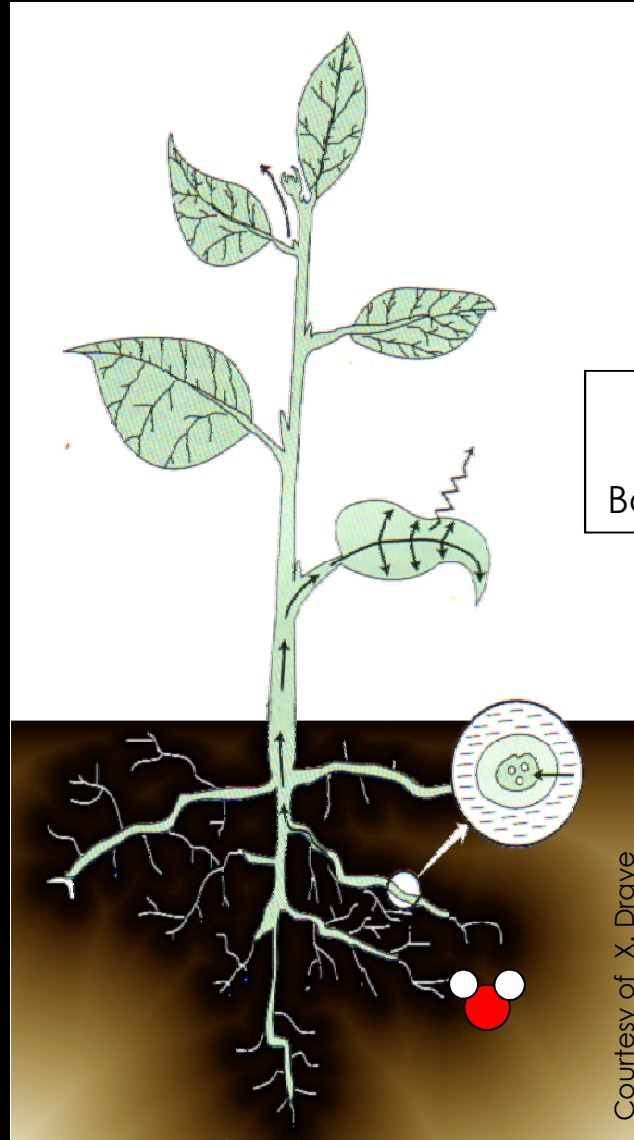
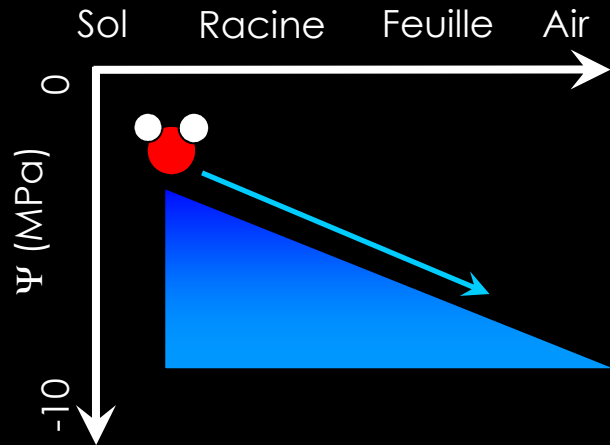
---

- Transpiration de l'eau lié à l'absorption du  $\text{CO}_2$  nécessaire à la photosynthèse



- Phénomène passif contrôlé par le gradient de potentiel hydrique

# Le gradient de potentiel hydrique



## $\Psi$ atmosphérique :

Change avec l'humidité  
Généralement très faible

## $\Psi$ de la feuille :

Dépend du taux de transpiration  
Bas quand les stomates sont ouverts

## $\Psi$ racinaire :

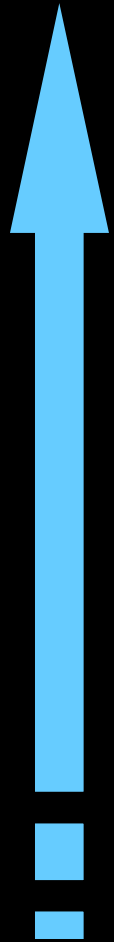
Modéré à élevé

## $\Psi$ du sol :

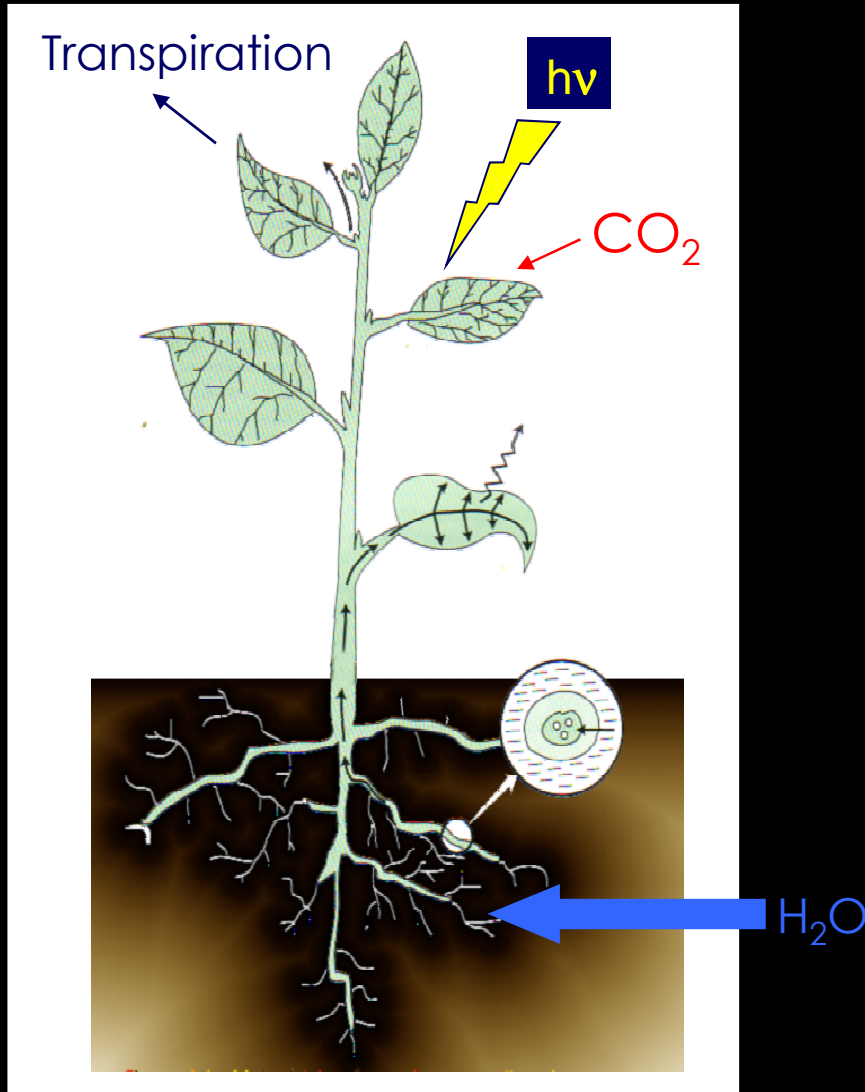
Élevé si humide  
(bas en cas de sécheresse)

# Le mouvement de l'eau lors de la transpiration

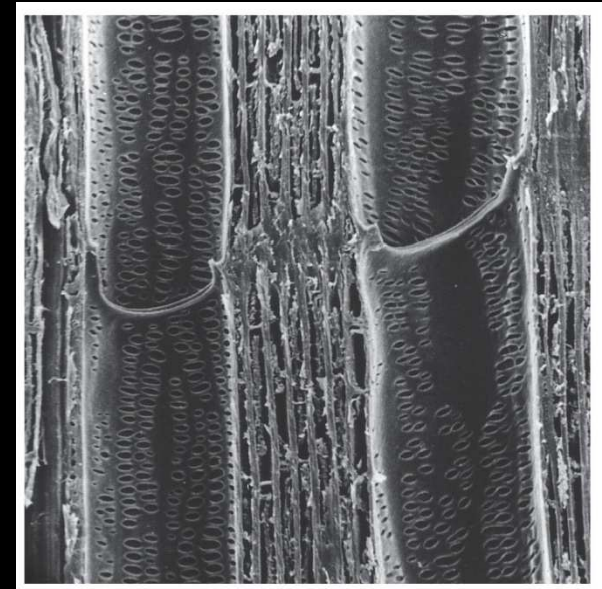
Lower  $\Psi$



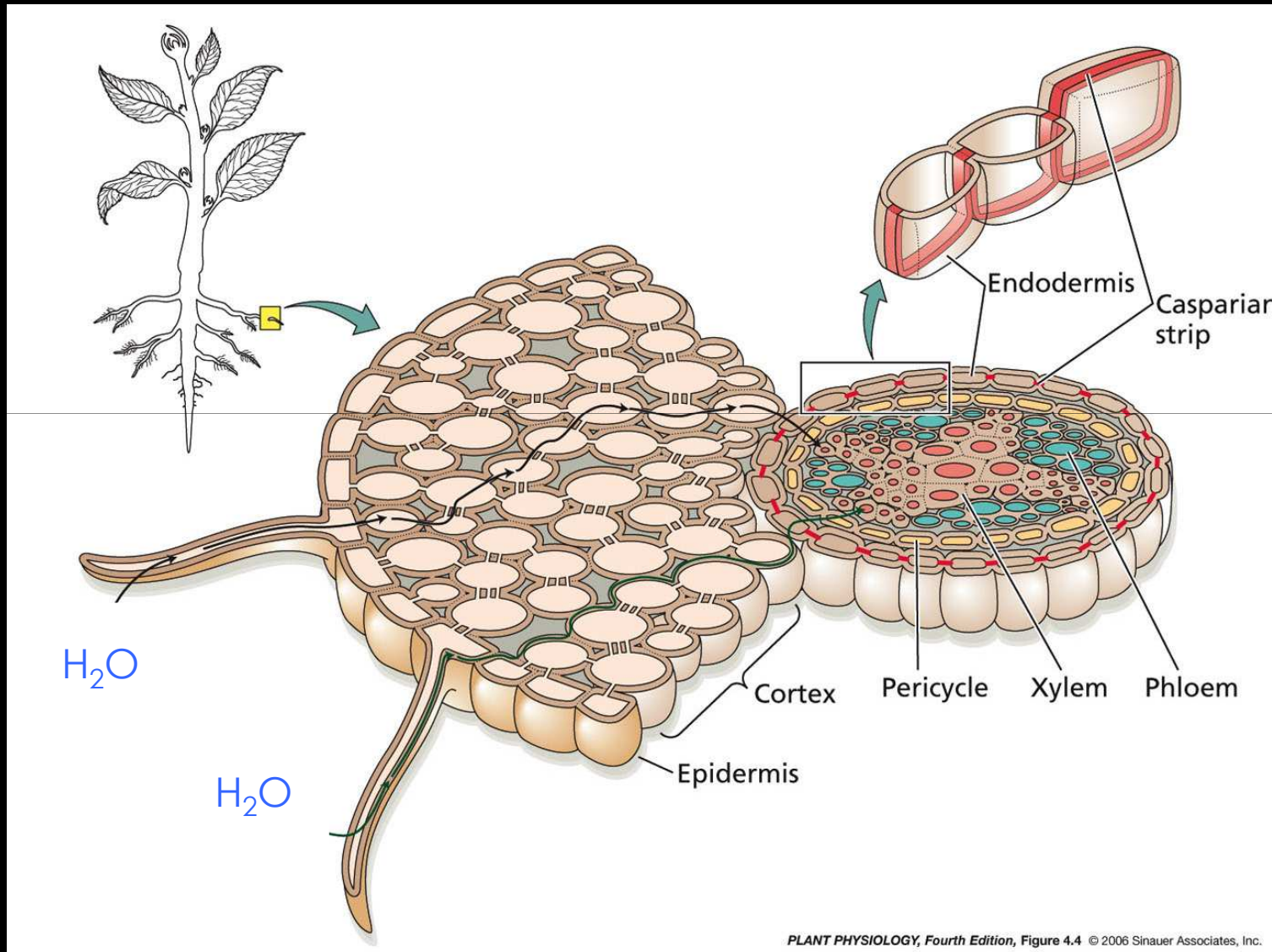
Higher  $\Psi$



Vaisseaux xylémiens

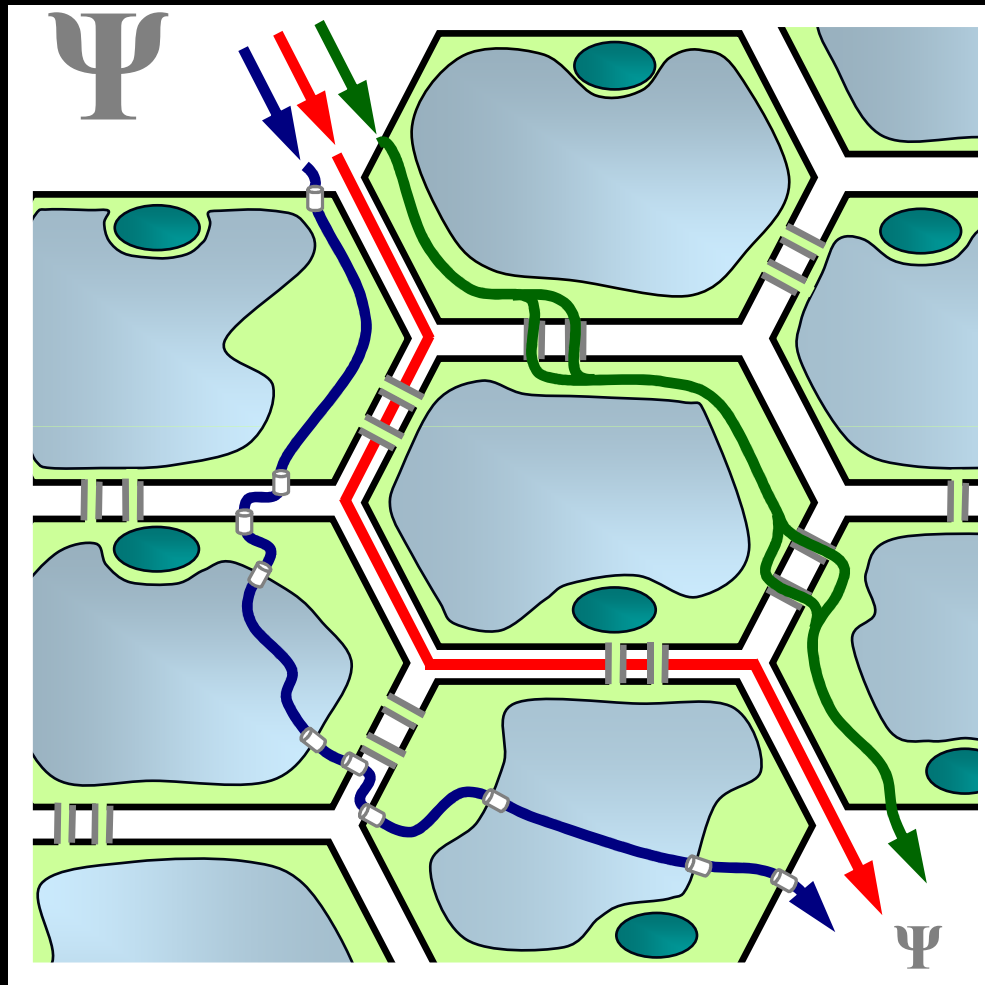


# Le mouvement de l'eau lors de la transpiration





# Trois chemins pour le mouvement de l'eau dans les tissus végétaux



- Apoplastique (paroi cellulaire)

- Symplastique (plasmodesmes)

- Transcellulaire (membranes)

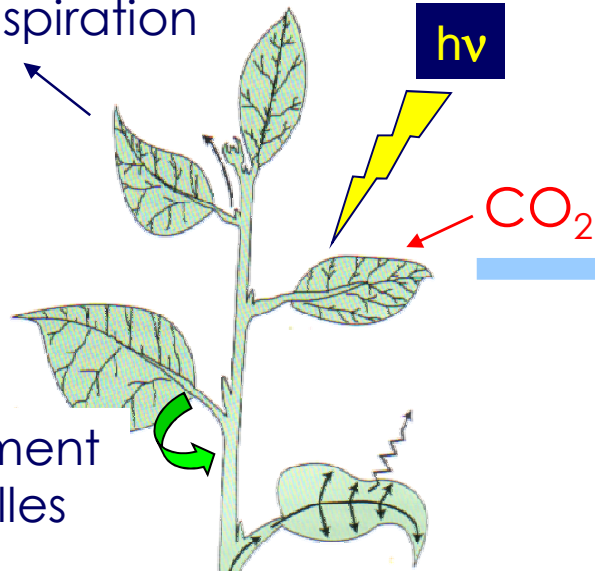
# Le mouvement de l'eau au niveau cellulaire

