



HAL
open science

Régulation des transferts d'eau dans la plante et conséquences sur la croissance en déficit hydrique

Thierry T. Simonneau

► **To cite this version:**

Thierry T. Simonneau. Régulation des transferts d'eau dans la plante et conséquences sur la croissance en déficit hydrique. Biologie végétale. Université Montpellier 2 (Sciences et Techniques), 2011. tel-02819464

HAL Id: tel-02819464

<https://hal.inrae.fr/tel-02819464>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Nom : **SIMONNEAU**

Prénom : **Thierry**

**D O S S I E R
D ' H A B I L I T A T I O N
A D I R I G E R
D E S R E C H E R C H E S**

Septembre 2009

RESUME

Mes travaux initiaux ont porté sur les mécanismes de **régulation des transferts d'eau à travers la plante**. Je les ai étendus depuis quelques années pour mieux comprendre l'impact des conditions climatiques contraignantes sur l'état hydrique et la **croissance des organes**. Face à l'accroissement des contraintes climatiques et de la compétition pour l'usage de l'eau, je contribue ainsi à la recherche de génotypes adaptés à des ressources hydriques limitées.

A mes **approches biophysiques** initiales sur pêcher, j'ai adjoint des approches **génétiques** (en collaboration) et **biochimiques** (par des formations complémentaires) pour analyser quantitativement les processus de transfert d'eau et de contrôle de la croissance dans des plantes entières intactes (tournesol, maïs et *Arabidopsis*), soumises à des environnements climatiques fluctuants. Je me suis largement appuyé sur la **modélisation** pour (i) structurer les connaissances existantes, (ii) planifier des expérimentations au regard d'hypothèses à tester, (iii) analyser les résultats, et finalement les réintégrer dans des modèles dynamiques à base biophysique.

Grâce à ces approches, **j'ai alimenté les modèles de réponse des plantes à l'environnement climatique, utilisés par mes collaborateurs pour l'analyse de la variabilité génétique** et la définition d'idéotypes adaptés aux scénarios climatiques contraignants. J'ai construit notamment des modèles de réponse de la transpiration et de la croissance des plantes aux contraintes hydriques qui permettent une description des génotypes par des jeux de caractères les plus héritables possibles. **J'ai également contribué à mettre en évidence le rôle intégré de gènes en interaction avec le fonctionnement hydraulique des plantes**, ainsi qu'une cascade signalétique induite par un pathogène racinaire. J'inscris ainsi mes travaux dans le projet de l'unité que je dirige actuellement avec un engagement fort vers la biologie intégrative verticale.

Mon implication dans la formation s'est traduite essentiellement par **l'encadrement** de nombreux(es) étudiant(e)s et post-doctorants et plus marginalement par des cours aux étudiants de 3^{ème} cycle (Montpellier SupAgro et Université Montpellier 2). Je leur transmets mes compétences dans 2 domaines principaux. J'explicite la démarche de modélisation comme support de formalisation et d'assemblage des connaissances en appui à l'expérimentation. Je replace les connaissances sur la physiologie des transferts d'eau le long du continuum sol-plante-atmosphère dans une perspective d'analyse de la variabilité génétique.

Mon projet personnel prolonge mes travaux sur la régulation de la croissance des plantes. Il découle de mes résultats sur l'importance des fluctuations de la turgescence cellulaire dans les tissus en expansion. Je propose en particulier d'analyser les processus qui régulent la turgescence dans les cellules en croissance. Je compte reprendre des études sur le contrôle des flux d'eau par les stomates et intégrer les acteurs impliqués dans la **régulation du potentiel osmotique intracellulaire**. Ces processus sont multiples et nécessitent le développement d'approches de modélisation pour gérer la complexité des interactions en jeu, et évaluer quantitativement la part de chacun d'eux. A plus long terme, je propose d'élargir mes objectifs **vers l'explicitation de l'efficacité de transpiration** en m'appuyant sur un réseau de collaborations et une plate-forme de modélisation (OpenAléa).

