

**Proposition de stage de Master 1:**  
**Evaluation de l'état d'oxydation d'échantillons végétaux par quantification de la carbonylation des protéines foliaires : comparaison de deux méthodologies.**

**Equipe d'accueil :**

Equipe EcoPhyS - iEES Paris  
Université Paris Est Créteil -Faculté des Sciences et Technologie-Bat P1-2ème étage  
61 avenue du Général de Gaulle  
94010 CRETEIL Cedex

**Contacts :** Pr Juliette Leymarie, [juliette.leymarie@u-pec.fr](mailto:juliette.leymarie@u-pec.fr), 01 45 17 14 66 ;  
Dr Luis Leitao, [luis.leitao@u-pec.fr](mailto:luis.leitao@u-pec.fr), 01 45 17 65 68.

**Période :** Avril à juin 2018 (dates selon la formation, 2 mois avec possibilité de prolongation)

**Contexte :** Dans un contexte de diminution des superficies agricoles, d'une évolution des pratiques vers une agriculture raisonnée, et d'un changement climatique important, les impacts de la pollution à l'ozone sur les rendements agricoles doivent absolument être mieux évalués.

Un des objectifs du projet BEMEVO (BIOINDICATION ET EFFET MEMOIRE D'UNE EXPOSITION DES VEGETAUX CULTIVES A L'OZONE) est d'améliorer l'évaluation du risque que constitue l'ozone troposphérique pour l'agriculture. En particulier, nous cherchons à décrire l'impact d'un épisode de pollution à l'ozone sur la capacité de l'orge, du colza et du tabac à résister à un déficit hydrique ultérieur.

Chez les plantes, l'ozone affecte un certain nombre de processus physiologiques et biochimiques essentiels provoquant une baisse de croissance chez certaines espèces. Ces effets sont essentiellement le résultat d'un stress oxydatif cellulaire induit par la génération d'espèces réactives de l'oxygène qui sont susceptibles d'oxyder certaines macromolécules dont les protéines. De nombreuses modifications des protéines par oxydation sont décrites dans la littérature. Elles affectent un large panel d'acides aminés tels que les résidus cystéine, méthionine, tryptophane, lysine, proline, tyrosine et phénylalanine. Nous nous intéresserons plus particulièrement à la formation de groupements carbonyles (aldéhydes ou cétones) comme marqueurs de contrainte oxydative.

**Sujet:**

Une première expérimentation avec fumigation d'ozone dans un « Ecolab » (série de chambres de culture contrôlées) a été réalisée au CEREAP (St Pierre Les Nemours) en 2017 et une deuxième expérimentation aura lieu au cours du premier semestre 2018 (espèces végétales concernées : tabac, orge et peuplier). Le/la stagiaire pourra participer au suivi de cette seconde expérimentation : acquisition de données écophysologiques (échanges gazeux, quantification des pigments, des biomasses, des surfaces foliaires) et au prélèvement de matériel végétal.

La première partie du stage, effectuée au laboratoire, concernera l'évaluation du stress oxydant sur les échantillons de la campagne 2017 à travers la quantification des groupements carbonyle présents sur les protéines foliaires préalablement extraites. Deux protocoles de quantification seront comparés faisant appel soit à de la fluorescence du FTC (Fluorescéine-5-thiosemicarbazide), soit à de la colorimétrie en utilisant du DNPH (2,4-dinitrophenylhydrazine).

L'étudiant aura pour mission (i) d'adapter ces 2 protocoles aux modèles végétaux testés, (ii) d'analyser les échantillons récoltés au cours de l'expérimentation 2017 et (iii) de comparer les résultats obtenus par ces 2 méthodes. Ce travail devrait permettre de disposer de deux méthodologies complémentaires de quantification des groupements carbonyle du protéome foliaire utilisables en fonction des objectifs recherchés (rapidité d'analyse, état d'oxydation global du protéome ou état d'oxydation des protéines en fonction de la taille des protéines...).

Une seconde partie du stage aura pour objet le suivi et les prélèvements des échantillons de la campagne 2018.

**Méthodologies employées :** Biochimie des protéines, écophysologie