$\Psi$  bas



$\Psi$  élevé

Transpiration

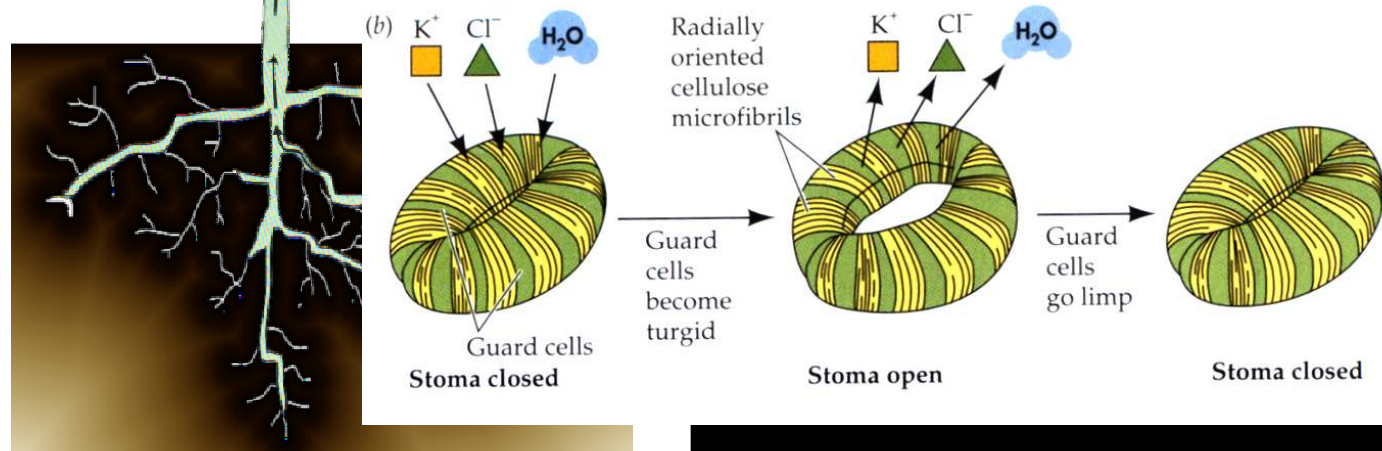


Mouvement des feuilles

Ouverture et fermeture des stomates



D. Bergmann



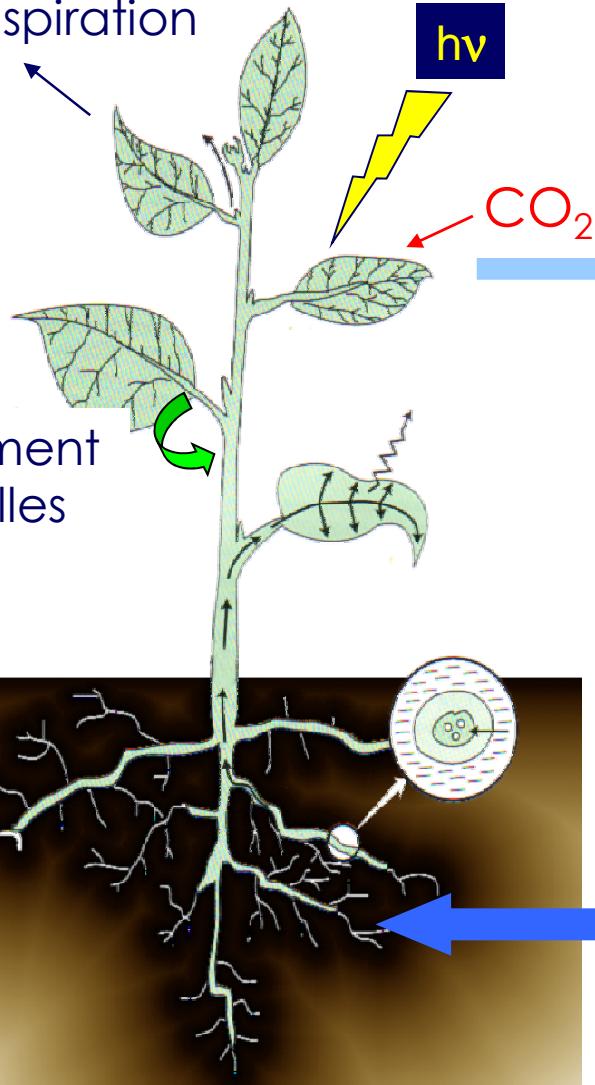
# Le mouvement de l'eau au niveau cellulaire

$\Psi$  bas



$\Psi$  élevé

Transpiration

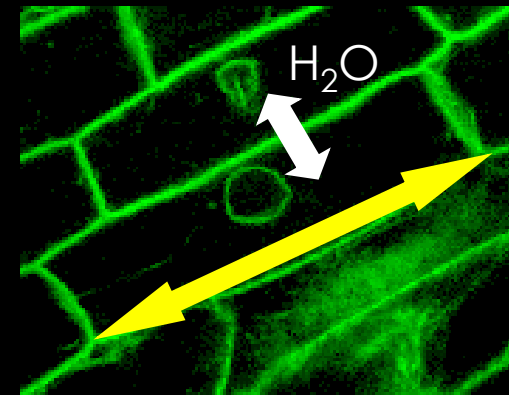


Mouvement  
des feuilles

Ouverture et fermeture  
des stomates



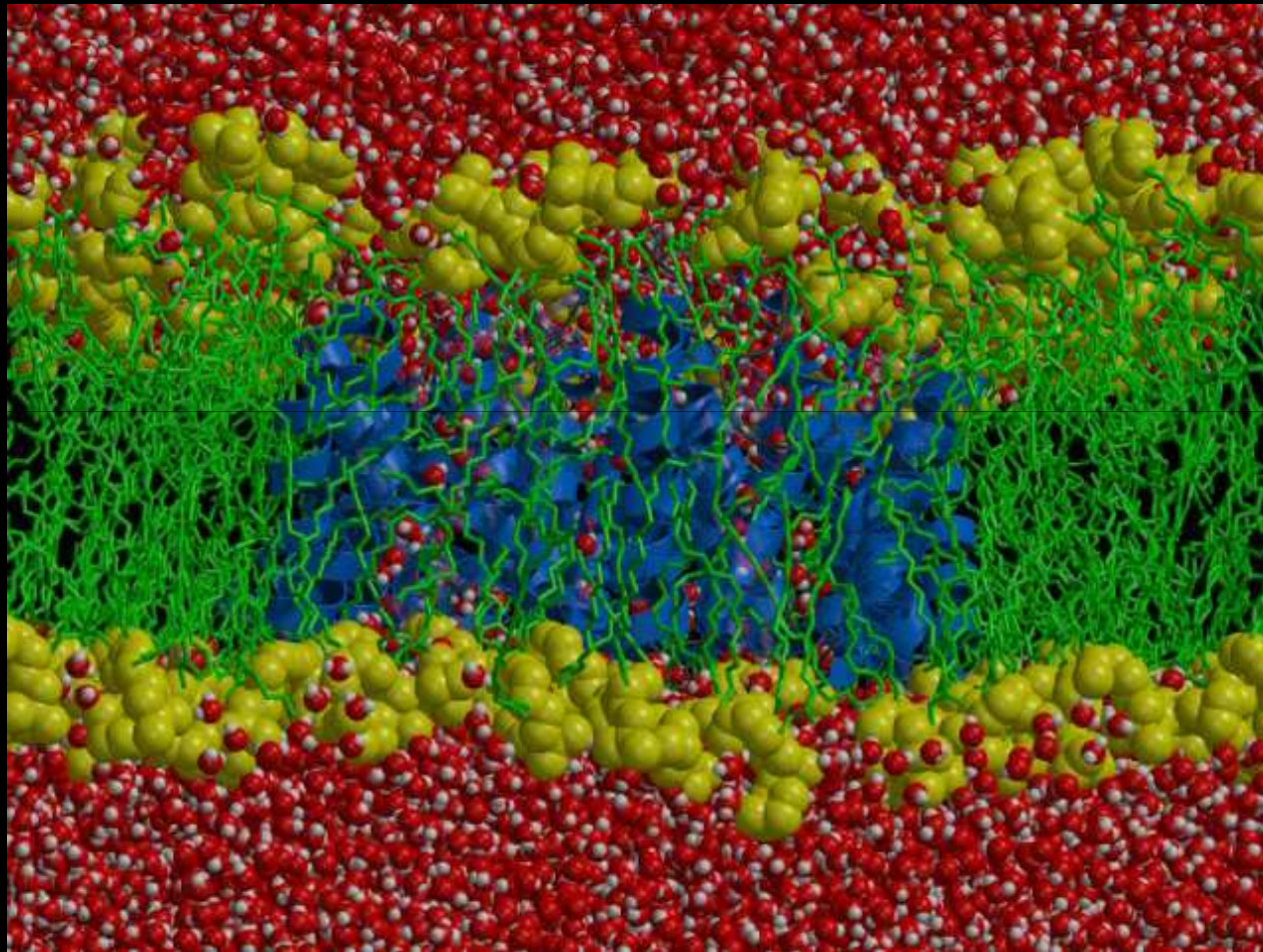
D. Bergmann



Turgescence  
Volume  
Elongation

# Les aquaporins facilitent le mouvement de l'eau à travers les membranes cellulaires

---



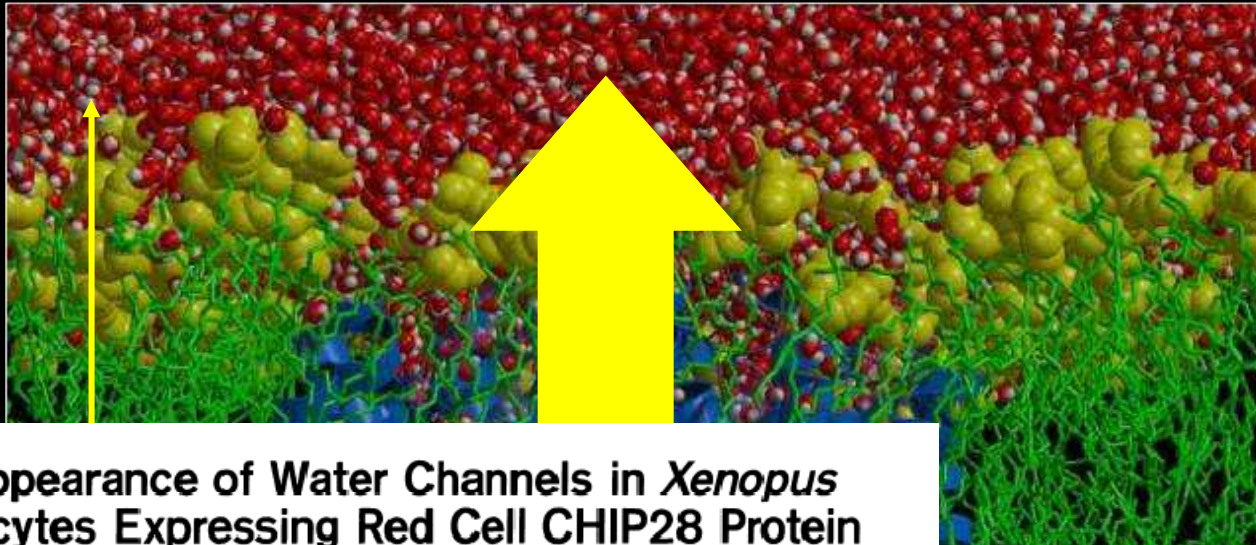
Membrane

De Groot and Grubmüller (2001) Science, 294, 2353



# Les aquaporins facilitent le mouvement de l'eau à travers les membranes cellulaires

Diffusion  
( $P_d$ )



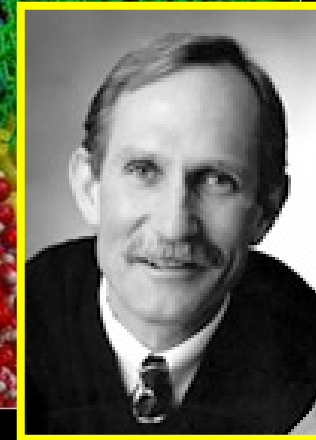
Membrane

## Appearance of Water Channels in *Xenopus* Oocytes Expressing Red Cell CHIP28 Protein

Gregory M. Preston, Tiziana Piazza Carroll,  
William B. Guggino, Peter Agre\*

Water rapidly crosses the plasma membrane of red blood cells (RBCs) and renal tubules through specialized channels. Although selective for water, the molecular structure of these channels is unknown. The CHIP28 protein is an abundant integral membrane protein in mammalian RBCs and renal proximal tubules and belongs to a family of membrane proteins with unknown functions. Oocytes from *Xenopus laevis* microinjected with in vitro-transcribed CHIP28 RNA exhibited increased osmotic water permeability; this was reversibly inhibited by mercuric chloride, a known inhibitor of water channels. Therefore it is likely that CHIP28 is a functional unit of membrane water channels.

SCIENCE • VOL. 256 • 17 APRIL 1992



Peter Agre

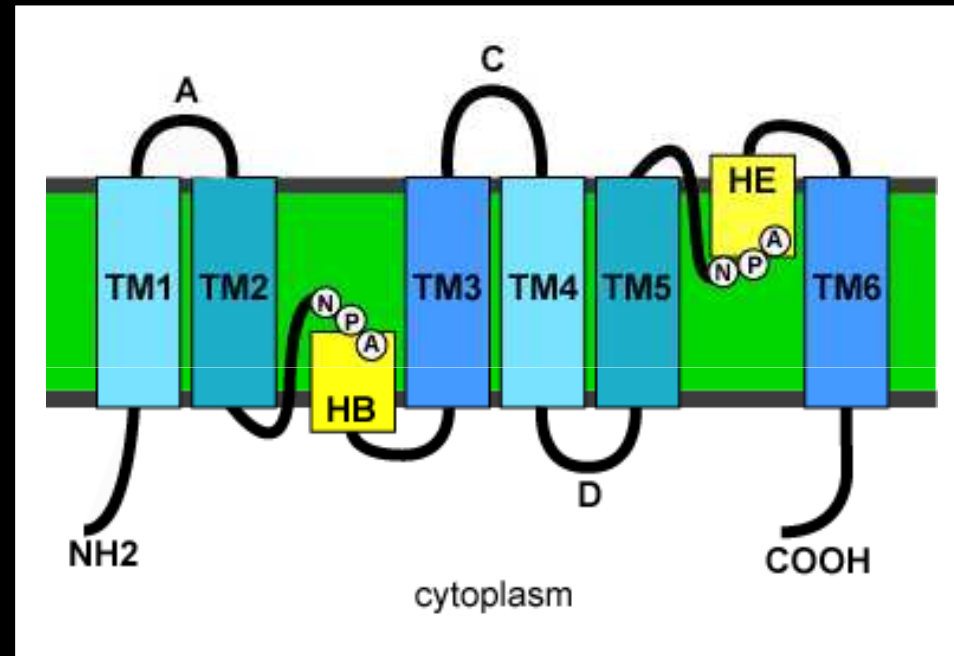
Prix Nobel de Chimie en 2003

Mouvement  
facilité

$P_f >$

Inhibition  
par le mercure

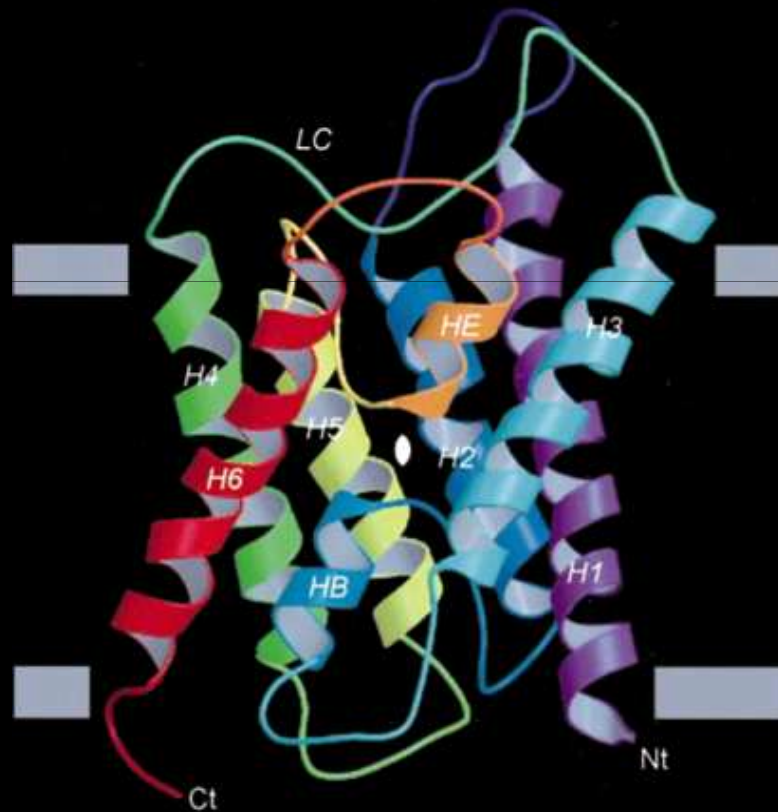
# Aquaporines



- Major Intrinsic Protein (MIP)
- 25-34 kDa
- 6 domaines transmembranaires + signatures NPA
- canaux pour l'eau et/ou de petites molécules non chargées

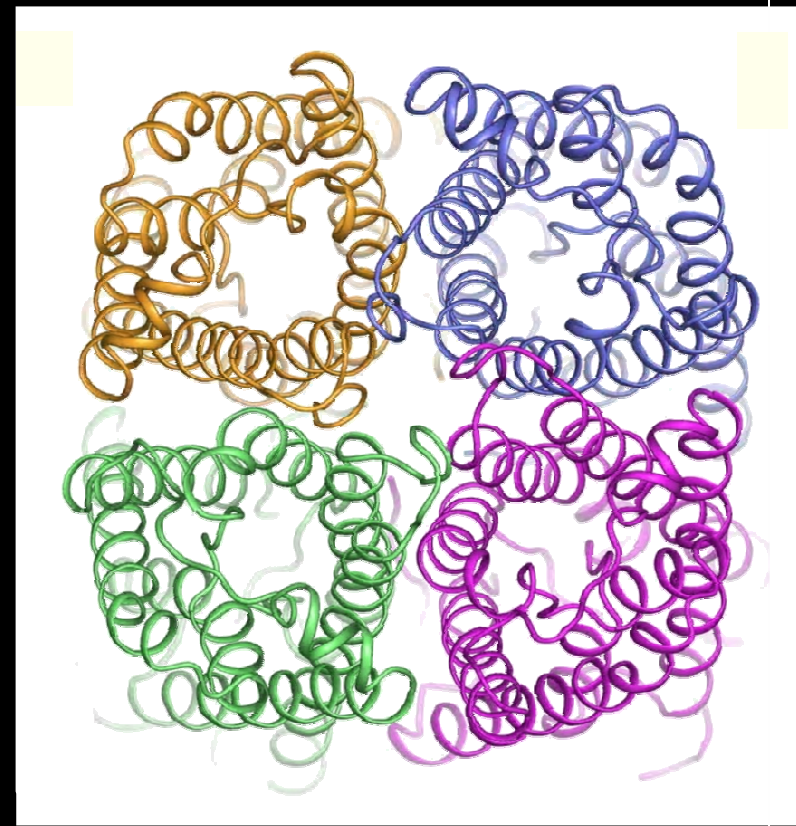
# Les aquaporines s'assemblent en tétramères