TABLE DES MATIERES

	pages
Curriculum vitae	1
1. Introduction : l'adaptation de la production végétale à la sécheresse, fil conducteur de ma carrière.	3
2. Régulation de l'absorption d'eau au niveau racinaire ; modélisation dynamique des transferts hydriques dans la plante.	6
3. Réponse des stomates au déficit hydrique ; une modélisation de la variabilité génétique à l'échelle de la plante entière.	11
4. Contrôle hydraulique de la croissance foliaire ; couplage avec les modèles de transfert d'eau dans la plante.	18
5. Animation de la recherche, formation et autres activités.	21
6. Projet : contrôle hydraulique de la croissance et modélisation intégrative de l'efficacité d'utilisation de l'eau par les plantes.	24
7. Conclusion.	28
Annexe : Références citées	29
Liste des publications personnelles (<u>soulignées dans le texte</u>)	32

CURRICULUM VITAE

Thierry Simonneau, Chargé de Recherches 1ère classe INRA

Né le 23 Septembre 1962
Marié, 2 enfants.

Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux

UMR 759, INRA-SupAgro, 34060 Montpellier cedex 1

Tel : 0 (France) or 33 (outside) 4 99 61 27 52

Fax : 0 (France) or 33 (outside) 4 67 52 21 16

Email : simonneau@supagro.inra.fr

Formation

1981-1983 Classes préparatoires « biologie », Nantes.

1983 Admission INAP-G, ENS St Cloud.

1983-1986 INA Paris-Grignon

Langues

Anglais Lu, écrit, parlé

Espagnol Lu, parlé

Allemand étudié 5 ans

Diplômes

1980 Baccalauréat C

1986 Diplôme d'Agronomie Approfondie de l'INA P-G

Spécialité « Sciences et Techniques des Productions Végétales »

1992 Doctorat de l'INA P-G.

Déroulement de carrière

1986 Admission ASC INRA

1987-1988 Service National (Aide Technique) INRA Guadeloupe.

1988-1993 Formation ASC, Station d'Agronomie, Avignon.

1993 Admission CR2 INRA ; affectation LEPSE Agronomie Montpellier

1995 Titularisation CR2

1997 Avancement CR1

Principales expériences de recherche

1986 CTIFL, Ancenis : influence du labour, du tassement du sol et des caractéristiques des horizons non cultivés sur l'enracinement superficiel et profond du maïs.

1987-88 INRA, Petit-Bourg (Guadeloupe) : étude au champ de l'enracinement de quelques graminées tropicales en sol acide hydromorphe.

1989-1992 INRA, Avignon : travail de doctorat dans le but de déterminer les mécanismes responsables de la répartition de l'absorption d'eau au sein du système racinaires de pêchers.

1993-présent LEPSE Montpellier, UMR INRA-SupAgro. Directeur d'Unité depuis 2003.

Domaine actuel de recherche : Modélisation des transferts d'eau dans la plante, du contrôle stomatique et de ses conséquences sur la croissance chez les plantes soumises à une contrainte hydrique.

Relations internationales :

11 missions à l'étranger (10 en Europe, 1 aux USA) : 8 colloques (dont 2 en tant qu'invité) ; 1 préparation de projet Européen ; 2 formations en Biochimie (dosage de l'acide abscissique et d'enzymes pariétales).

Participation au réseau STRESSNET (1993-1995).

1 co-tutelle de thèse démarrée en 2006 (Université Vieux Kouba, Alger, Algérie).

1 participation au programme Européen AgronOmics (2007-2010).

Principaux contrats de recherche récemment financés

- 2002-2005 Génoplatte-GABI "Evaluation of natural diversity in Arabidopsis accessions for traits of agronomic or basic importance" Contribution sur la transpiration en réponse au déficit hydrique (coll. avec C Granier sur la croissance foliaire).
- 2003-2005 ACI Biologie du développement et physiologie intégrative (coord. C Maurel, B&PMP Montpellier ; coll. R Bligny CNRS Grenoble). Titre : « Rôle du transport membranaire d'eau dans la croissance et la réponse intégrée des plantes aux stress. Nouvelles pistes de recherche basées sur les propriétés de régulation des aquaporines par le pH ».
- 2007-2008 Agro-BI « Fonction et régulation des aquaporines dans la plante sous contrainte hydrique : transport d'eau et croissance » (coord. C Maurel ; coll. M Rossignol, LPF, Montpellier).
- 2007-2009 ANR-Blanc « Towards improvement of water use efficiency in plants : integrated approaches to control stomatal aperture and transpirational water loss » (coord. T Simonneau ; colls. H Sentenac *et al.* B&PMP Montpellier ; A. Vavasseur *et al.*, LEMS CEA Cadarache ; JP Galaud *et al.* SCSV Toulouse).

Activités d'enseignement

- 1988 Interventions en formation universitaire de 2nd cycle « Développement Agricole Caraïbe » :
-Cours (2h) : « toxicité aluminique »
-Séquence de Travaux pratiques (5 x 3h) : « Conséquences d'un amendement calcaire sur le développement d'une culture de sorgho en sol à forte teneur en Aluminium échangeable ».
- 1994 Formation continue, Montpellier-SupAgro :
Cours (3h) : « Transferts d'eau dans la plante et contrôle de la transpiration »
- 1995 Formation de 3ème année, DAA génie Agronomique, Montpellier- SupAgro (3h) : « *ibid.* »
- 1996-2009 M2 « Bases de la Production Végétale », Univ. Montpellier II-SupAgro :
Cours (3h) « Régulation du flux d'eau et de CO₂ par les stomates ».
- 2003 DESS « génétique », Univ. Montpellier II : cours (3h) « modélisation de la transpiration des plantes pour l'analyse de la variabilité génétique ».
- 1996-2000 DEA « Bases de la Production Végétale », Univ. Montpellier II- SupAgro :
Cours (3h) « La régression non linéaire ».
- 1996-2009 3ème année du DAA, unité d'approfondissement : Cours (3h) « *ibid.* »

Formation d'étudiants :

Depuis 1999 Membre de 10 comités de pilotage de thèse.

Un à deux étudiants par an niveau L3-M1 en moyenne.

Un étudiant par an en thèse ou en M2 sur ma thématique de recherche.

Participation régulière à l'encadrement d'un autre étudiant en thèse, dirigé par H. Sentenac, sur le rôle intégré des canaux potassiques dans le fonctionnement stomatique des plantes.

Animation, évaluation et gestion collective de la recherche:

Projets d'articles : env. 3/an pour les revues dans lesquelles je publie

Projets de recherche : env. 2/an : ANR-Blanc, ANR-Jeunes Chercheurs, Région Centre; AgroBI, ECOS

Membre de la CSS EGBIP depuis 2003.

Jury (Examineur) de 4 thèses depuis 2003.

Evaluation collective d'unités : 3 UMR INRA-universités depuis 2005, dont une en tant que président.

Membre de la cellule d'animation en modélisation à l'INRA (2006-).

Membre nommé de la CSS EGBIP de l'INRA (2003-2006).

Membre élu du Conseil scientifique du centre INRA de Montpellier (2004-2007).

Membre nommé du Conseil scientifique du centre INRA d'Avignon-Sophia Antipolis (2008-2012)

Membre nommé du pôle de formation et recherche à l'Université Montpellier 2 (2009-)

Membre nommé de la CAPL Techniciens de Recherche du centre INRA de Montpellier (2004-2007)

Membre nommé de la cellule « écoresponsabilité » du campus INRA Montpellier SupAgro (2009-)