AQP1



Murata *et al.* (2000) *Nature*, 407, 599-605

SoPIP2;1



Törnroth *et al.* (2006) *Nature*, 439, 688-694

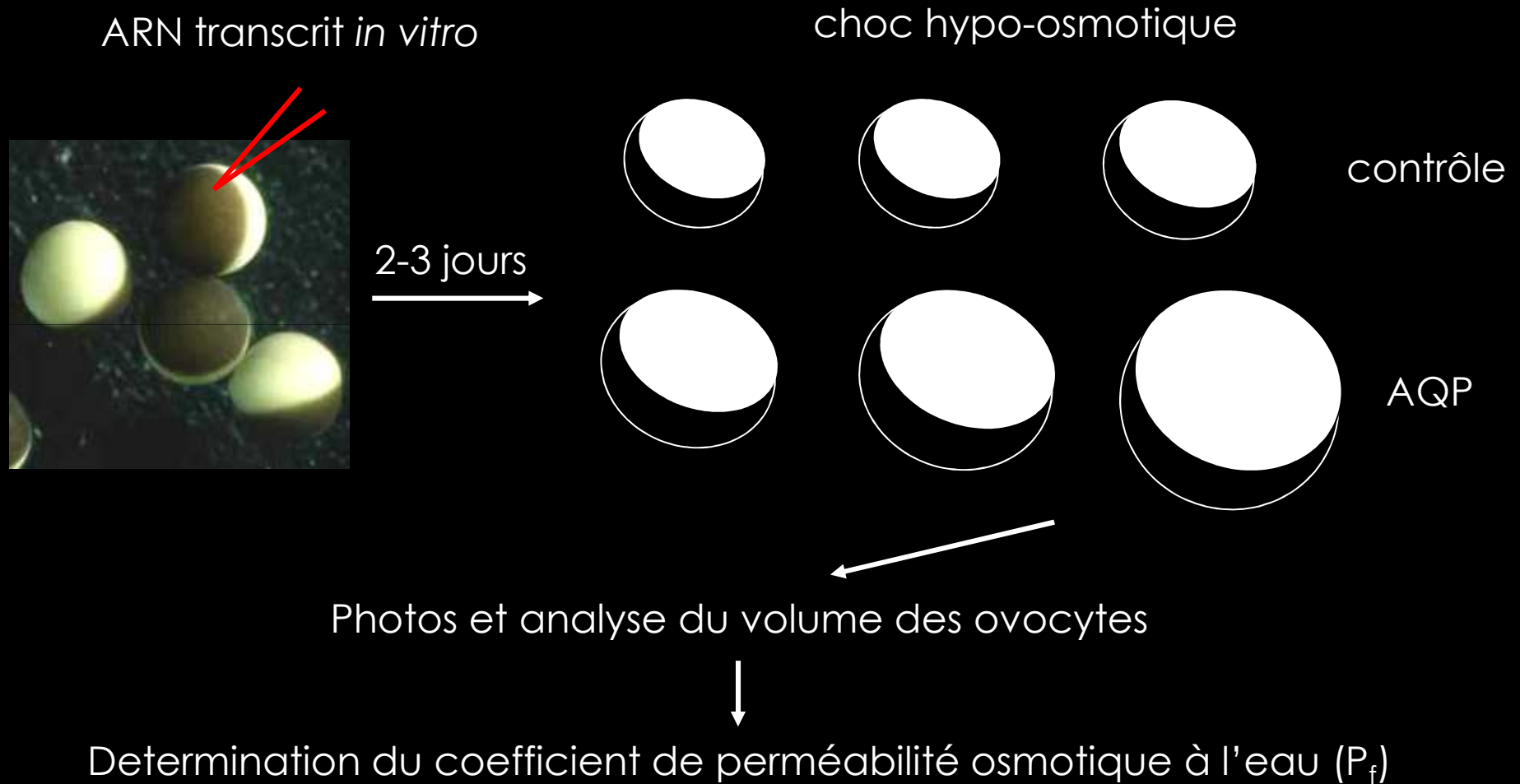
# L'activité de transport d'eau des aquaporines déterminée par l'expression dans des ovocytes de Xénope

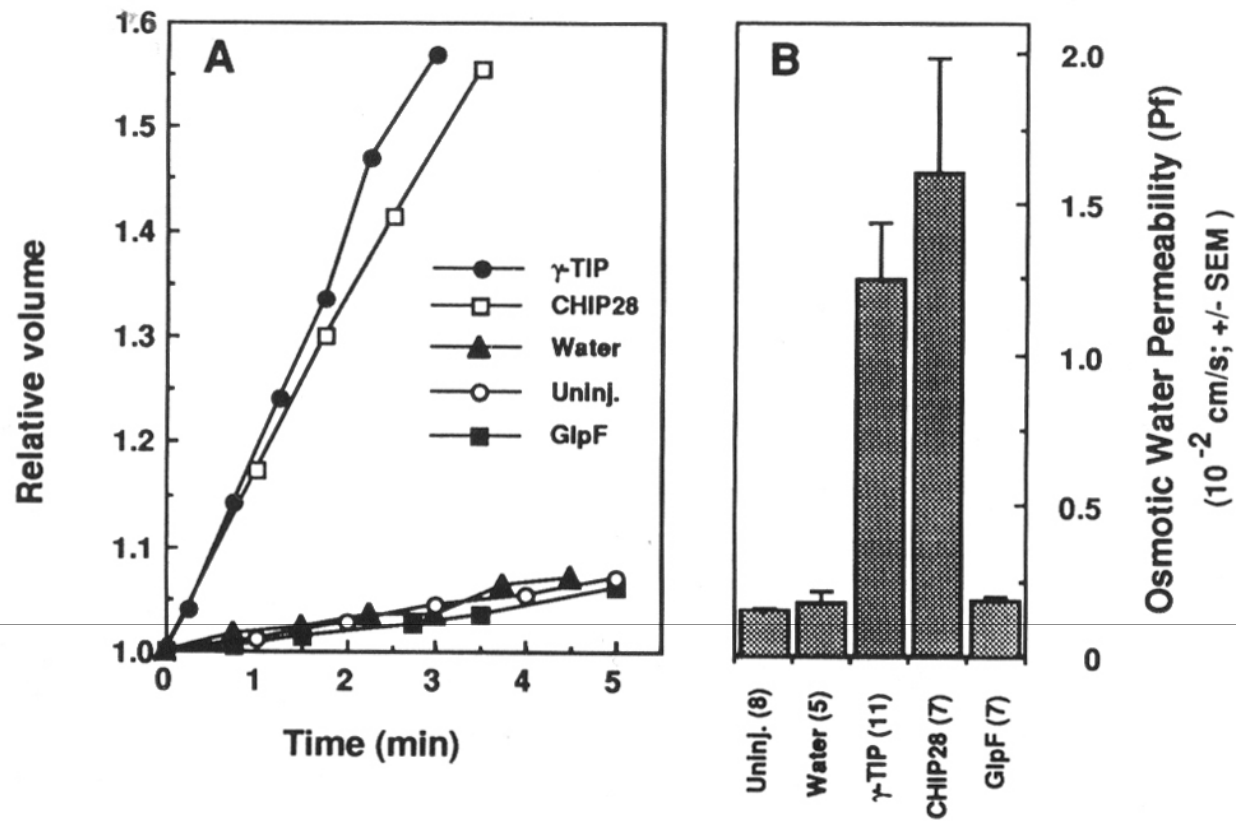
---





# Water channel activity of AQPs can be determined by expression in *Xenopus* oocytes





**Fig. 1.** Osmotic water permeability in mRNA injected oocytes. **(A)** Time course of osmotic swelling of individual oocytes uninjected (○) or injected with water (▲) or *in vitro* synthesized mRNA encoding  $\gamma$ -TIP (●), GlpF (■) or CHIP28 (□). Oocytes in Barth's buffer were perfused from  $t = 0$  with a 5-fold dilution of Barth's buffer with distilled water. Measurements on oocytes injected with  $\gamma$ -TIP and CHIP28 mRNA stopped at the time of cell rupture. Representative data from the same batch of oocytes. **(B)** Osmotic water permeability ( $P_f$ ) values.  $P_f$  values of individual oocytes were derived from volume change measurements made with three independent batches of oocytes. Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM; the number of cells is indicated in parentheses.



# Les aquaporines du maïs

---

- Culture importante
- Irrigation
- Beaucoup d'études physiologiques sur les relations hydriques au niveau de la plante entière et des tissus
- Peu de données aux niveaux moléculaire et cellulaire
- Accès à des banques de données moléculaires de Pioneer Hi-Bred International

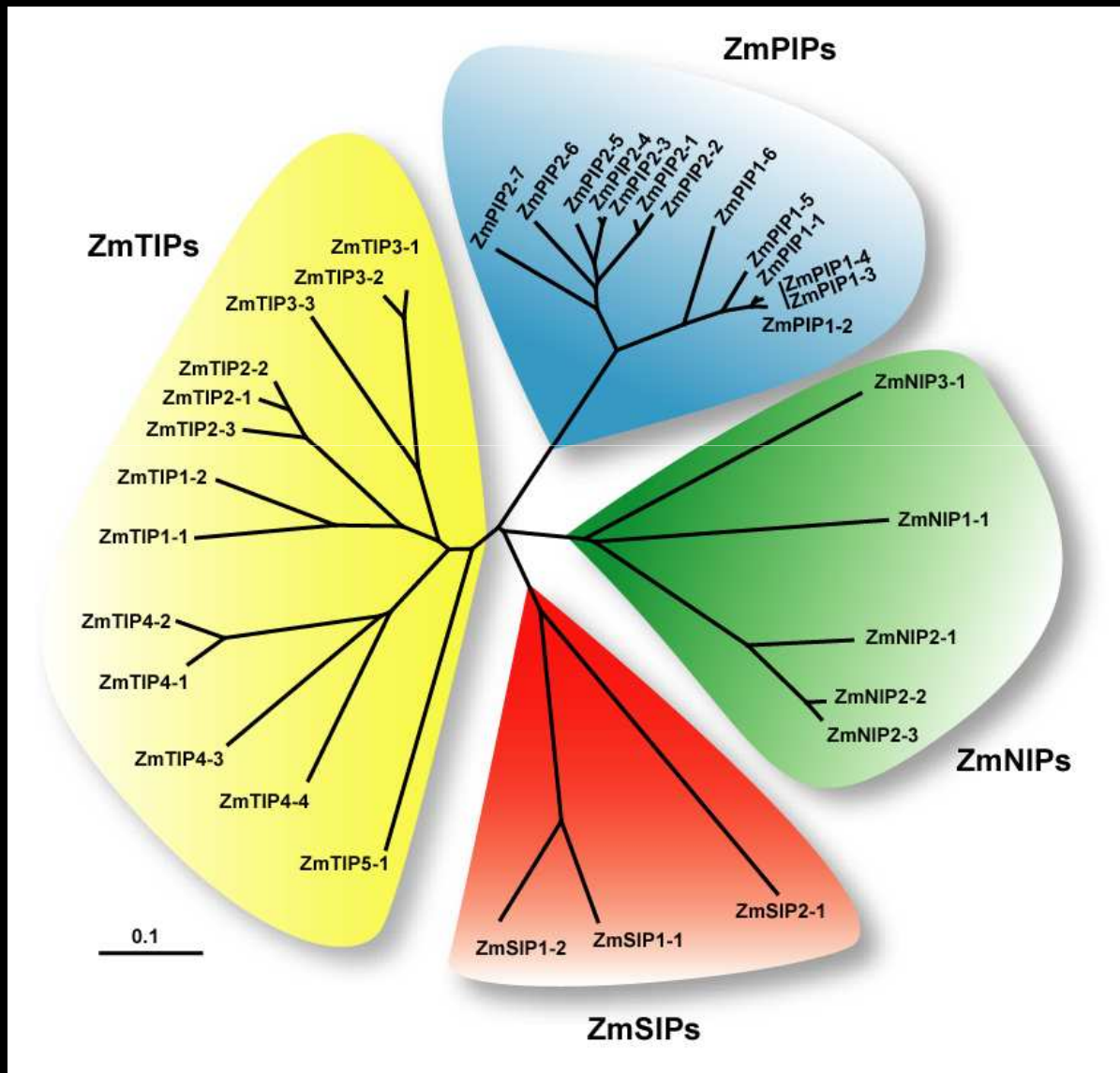


**Identification  
de 38 gènes d'aquaporines**



# Les aquaporines végétales forment une grande famille de protéines divergentes

Tonoplaste



Membrane plasmique

Symbiosome

Reticulum endoplasmique

Membrane plasmique

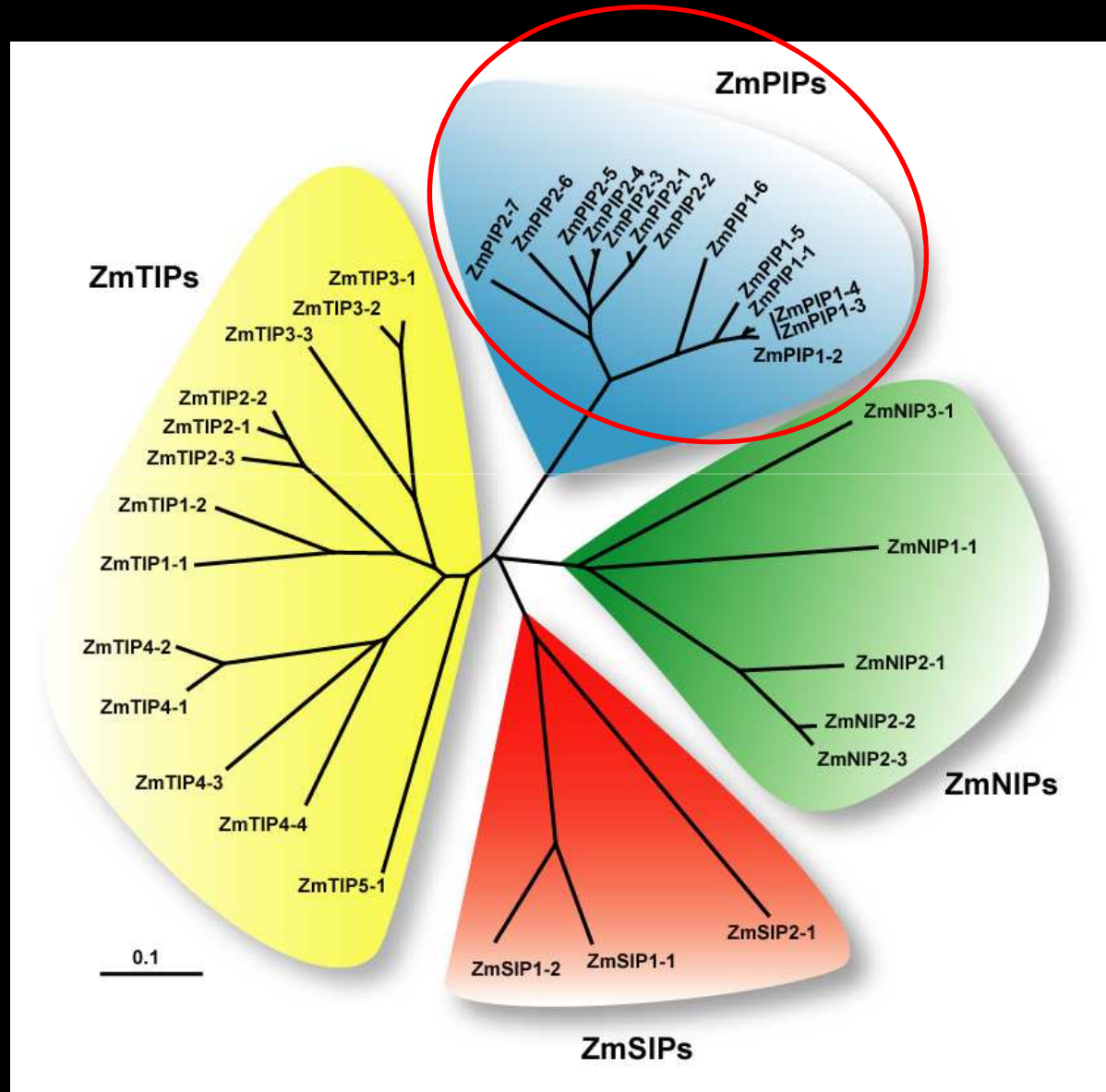
Reticulum endoplasmique



# Les aquaporines végétales forment une grande famille de protéines divergentes

eau, urée,  
glycérol,  
ammoniac,  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ...

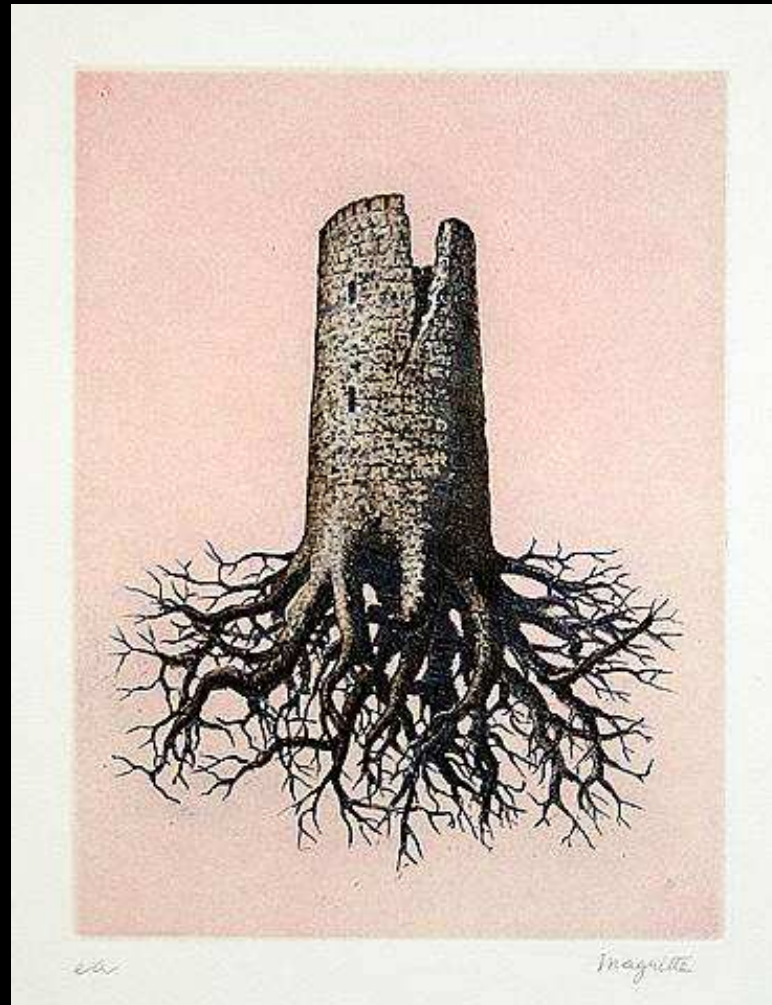
water, ...