Caractère physiologique	Réponse au déficit hydrique	Mécanismes sous-jacents	Conséquences favorables sur le rendement	Conséquences défavorables sur le rendement	Pistes d'amélioration
conductance stomatique	diminue	synthèse d'ABA perte de turgescence	retarde l'épuisement des réserves en eau du sol par isolement des surfaces évaporantes le jour, atténue l'effet de la demande évaporative sur les potentiels hydriques dans la plante	élève la température foliaire ralentit la diffusion du CO2 et limite l'assimilation du C	rechercher un optimum
cuticule	s'épaissit, se modifie	modification des activités de synthèse de cires	limite l'échauffement foliaire, atténue l'effet de la demande évaporative sur les potentiels hydriques dans la plante	diminue le rayonnement intercepté	rechercher un optimum, favoriser le développement d'une cuticule imperméable
type photosynthétique	peut se déplacer vers CAM		retarde l'épuisement des réserves en eau du sol par isolement des surfaces évaporantes le jour	perd en efficience	tirer profit du métabolisme CAM uniquement en déficit, augmenter la WUE instantanée
capacité photosynthétique	diminue			ralentit l'assimilation du carbone	améliorer les performances photosynthétiques sous déficit (tirer profit des avantages du métabolisme C4), orienter la redistribution des assimilats
floraisons mâles et femelles	plus précoce désynchronisées			raccourcit le cycle de croissance, pénalise la fécondation	retarder la floraison, resynchroniser les floraisons
développement des grains	avortement	faible disponibilité en C		diminue le nombre de grains/épi	augmenter la disponibilité en C à fécondation
sénescence foliaire	s'accélère			pénalise l'assimilation en fin de cycle	retarder la sénescence (staygreen)
mobilisation des réserves C	augmente		favorise le développement des grains		favoriser la remobilisation des réserves C
croissance foliaire	ralentit	faible turgescence faible disponibilité en C ?? endurcissement des parois (enzymes, ROS...)	retarde l'épuisement des réserves en eau du sol par réduction de surface évaporante	diminue l'assimilation du C par la plante	lever la rétroinhibition de la photosynthèse, favoriser l'ajustement osmotique
flétrissement, enroulement	augmente	faible turgescence	retarde l'épuisement des réserves en eau du sol par réduction de surface évaporante, limite l'échauffement, atténue l'effet de la demande évaporative sur les potentiels hydriques dans la plante	diminue le rayonnement intercepté et la photosynthèse	rechercher un optimum dans la réponse d'enroulement
croissance racinaire	ralentit	faible disponibilité en C endurcissement des parois (enzymes, ROS...)		limite le volume d'eau disponible pour la plante	favoriser la croissance racinaire (sans trop perturber la disponibilité en C pour les parties récoltées)
conductivité hydraulique	diminue	cavitation, baisse d'activité des aquaporines	retarde l'épuisement des réserves en eau du sol via la fermeture stomatique ?	accentue les chutes de potentiels hydriques dans les tissus, voire rompt leur alimentation en eau, entraînant leur dégénérescence	réduire la vulnérabilité du xylème, améliorer la perméabilité des membranes ?
intégrité cellulaire	se dégrade	augmentation de ROS et dommages oxydatifs		dysfonctionnement voire mort cellulaire	favoriser les métabolismes antioxydatifs

Table 1. Principaux caractères physiologiques impliqués dans la réponse des plantes au déficit hydrique, conséquences sur le rendement et pistes d'amélioration. Les conséquences parfois positives sur le rendement dans certaines conditions (souvent sur l'économie d'eau) sont toujours contrebalancées par des effets négatifs (souvent sur une croissance moindre). Dans de nombreux cas, il est difficile de proposer une amélioration absolue, et la recherche d'un optimum est la seule solution.

(d'après Cattivelli *et al.* 2008)

1. INTRODUCTION : L'ADAPTATION DE LA PRODUCTION VEGETALE A LA SECHERESSE, FIL CONDUCTEUR DE MA CARRIERE.

1.1. Contexte socio-économique

L'ensemble de mes travaux vise l'adaptation de la production végétale à la sécheresse, principale contrainte abiotique à l'échelle mondiale (DELMER 2005 ; MOFFAT 2002). En France, des pertes de rendement de 10 à 40 % ont été constatées lors des derniers épisodes de sécheresse en 1976, 2003 et 2005. Avec les changements climatiques, la fréquence et la durée de ces épisodes s'accroissent (BRESHEARS *et al.* 2005; SCHROTER *et al.* 2005). L'augmentation de la demande évaporative (avec la température) se surimpose aux effets de l'insuffisance des précipitations, de leur irrégularité ou de leur décalage vers les périodes hivernales aux dépens des fins de cycles des cultures. Par ailleurs, la compétition croissante pour l'usage de l'eau et le contrôle des flux de polluants vont limiter les possibilités d'irrigation, en faisant apparaître des zones de vulnérabilité aux épisodes climatiques extrêmes. Enfin, les attentes sur les cultures bioénergétiques (canne, tournesol, colza...) et la diversification des débouchés pour les produits récoltés relancent les objectifs de production dans ces conditions sub-optimales pour l'ensemble des cultures. Finalement, la satisfaction des besoins de production, impliquant le maintien de l'activité agricole dans des zones plus fragiles, soulève de nouveaux défis. Il s'agit d'**assurer une croissance acceptable des plantes en conditions de dessèchement du sol et de forte demande évaporative**. D'autres conditions défavorables vont devoir être affrontées, comme les températures élevées en période estivale, ou encore les épisodes de saturation en eau voire d'engorgement des sols.

1.2. Problématique retenue et positionnement

Pour réduire l'impact des sécheresses sur les cultures, plusieurs types d'actions sont possibles, parmi lesquelles on trouve les incitations économiques, les aménagements hydrologiques, l'adaptation des plantes et des systèmes de production, ou encore l'évolution des techniques d'irrigation (AMIGUES 2006).

Mes recherches participent à la construction de géotypes adaptés au manque d'eau, et incidemment à l'élaboration des stratégies culturales associées pour optimiser l'utilisation de l'eau. C'est l'objectif général du Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux (LEPSE), que je dirige actuellement. Pour cela, le LEPSE élabore des méthodologies d'analyse et de modélisation de la croissance des plantes en combinant 1/ les connaissances sur les mécanismes physiologiques de réponses à plusieurs niveaux d'organisation du vivant et 2/ les interactions physiques entre la plante et son environnement pédo-climatique. Le LEPSE participe aussi à la compréhension du rôle de certains gènes (en collaboration) ou plus largement de caractères héréditaires, en développant des approches de caractérisation de la réponse des plantes à haut débit. Ceci positionne majoritairement mes activités et celles mon unité sur le plan des recherches génériques. Mais par leurs finalités sur l'adaptation des espèces ou des pratiques pour l'optimisation de l'usage de l'eau, les travaux s'inscrivent également dans une perspective de recherche sur les systèmes agricoles innovants et durables.

Mes travaux personnels portent plus précisément sur les mécanismes de régulation de l'utilisation de l'eau par les plantes et sur ses conséquences pour la croissance. Ce choix peut apparaître restreint face à la diversité des stratégies adaptatives observées chez les plantes (Tab. 1). Lorsque le déficit hydrique ne peut être évité, de nombreux mécanismes de protection des structures cellulaires se mettent en place pour protéger les tissus face aux effets nocifs induits par la sécheresse. Ainsi, par exemple, certaines enzymes permettent d'évacuer les espèces réactives d'oxygène dont la production augmente en situation de déficit hydrique (REDDY *et al.* 2004). Mais les plantes peuvent également adopter des stratégies d'esquive. Ainsi les plantes à fleurs répondent fréquemment à la sécheresse par un raccourcissement de leur cycle et une floraison précoce (SLAFER *et al.* 2005). J'ai concentré mes travaux sur une stratégie proche, qui consiste pour la plante à éviter que le déficit ne se développe, par exemple en modifiant ses capacités d'extraction d'eau au niveau racinaire (JOHNSON *et al.* 2000), mais surtout en limitant sa consommation d'eau de plusieurs façons. En premier lieu, la réponse précoce de **la croissance foliaire** en réponse au dessèchement du sol (VAN VOLKENBURGH et BOYER 1985) conduit à une surface d'évaporation réduite (effet accentué par l'enroulement ou le flétrissement des feuilles). En second lieu, **les stomates** situés sur l'épiderme des organes aériens, et qui ménagent les pores à travers lesquels s'échappe l'essentiel de la vapeur d'eau, ont un degré d'ouverture (une conductance) qui s'ajuste en permanence aux conditions environnementales (HETHERINGTON et WOODWARD 2003).