Eau, CO<sub>2</sub>, ...

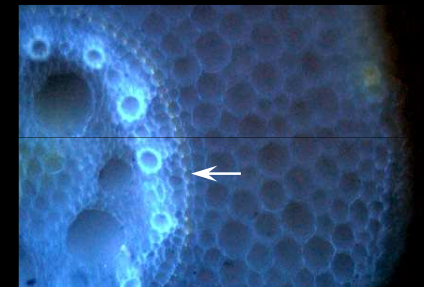
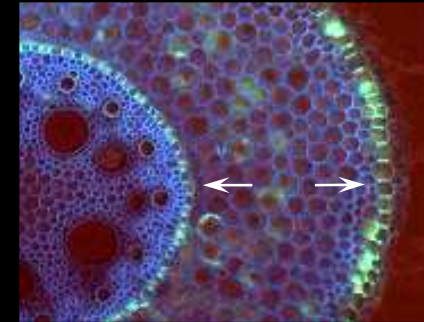
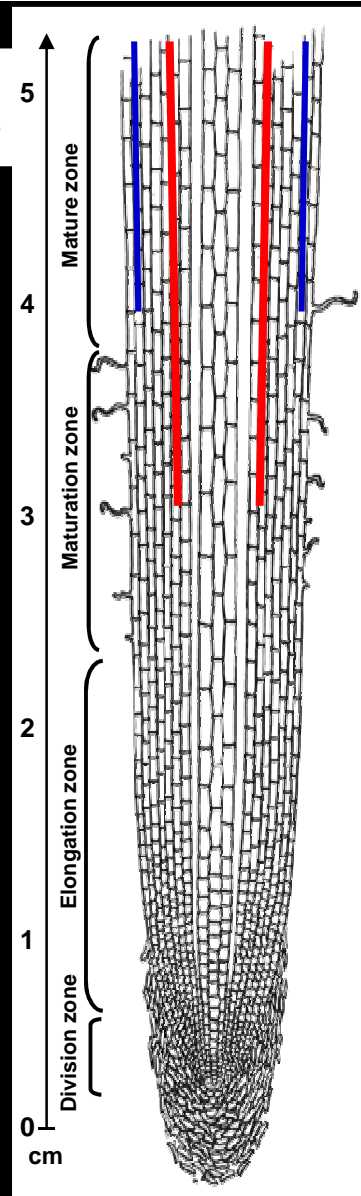
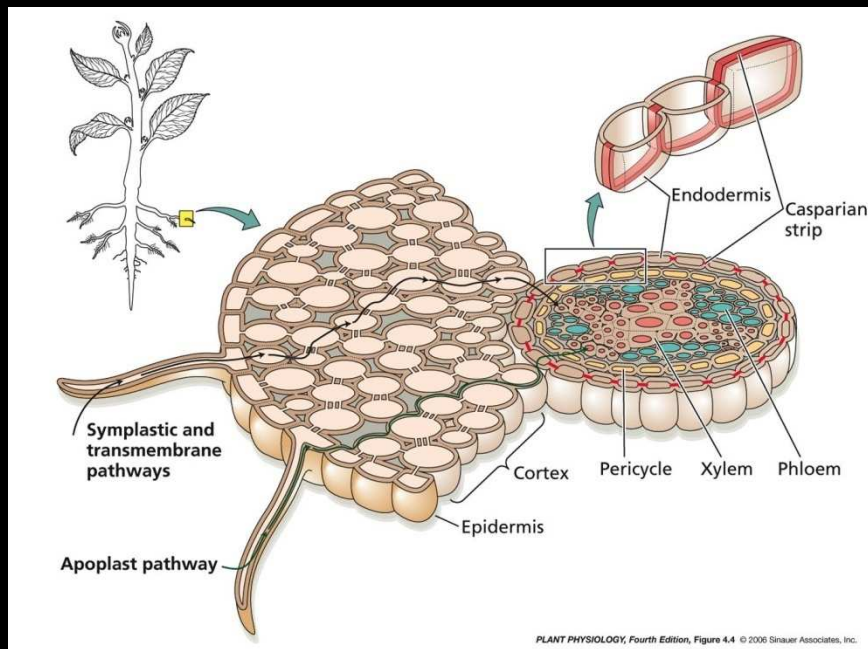
eau, NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>,  
glycérol,  
acide borique,  
acide silicilique,  
arsenite,  
antimonite,  
acide lactique

# Rôles des aquaporines végétales : l'exemple de la racine

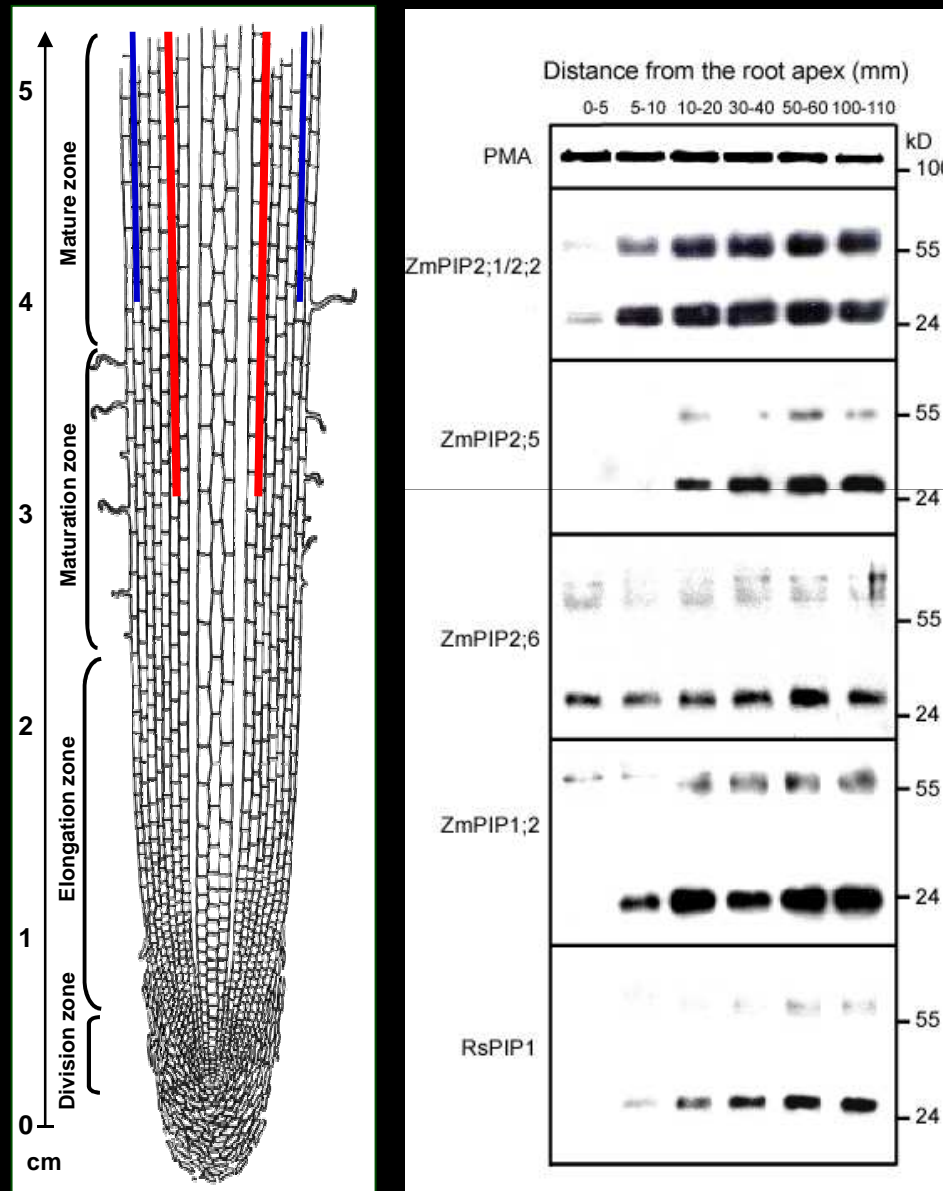


# Expression des aquaporines dans les racines de maïs

exoderme  
endoderme

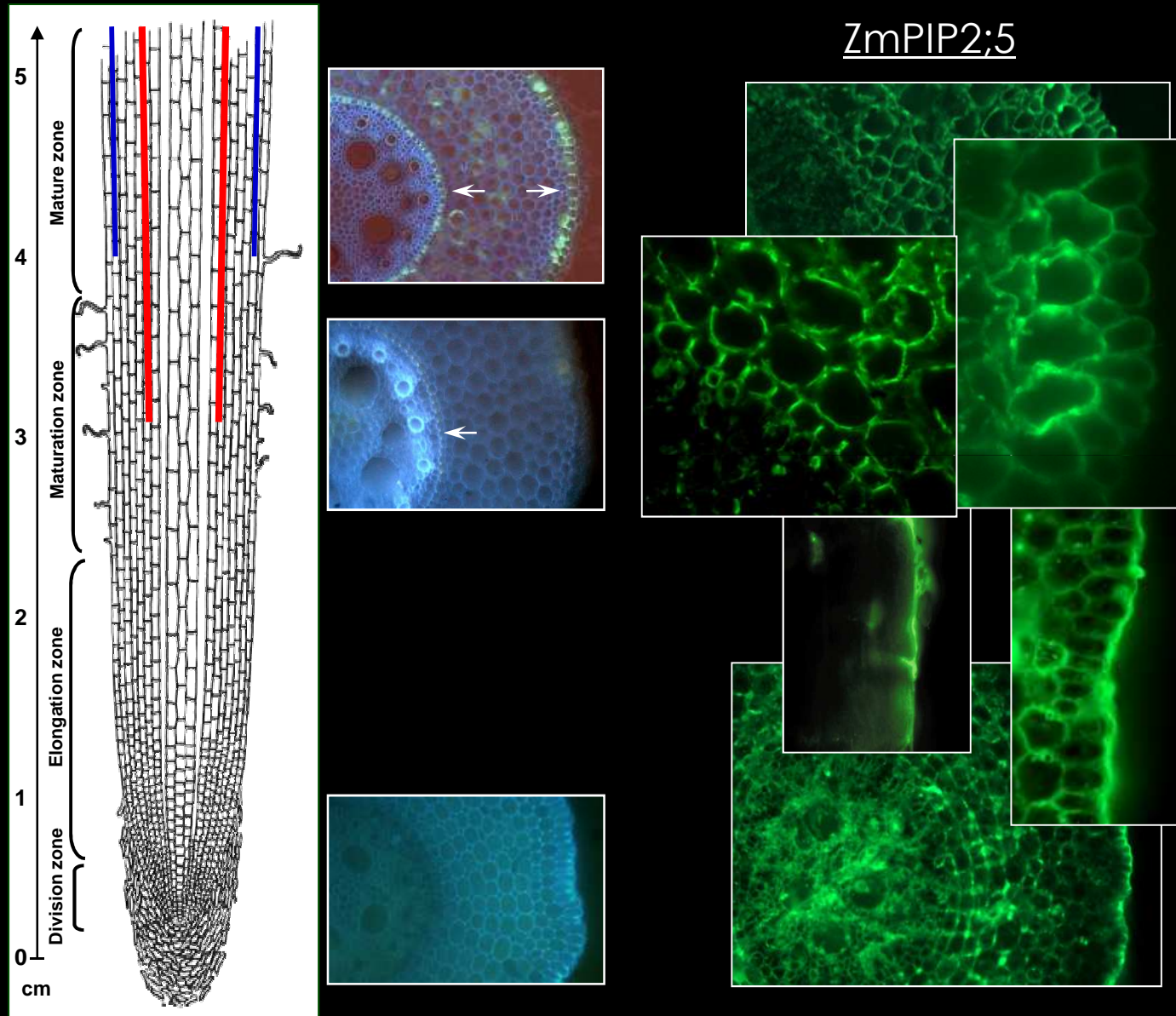


# Le niveau d'expression des aquaporines dépend du stade de développement des racines





# Expression de ZmPIP2;5 dans la racine

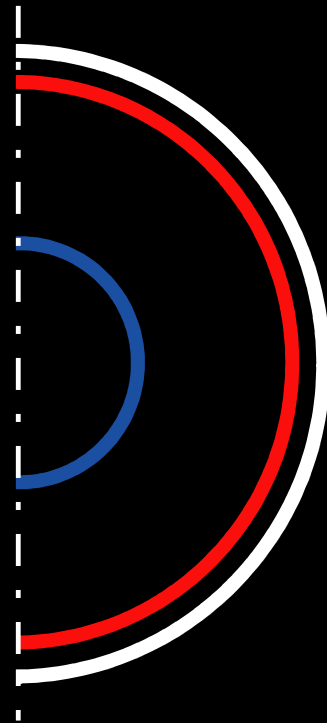


# L'expression de ZmPIP2;5 dépend des conditions de croissance

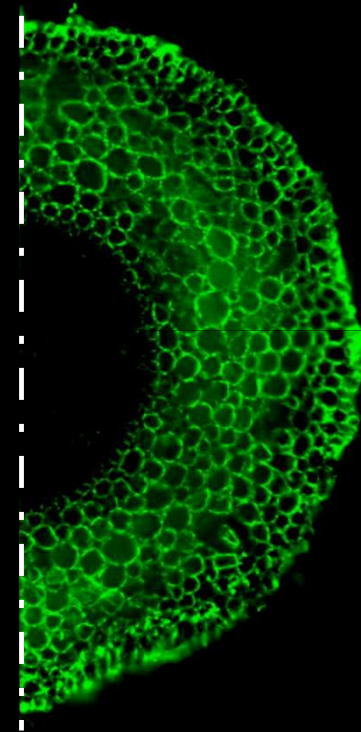
---

Zone mature

Aéroponique



Aéroponique

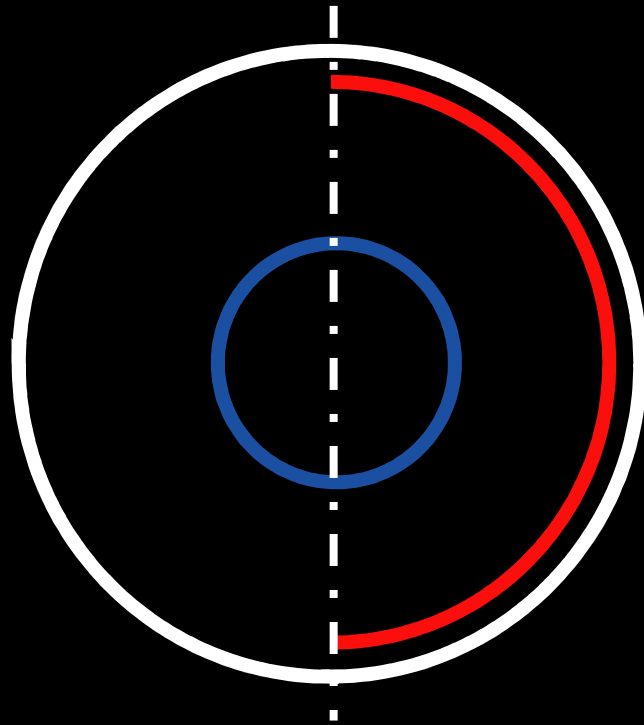


- Endoderme subérisé
- Exoderme subérisé

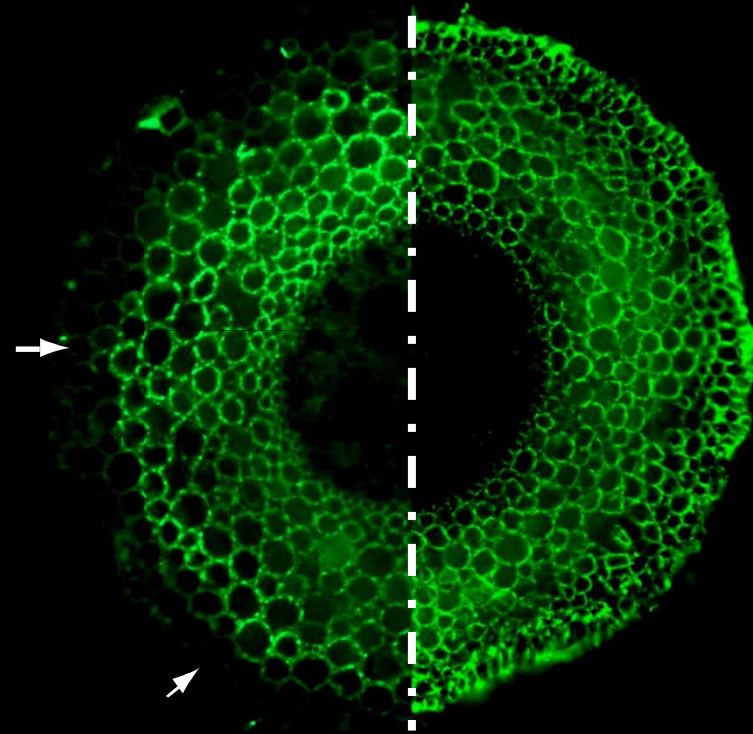
# L'expression de ZmPIP2;5 dépend des conditions de culture

Zone mature

Hydroponique Aéroponique



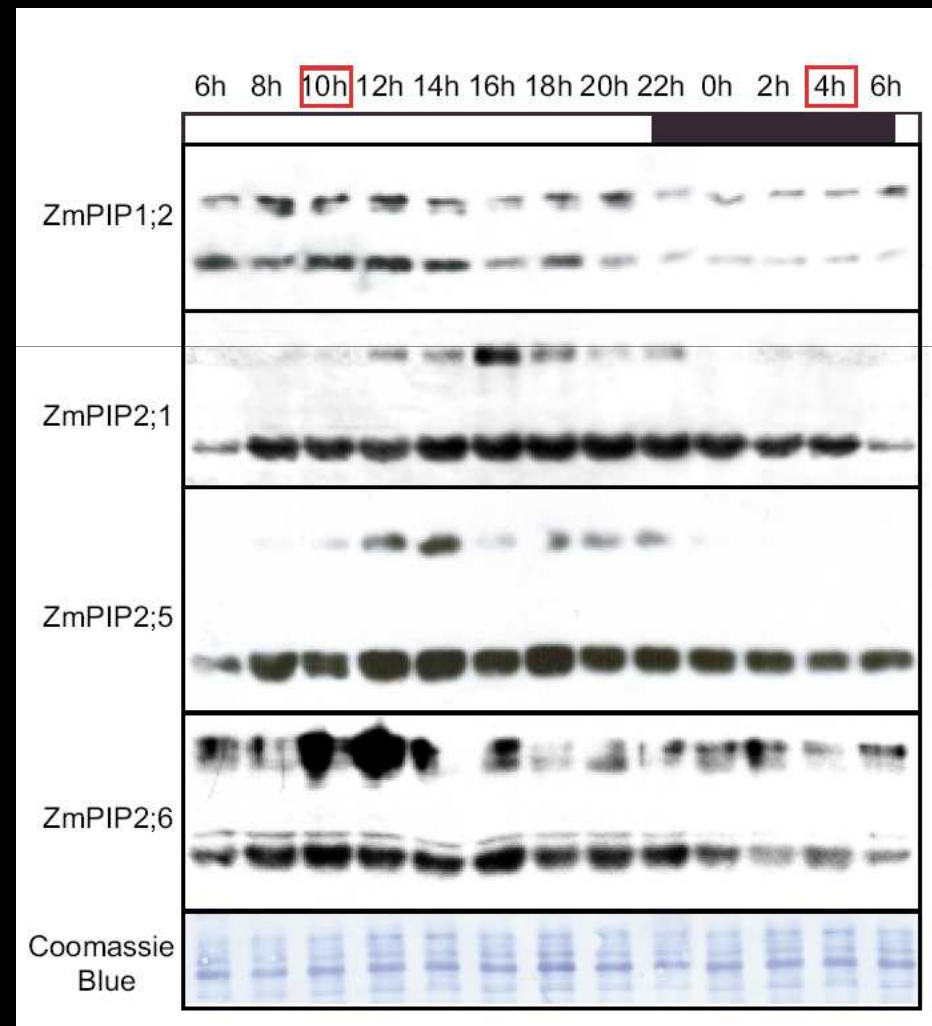
Hydroponique Aéroponique



- Endoderme subérisé
- Exoderme subérisé

→ ZmPIP2;5 est présent aux endroits où le mouvement apoplastique de l'eau n'est plus possible

# L'expression des ZmPIP et la perméabilité des membranes cellulaires sont régulés durant la journée





# Rôles des aquaporines végétales : l'exemple de la feuille

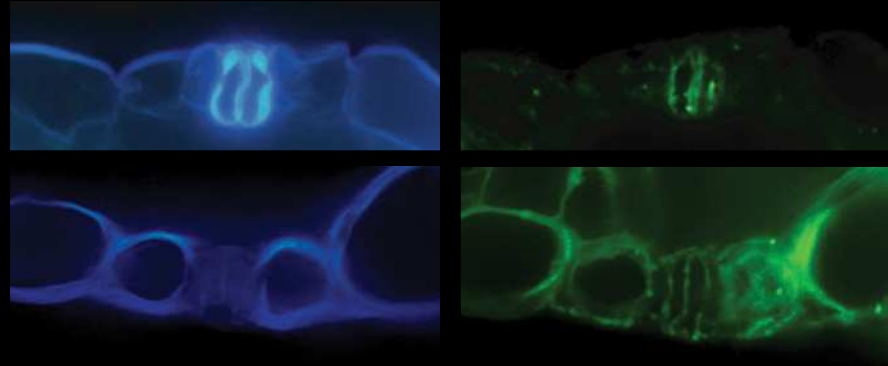


Magritte

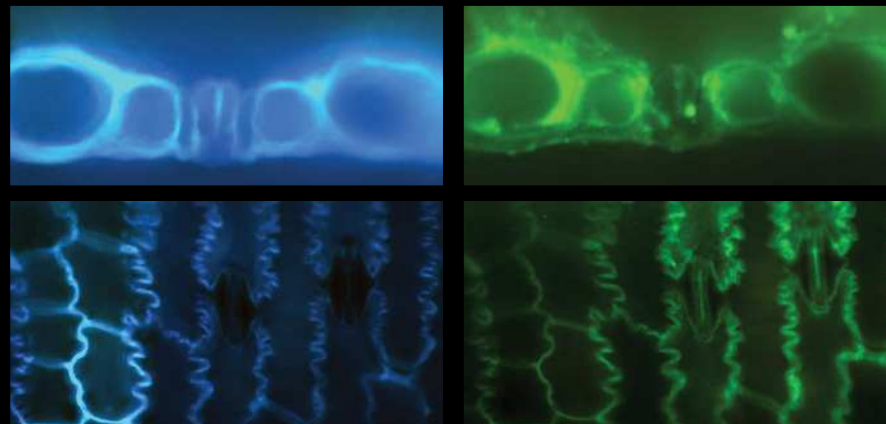
# Les ZmPIP sont exprimés dans l'épiderme et les cellules de garde de la feuille mature

---

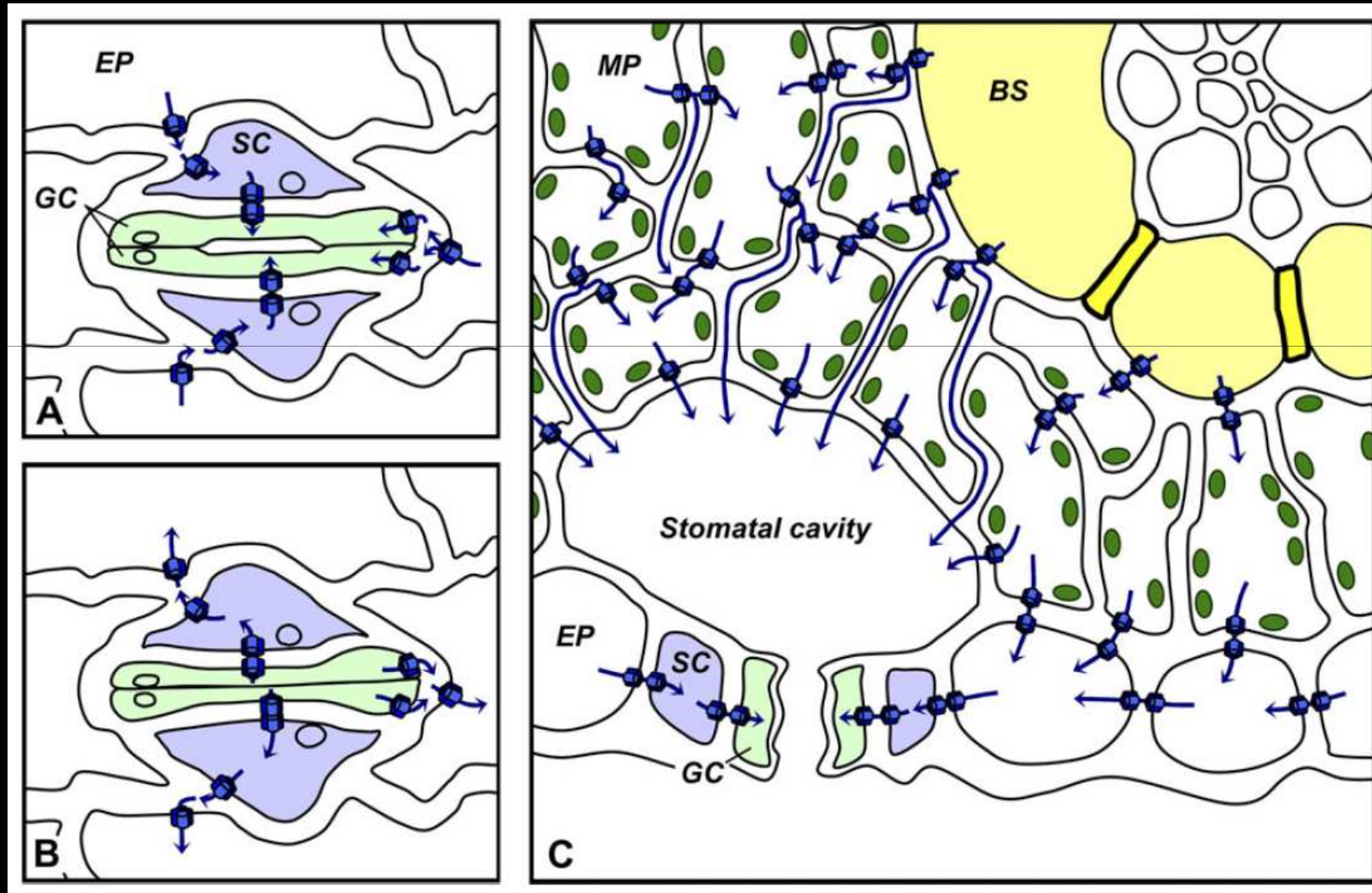
ZmPIP1;2



ZmPIP2;1/2;2

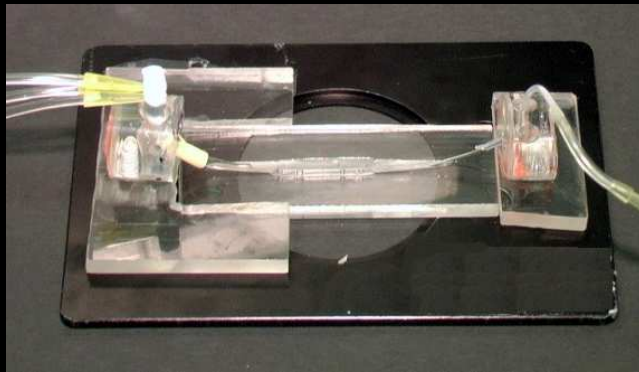
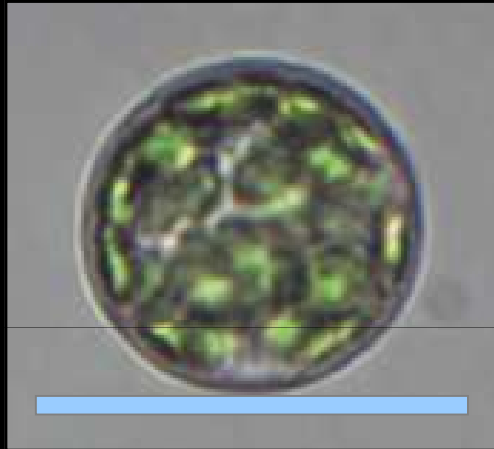


Les ZmPIP sont exprimés dans l'épiderme et les cellules de garde de la feuille mature

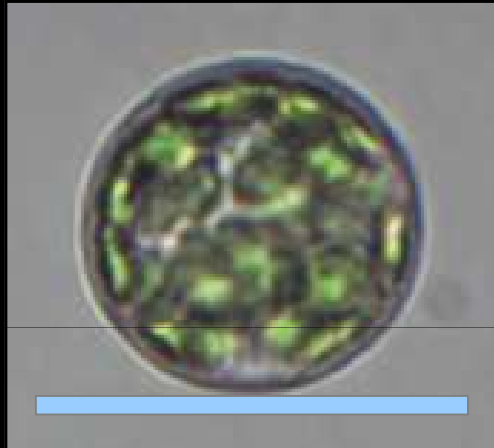




# Détermination de la perméabilité osmotique à l'eau des membranes : gonflement de protoplastes

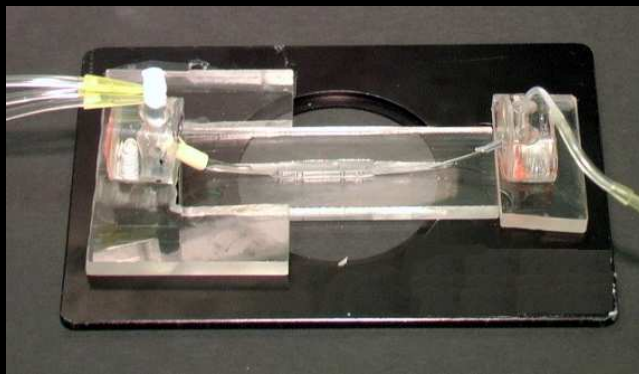
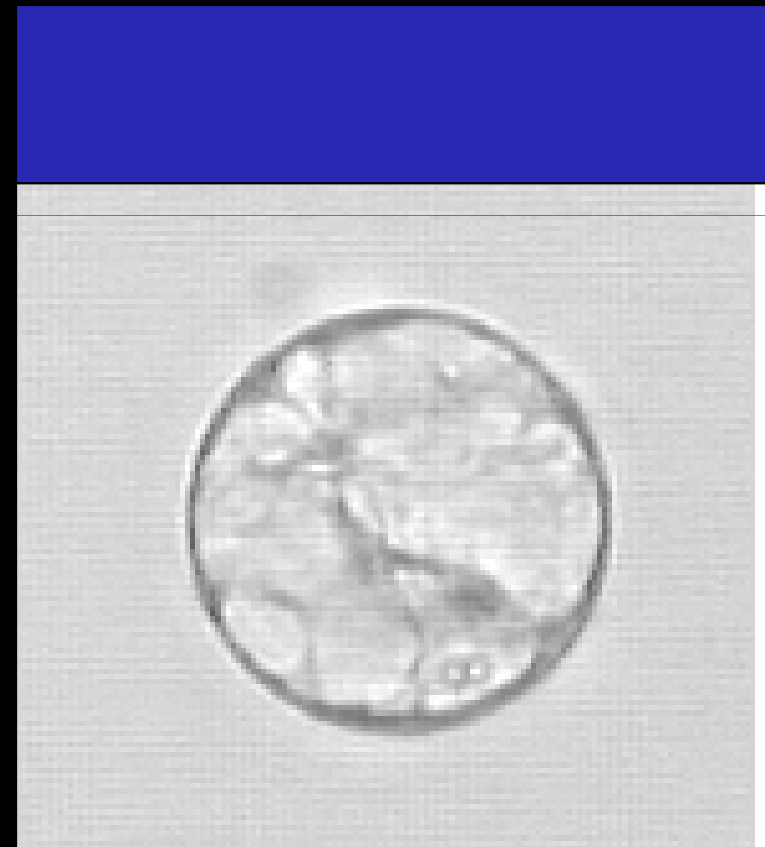
---



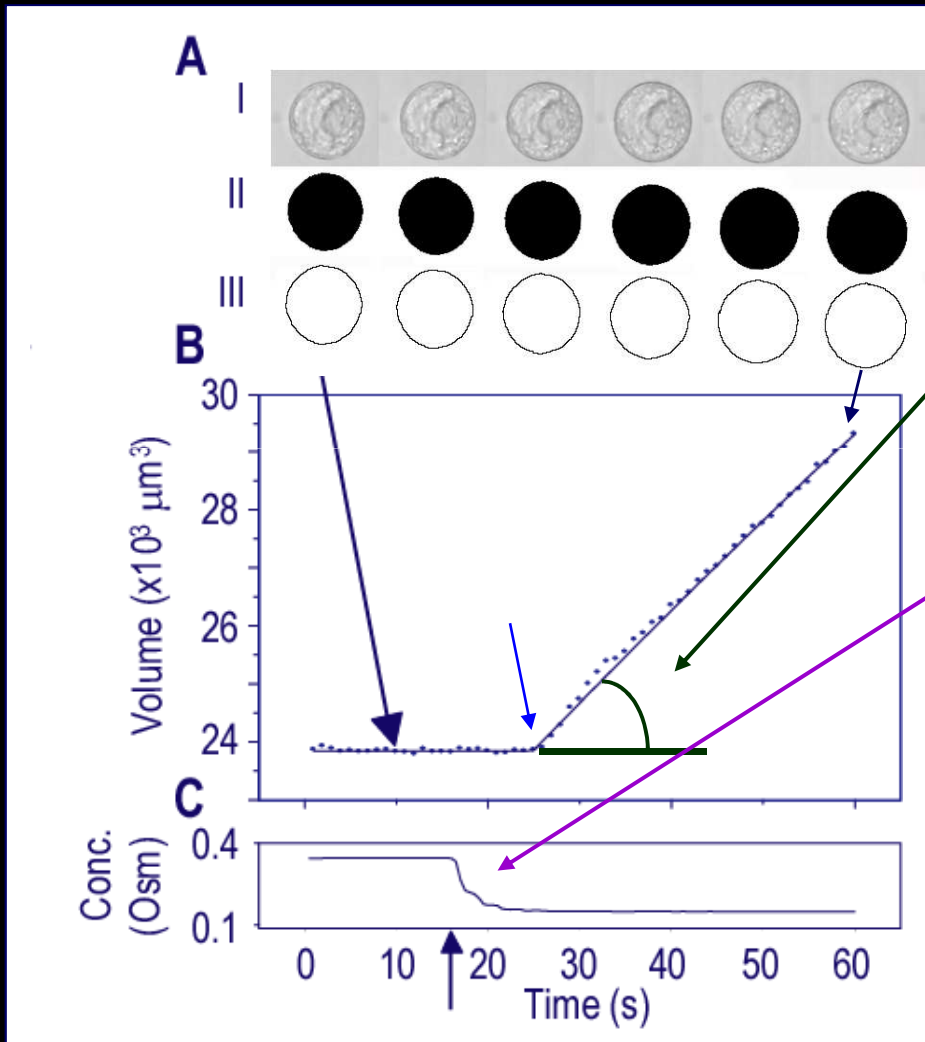
# Détermination de la perméabilité osmotique à l'eau des membranes : gonflement de protoplastes



 Solution isotonique  
 Solution hypotonique



# Détermination de la perméabilité osmotique à l'eau des membranes



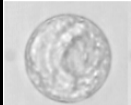
$$\frac{dV}{dt} = P_f \cdot S_o \cdot (C_{out} - C_{in}) \cdot V_w$$

?