Il existe une **grande variabilité génétique** dans ces réponses très intégrées (GRANIER *et al.* 2006), variabilité qui se retrouve également à des niveaux d'organisation plus élémentaires, comme la résilience à la cavitation du xylème (CHOAT *et al.* 2007), l'ajustement osmotique dans les cellules (TEULAT *et*

al. 2001) qui permet de maintenir une turgescence élevée malgré la baisse ambiante du potentiel hydrique total etc. Les adaptations correspondantes interviennent rapidement (en quelques minutes comme la régulation stomatique), à moyen terme (en quelques jours comme les modifications des vitesses de développement) ou à l'échelle de l'évolution des espèces (comme l'apparition du métabolisme CAM qui permet la fixation du CO₂ à travers les stomates ouverts la nuit, lorsque la demande évaporative est minimale). Ces différentes échelles de temps justifient des recherches qui portent à la fois sur l'identification des réponses d'un génotype à une évolution plus ou moins rapide de la contrainte hydrique (que ces réponses soient communes à d'autres génotypes ou non), mais aussi sur la comparaison de génotypes face à une contrainte hydrique donnée.

1.3. Démarche générale

Les performances d'une culture en conditions de sécheresse dépendent d'une combinaison complexe de processus multiples très probablement fondés sur des déterminismes multigéniques (CATIVELLI *et al.* 2008). De plus, ces processus contribuent de manière variable à l'élaboration du rendement en fonction du scénario climatique. Les stratégies d'amélioration variétale basées sur la recherche de faibles écarts de production entre conditions sèches et irriguées ne débouchent pas nécessairement sur l'amélioration moyenne de la productivité sur une série climatique de plusieurs années. Plusieurs exemples ont montré que la sélection de variétés performantes à la fois en conditions de bonne alimentation hydrique et de sécheresse était possible sans que les écarts de production entre ces situations soient réduits (OBER *et al.* 2004 ; RIZZA *et al.* 2004). Une grande diversité de mécanismes physiologiques et de déterminismes génétiques est donc à l'origine d'une forte variabilité des réponses intégrées des plantes face des scénarios climatiques difficilement prévisibles. Les interactions entre les génotypes et leur environnement empêchent l'extrapolation des résultats d'une condition à une autre. Il apparaît coûteux voire impossible d'entreprendre une exploration systématique des réponses d'un nombre élevé de génotypes face à une multitude de scénarios climatiques, surtout si l'on vise de nouvelles variétés, voire de nouvelles espèces, dans de nouveaux contextes climatiques à venir. Cela m'a conduit à inscrire progressivement mes travaux dans une démarche collective de modélisation des interactions entre génotypes et environnement en concentrant mes efforts sur les déterminants physiologiques majeurs de la réponse des plantes. Ainsi, j'ai cherché à établir des **relations stables et génériques entre les phénotypes de croissance et de transpiration d'une part et les conditions climatiques d'autre part**. Ceci revenait à construire des modèles de réponse des plantes à l'environnement avec les propriétés suivantes :

- la robustesse face à des scénarios climatiques contrastés ; je l'ai évaluée dans mes travaux, grâce à la confrontation d'expérimentations en conditions contrôlées (chambres et serre) et au champ.
- l'héritabilité des formalismes retenus ; j'ai progressé plus rapidement vers cet objectif lorsque j'ai introduit l'analyse de la variabilité génétique dans mes recherches de formalisation des réponses à l'environnement; j'ai utilisé des variants génétiques contrastés (écotypes distants sur le plan génétique, mutants, transformants) pour confirmer la stabilité des relations proposées.
- la parcimonie dans le niveau de complexité des modèles ; ces derniers devaient inclure les leviers d'action génétique connus (ou envisageables) sur la plante, en évitant une fragmentation en composantes sans lien; pour cela, j'ai suivi 2 types de démarches complémentaires :
 - démarche descendante : j'ai décomposé les réponses en méta-processus faisant apparaître certains acteurs physiologiques clefs (comme l'acide abscissique) mais agrégeant, sans les expliciter, d'autres ensembles d'acteurs (comme les acteurs de la sensibilité des stomates à l'acide abscissique)..
 - démarche ascendante : j'ai formalisé les connaissances ciblées mais fragmentaires obtenues à certains niveaux d'organisation pour les assembler avec des propriétés parfois plus empiriques dans des systèmes d'équations mathématiques qui permettent de représenter un fonctionnement intégré de la plante.