$18 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

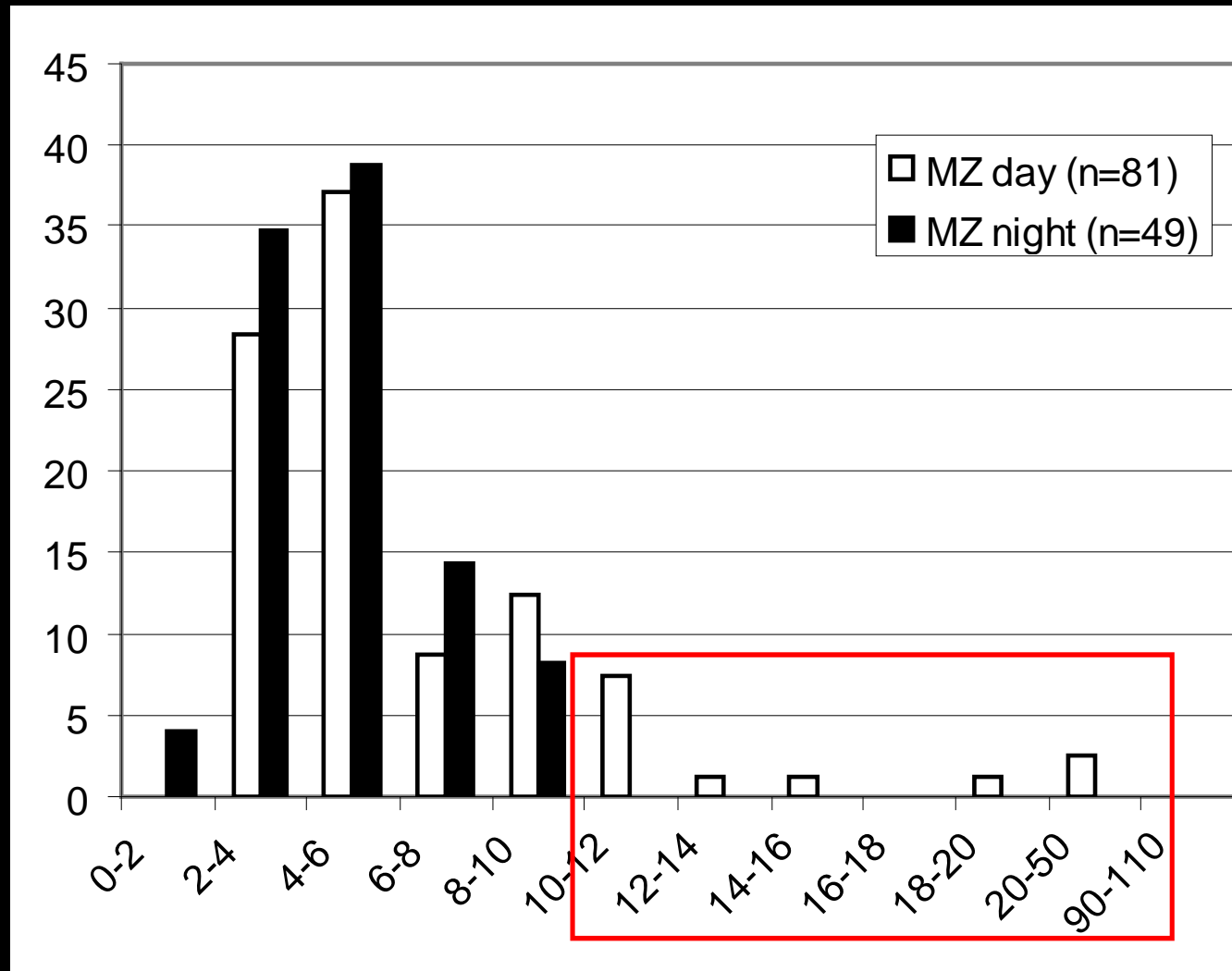
$$C_{int} = C_{ino} \cdot V_0 / V_t$$

Best-Fitting program

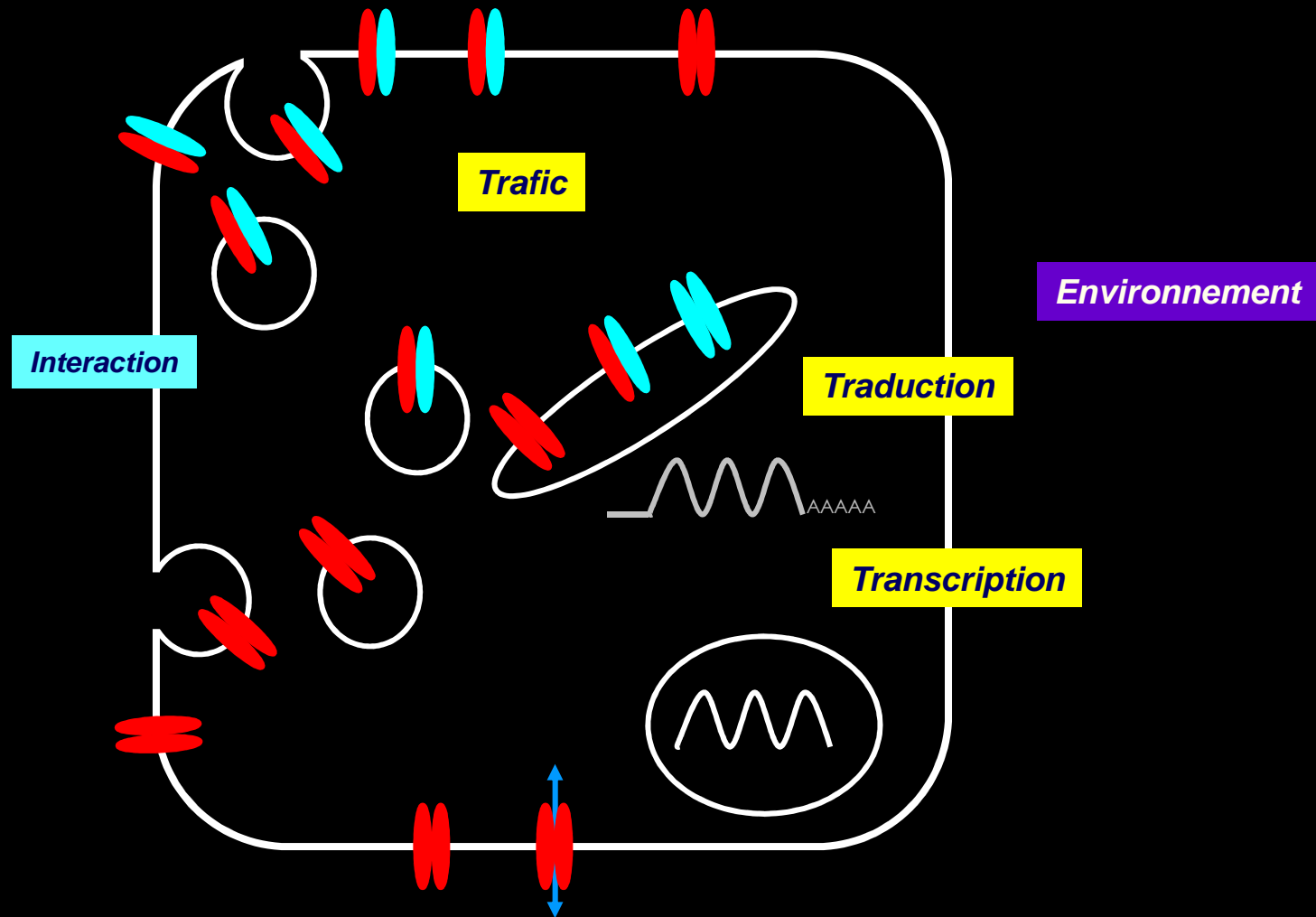




# Les protoplastes de feuilles isolés la journée gonflent plus rapidement que ceux isolés la nuit

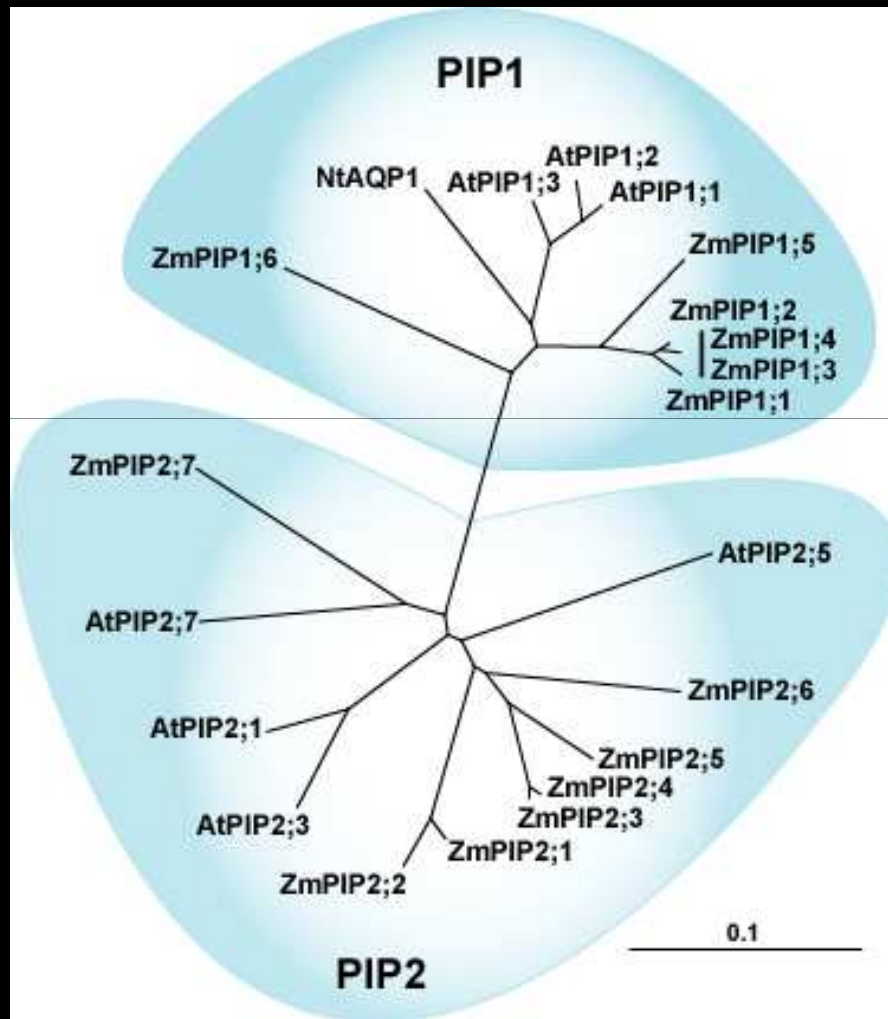


# Régulation des aquaporines végétales





# Les aquaporines ZmPIP forment deux groupes avec des activités de transport d'eau différentes



Pas d'activité de transport

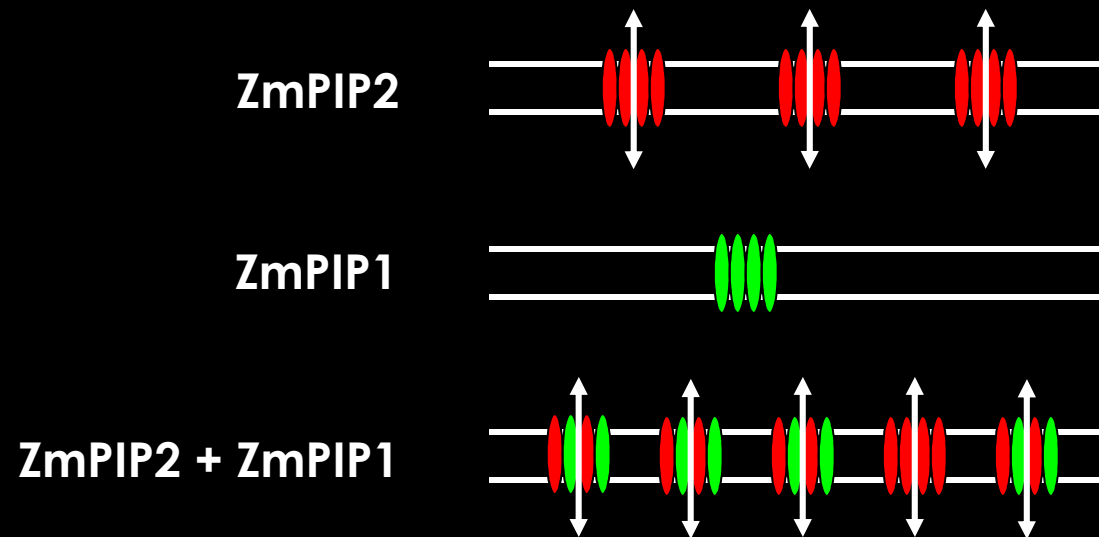


Canaux à eau efficaces



# Les aquaporines ZmPIP1 et ZmPIP2 interagissent pour réguler la perméabilité membranaire à l'eau

---

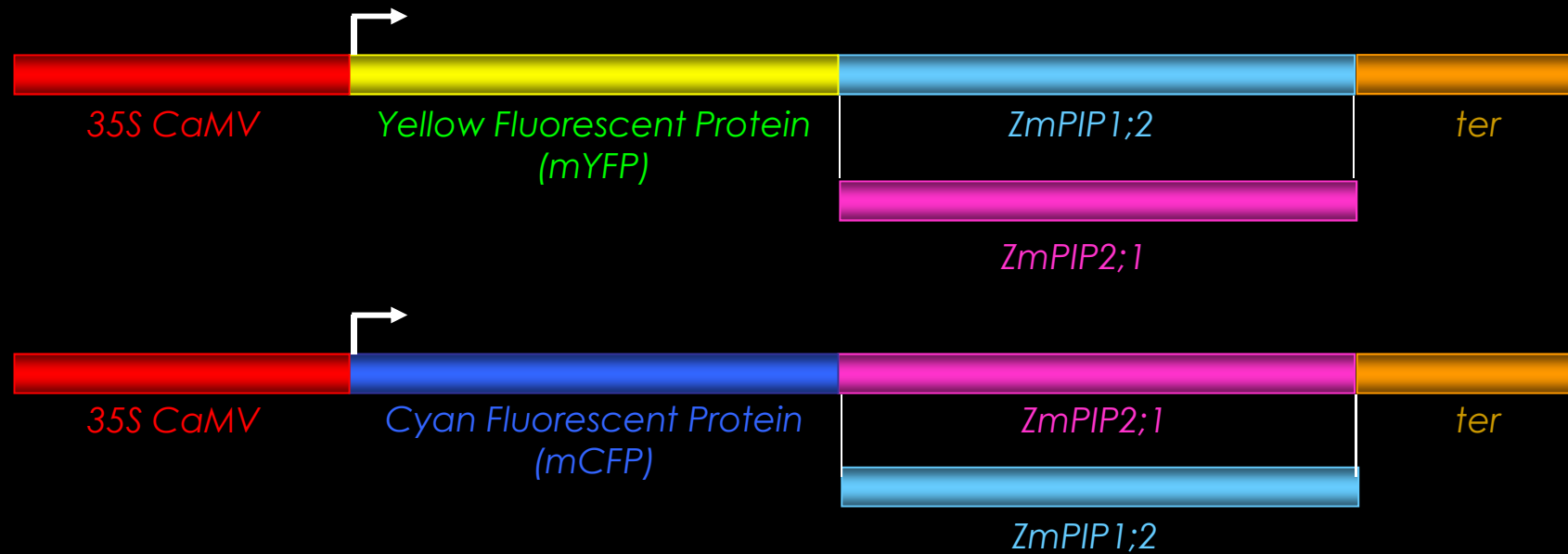


Fetter *et al.* (2004) *Plant Cell*, 16, 215-228

**Cette interaction entre aquaporines a-t-elle lieu dans les cellules végétales?**

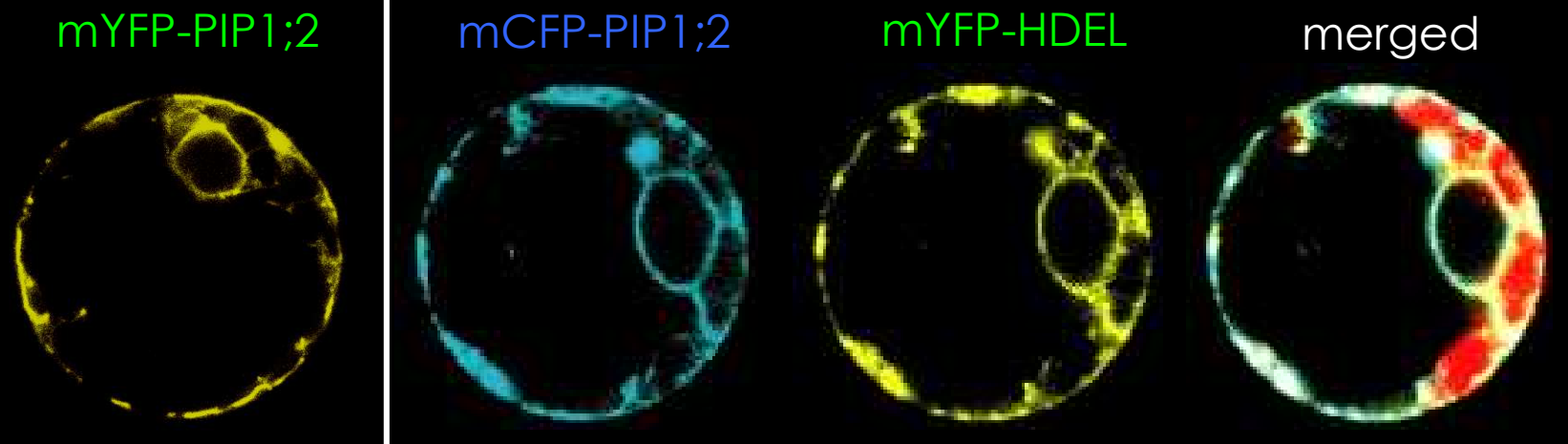
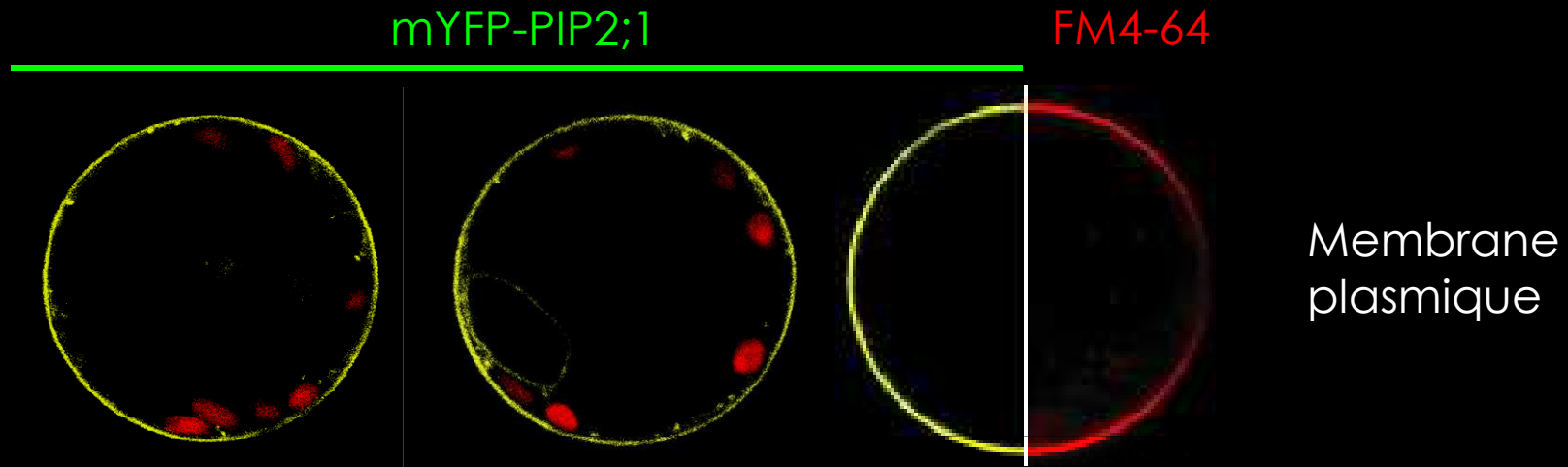
# Etude de la localisation et de l'interaction des ZmPIP dans les cellules végétales

---



Expression transitoire dans des protoplastes de mésophylle

# ZmPIP1;2 and ZmPIP2;1 sont localisés dans des membranes différentes

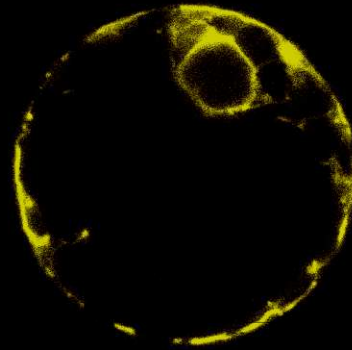


Système sécrétoire (RE)

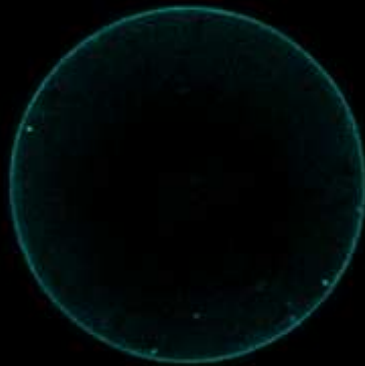
ZmPIP1;2 est localisé dans la membrane plasmique lorsqu'il est exprimé avec ZmPIP2;1

---

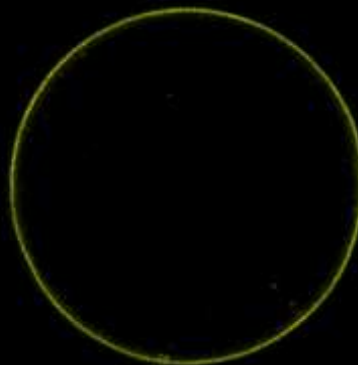
mYFP-PIP1;2 exprimé seul



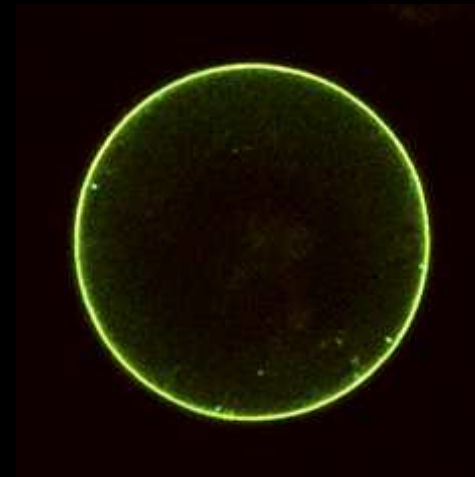
mCFP-PIP2;1



mYFP-PIP1;2

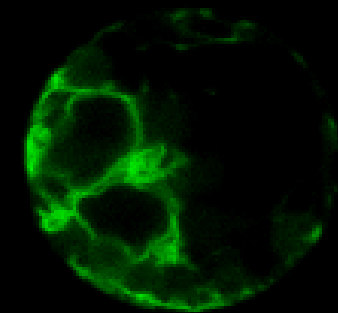
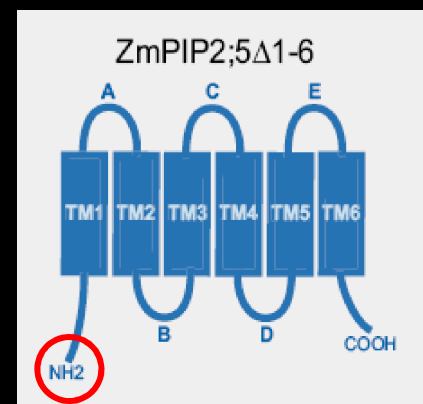
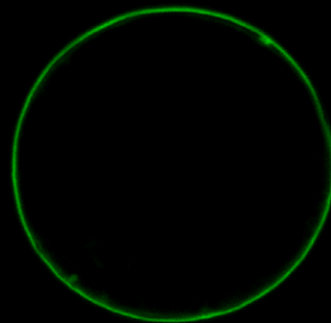
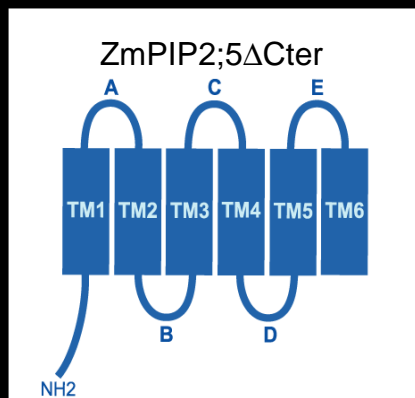
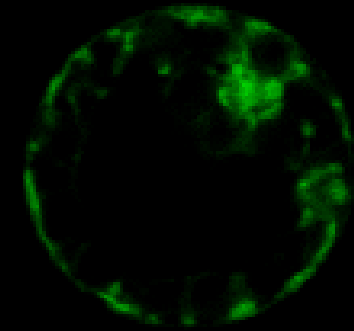
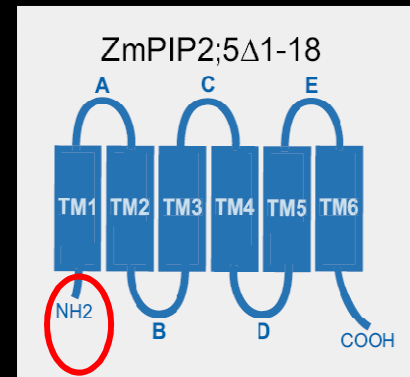
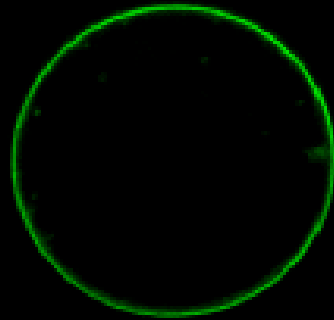
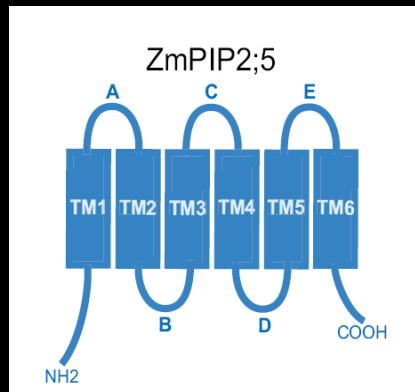


Merged





# L'extrémité N-terminale de ZmPIP2;5 est nécessaire pour son adressage dans la membrane plasmique

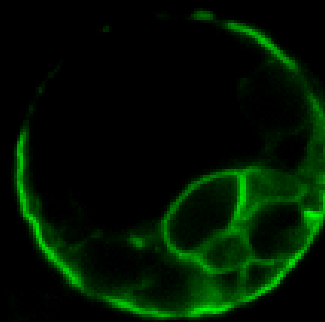
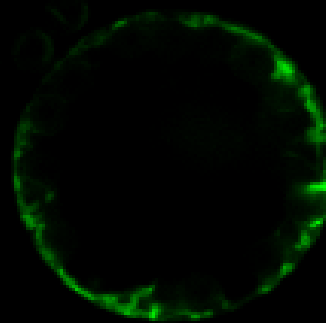
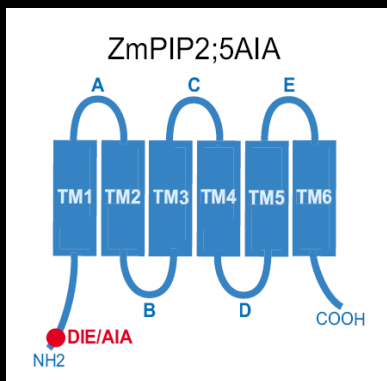
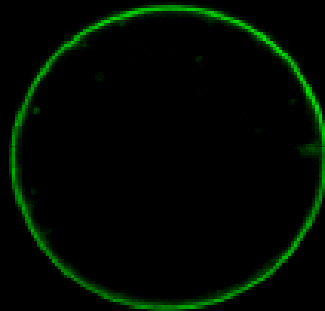
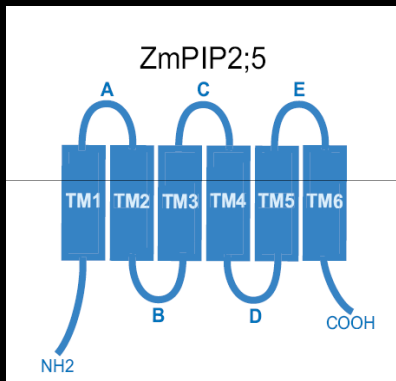


# Un motif di-acide est nécessaire pour l'adressage de ZmPIP2;5 dans la membrane plasmique

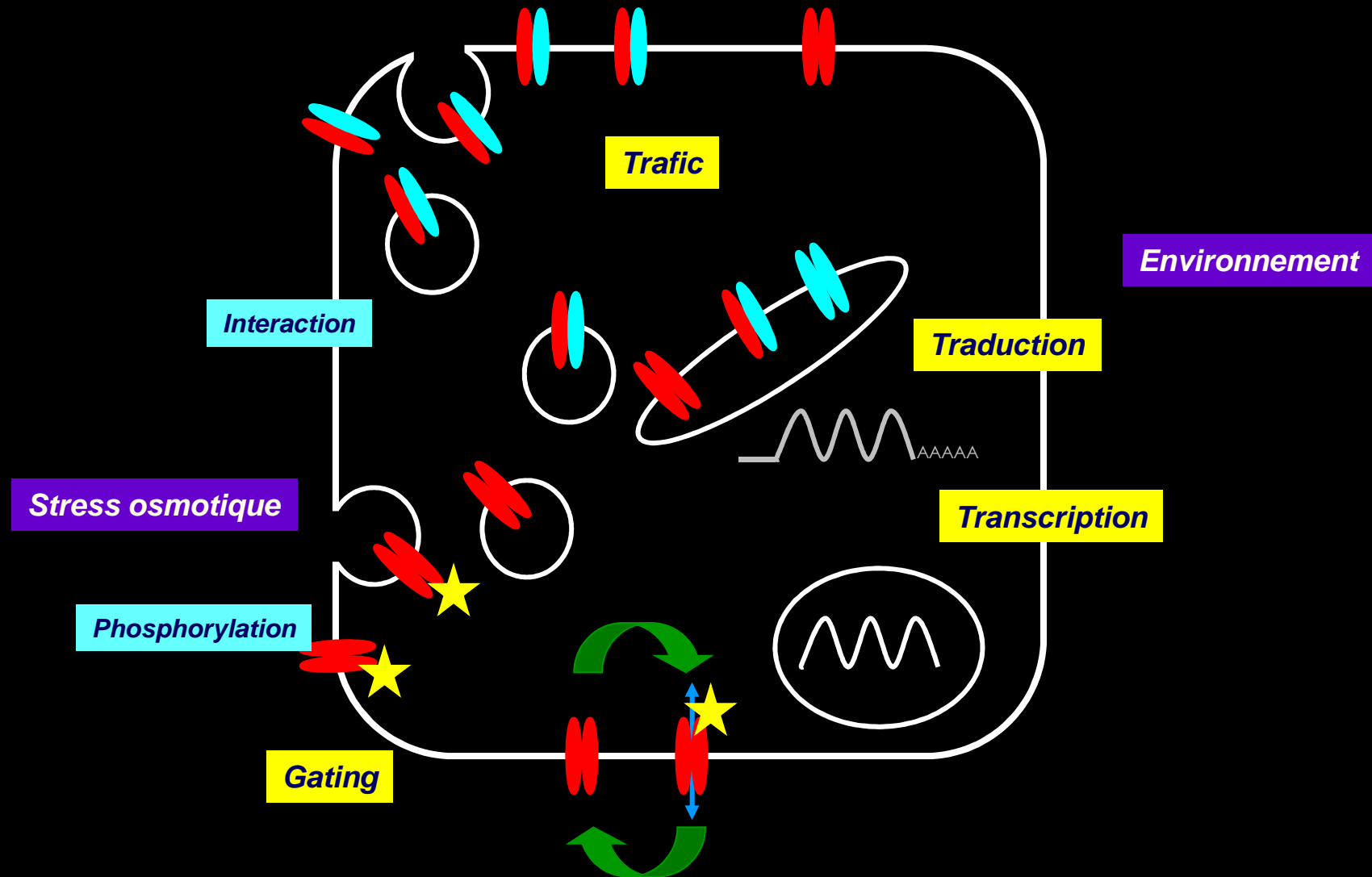
ZmPIP2 ; 5 -----MAK-DIEAAAHEG-----KDYSDDPPAPLVDAEELTKWS  
 ZmPIP1 ; 2 MEGKEEDVRLGANKFSERQPIGTAAQGAADDKDYKEPPAPLFFEPGELKSWS

ZmPIP2 ; 5

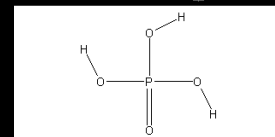
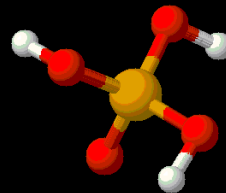
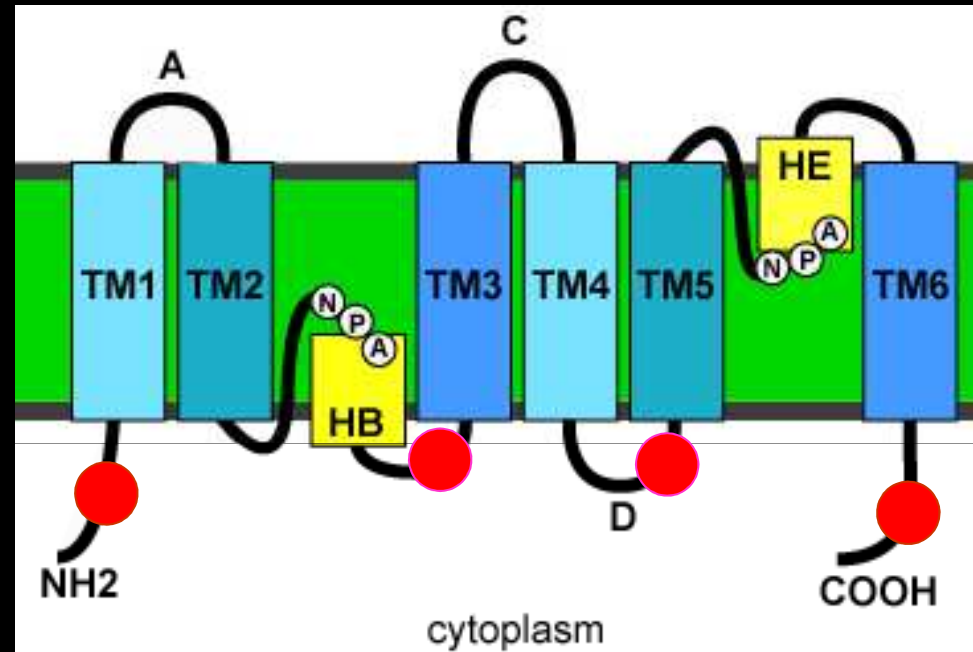
MAK**DIE**AAAHEGKDYSDD  
 MAK**AIA**AAAHEGKDYSDD



# Régulation des aquaporines végétales



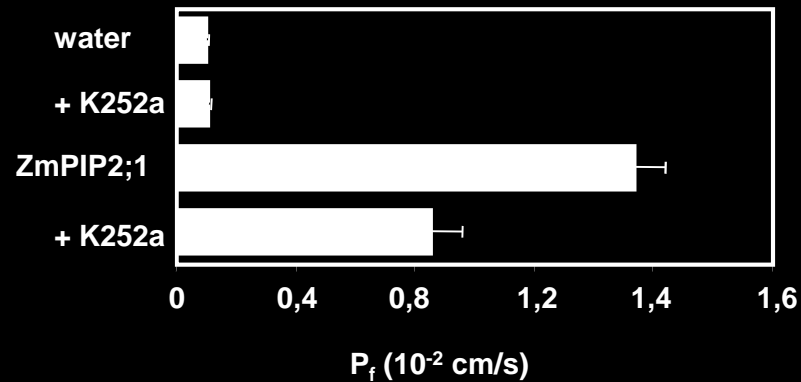
# Les aquaporines ZmPIPs peuvent être phosphorylées



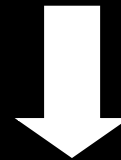
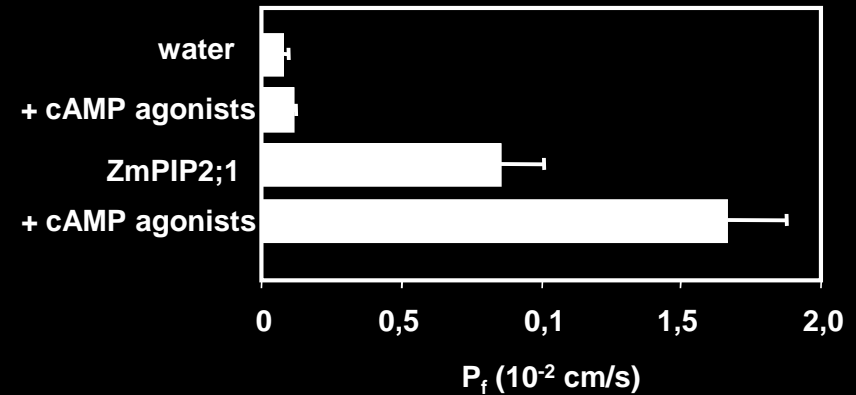
Groupement phosphate

# L'activité de canal à eau de ZmPIP2 est modulée par la phosphorylation

ZmPIP2;1 + K252a kinase inhibitor



ZmPIP2;1 + PKA agonists

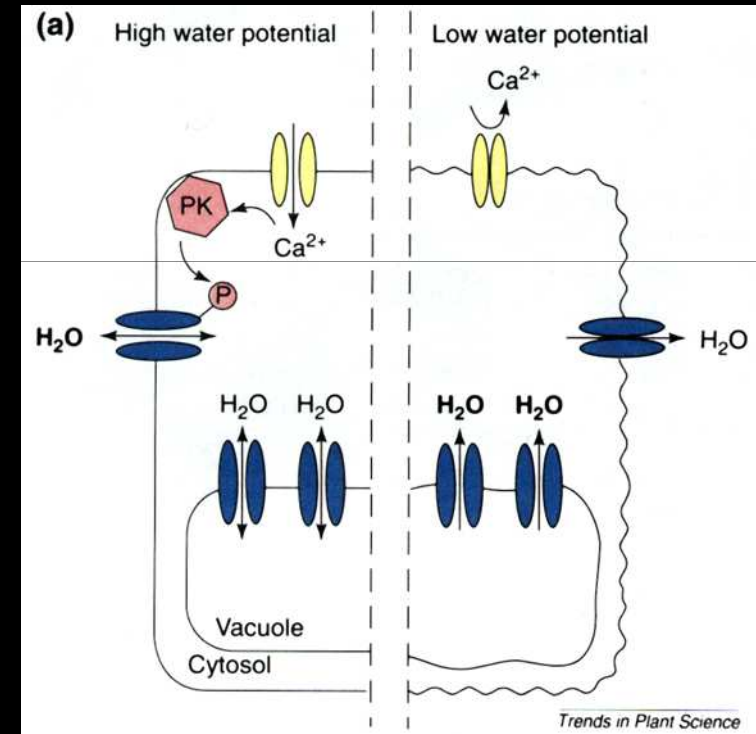
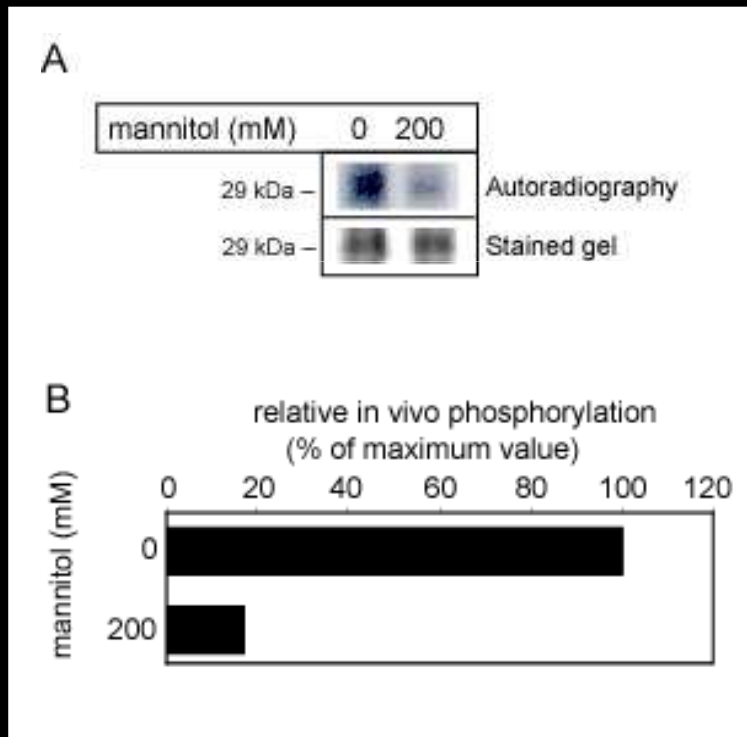


Phosphorylation augmente l'activité de transport d'eau

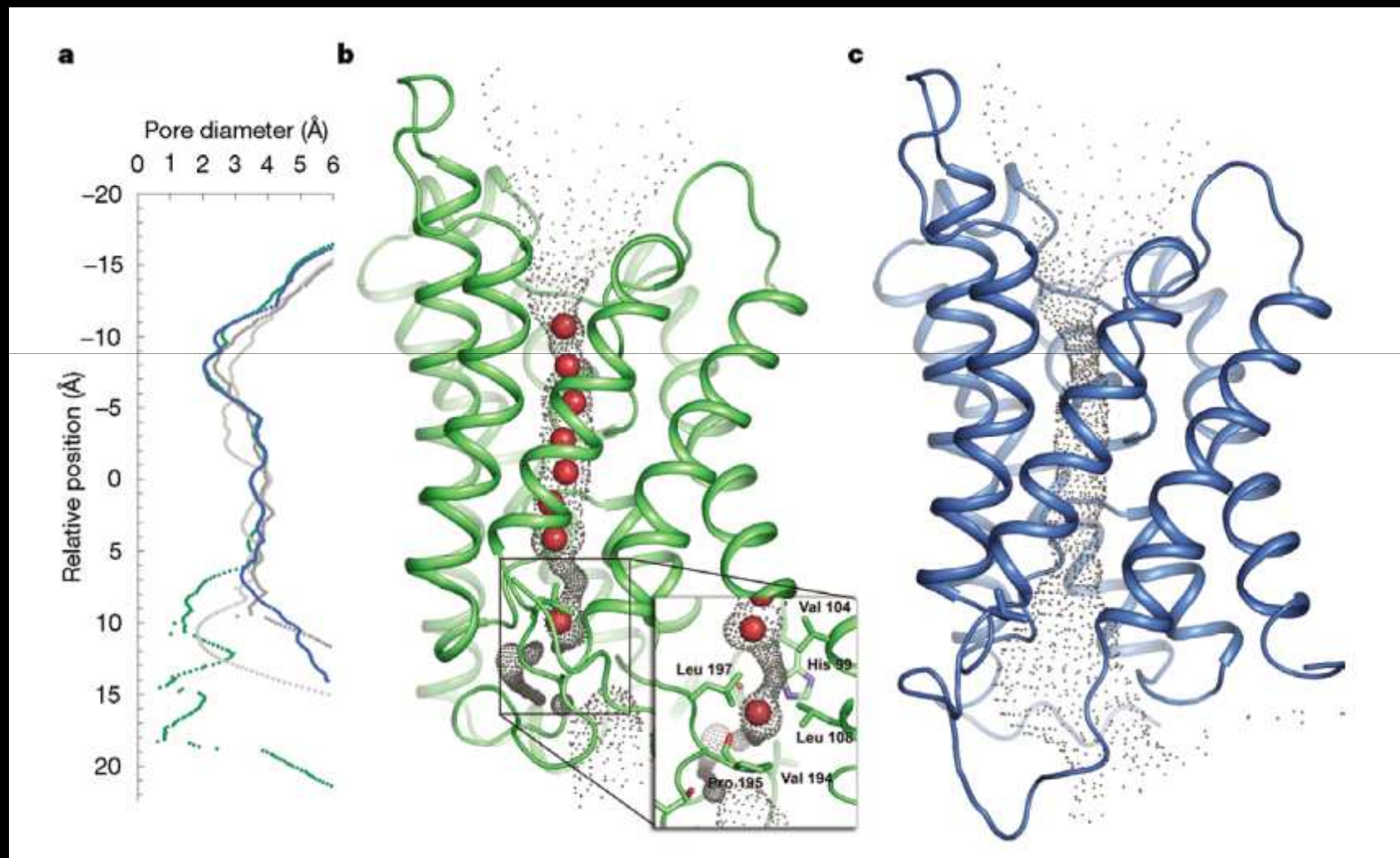




# La phosphorylation des ZmPIP diminue quand l'osmolarité du milieu augmente

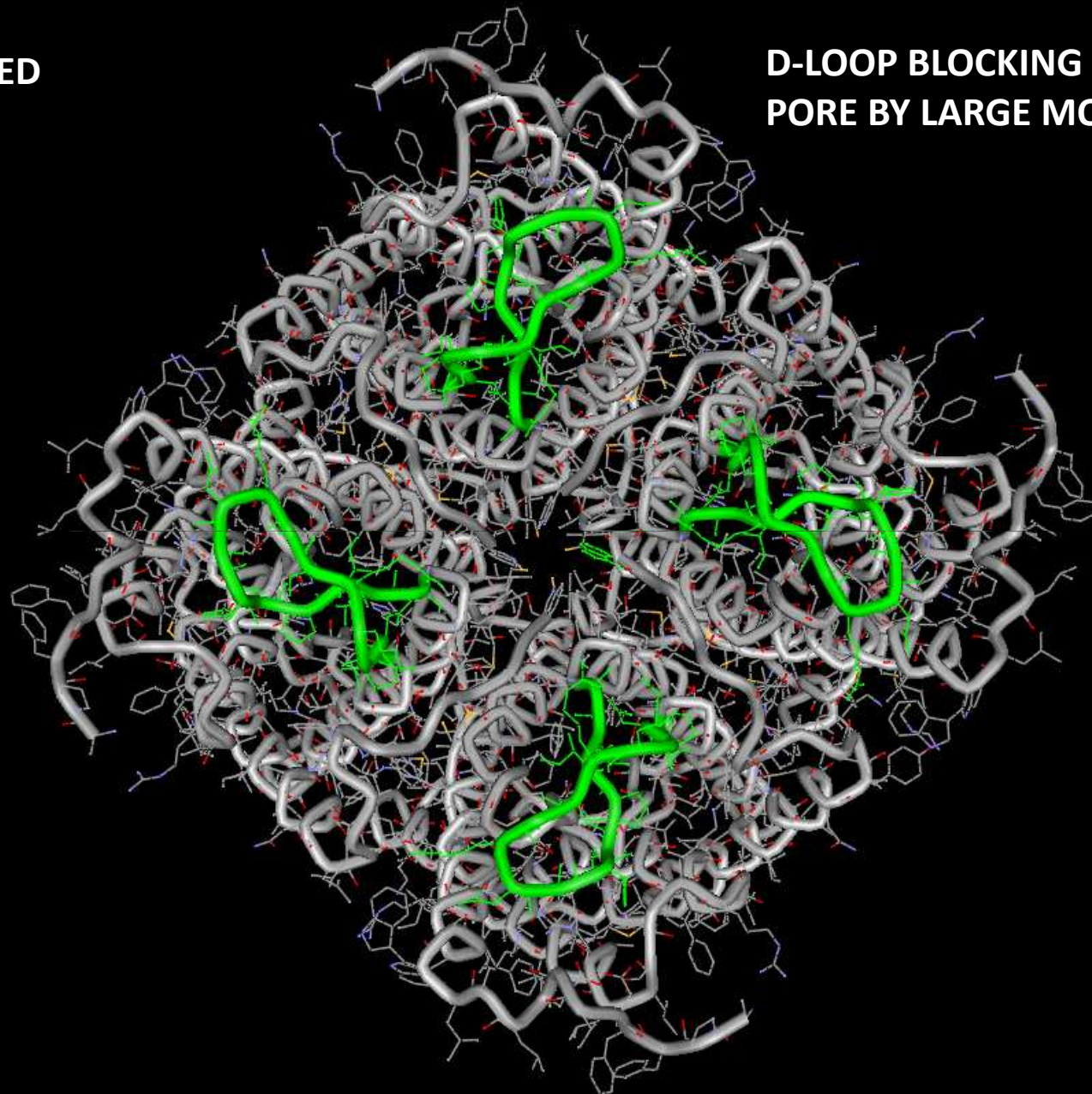


# La structure de SoPIP2;1 dans une conformation ouverte ou fermée



**CLOSED**

**D-LOOP BLOCKING THE  
PORE BY LARGE MOVEMENT**

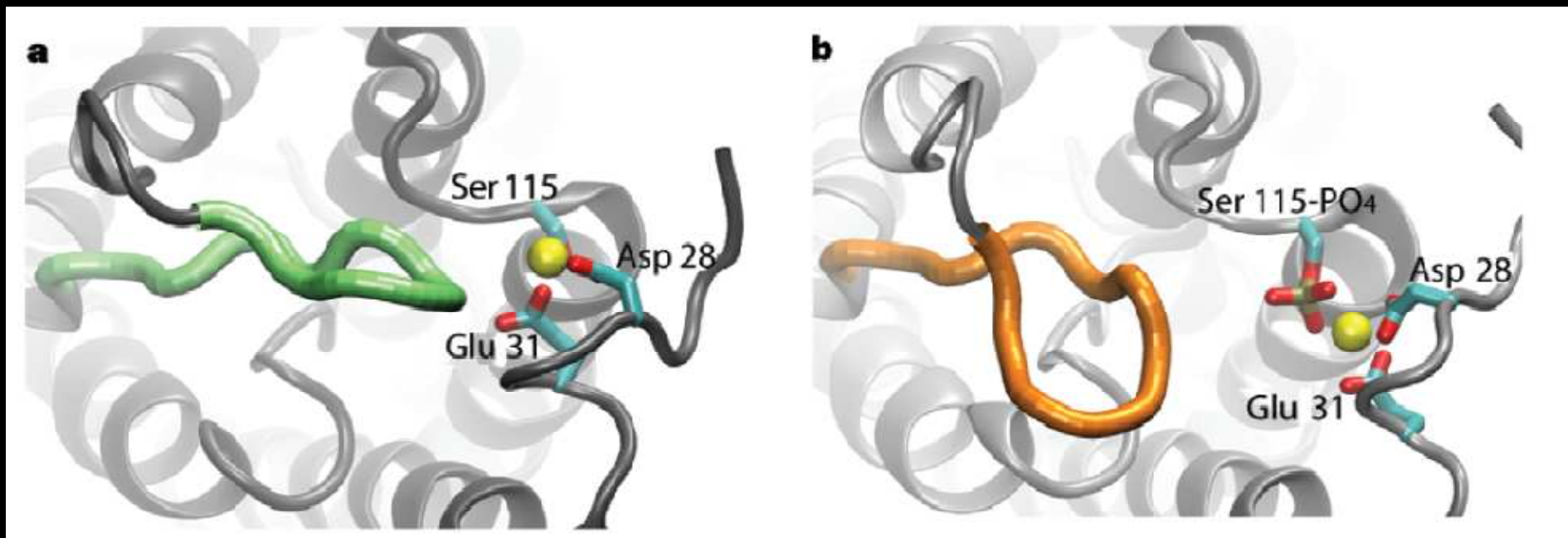


Courtesy of U. Johanson, Lund University



# S115 phosphorylation regulates SoPIP2;1 gating

---



# Conclusions

---



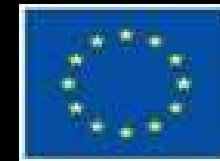
- Le mouvement de l'eau est essentiel à la croissance et développement de la plante
- Les aquaporines facilitent le passage de l'eau à travers les membranes cellulaires
- Les aquaporines végétales forment une famille divergente de canaux
- Les aquaporines de la membrane plasmique sont fortement régulées
  - Leur quantité dépend du stade de développement et des conditions environnementales
  - Leur adressage vers la membrane plasmique dépend d'interactions et de signaux spécifiques
  - L'ouverture du canal est contrôlée par phosphorylation et dépend des conditions environnementales



# Perspectives

---

- Intégration des connaissances sur la régulation du mouvement de l'eau et son utilisation par la plante dans un environnement fluctuant devrait permettre d'explorer de nouvelles ressources génétiques et d'obtenir des plantes plus tolérantes à la sécheresse





# L'équipe "aquaporine"



Post-docs

Patrick Bienert  
Arnaud Besserer



Doctorands

Urszula Micielica  
Damien Cavez  
Robert Heinen  
Hagen Reinhardt  
Marie Berny  
Adrien Chevalier

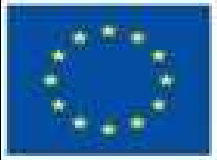


Anciens post-docs et doctorands

Menachem Moshelion  
Olga Olinevich  
Mohammed Bajji  
Dmitry Veselov  
Qing Ye



Karolina Fetter  
Valérie Van Wilder  
Eric Zelazny  
Charles Hachez  
Anne-Sophie Lebrun  
Mélanie Muylaert



M. Hemminga  
J.W. Borst



W. Fricke

University of Glasgow

M. Blatt