Dans tous les cas, un effort de hiérarchisation dans les connaissances a été nécessaire, ce qui passait nécessairement par des approches quantitatives.

1.4. Les grandes lignes de ma carrière

• 1. Modélisation des transferts d'eau et de ses impacts sur la croissance foliaire.

Mes travaux initiaux ont porté sur la régulation des transferts d'eau dans la plante entière. Je les présenterai en 2 volets correspondant à 2 points de régulation majeurs à l'entrée et la sortie de la plante :

- Régulation de l'absorption d'eau par le système racinaire.
- Régulation de la transpiration par les stomates.

J'ai ensuite étudié comment ces mécanismes de régulation modifiaient l'impact des conditions de disponibilité en eau et de demande évaporative sur l'état hydrique (turgescence) et la croissance des organes (feuilles). Cette activité constituera un 3^{ème} volet de mon rapport d'activités :

- Contrôle hydraulique de la croissance foliaire en conditions de stress hydrique.

J'exposerai comment je me suis largement appuyé sur la modélisation pour (i) structurer et assembler les connaissances existantes, (ii) planifier des expérimentations au regard d'hypothèses à tester, (iii) analyser les résultats, et finalement les ré-intégrer dans des modèles dynamiques.

- **2. Un investissement croissant en Biologie Intégrative « verticale ».**

La biologie moléculaire produit des masses de connaissances qui restent fragmentaires et qui nécessitent un assemblage avec les connaissances acquises à d'autres niveaux d'organisation du vivant pour être valorisées ; c'est l'objectif de la biologie intégrative verticale. J'ai relevé ce défi dans mes travaux. Sur des bases biophysiques, j'ai adjoint des approches génétiques et biochimiques pour analyser les transferts d'eau et la croissance chez des plantes entières soumises à des environnements climatiques fluctuants. Ainsi, j'ai contribué à mettre en évidence le rôle intégré de gènes en interaction avec le fonctionnement hydraulique des plantes (HOSY *et al.*, 2003; BERTHOMIEU *et al.*, 2003; LEBAUDY *et al.*, 2008) ainsi qu'une situation de contrainte hydrique induite par un pathogène racinaire (MAUREL *et al.*, 2004).

En parallèle, mes activités d'animation, d'enseignement et d'expertise ont renforcé mon investissement en biologie intégrative de plusieurs façons. A la direction du LEPSE depuis 2003, j'ai assuré le rapprochement du LEPSE avec l'UMR Biochimie et Physiologie Moléculaire des Plantes (BPMP) dans un même bâtiment et j'ai coordonné, avec le directeur de cette unité, un plan d'action commun, fondant ainsi l'objectif scientifique de l'Institut de Biologie Intégrative des Plantes (IBIP). Dans ce cadre, j'ai soutenu et participé au développement des équipements pour élever les débits de phénotypage. Cela a permis à l'unité de jouer un rôle pilote en liaison avec la génétique dans l'analyse des déterminismes de la réponse des plantes à l'environnement. Ainsi, j'ai défendu un positionnement du LEPSE à l'interface avec la Biologie végétale et la génétique en l'appuyant sur des compétences principalement externes en modélisation. Ma formation initiale en agronomie générale, mon expertise en écophysiologie, et mon investissement personnel marqué vers la biologie végétale, m'ont permis de défendre la diversité des projets d'équipes du LEPSE, depuis certaines approches réductionnistes sur la plante modèle *Arabidopsis thaliana* jusqu'aux problématiques d'optimisation de conduite sur la vigne.

Cartographie physique du sol

Impacts de racines

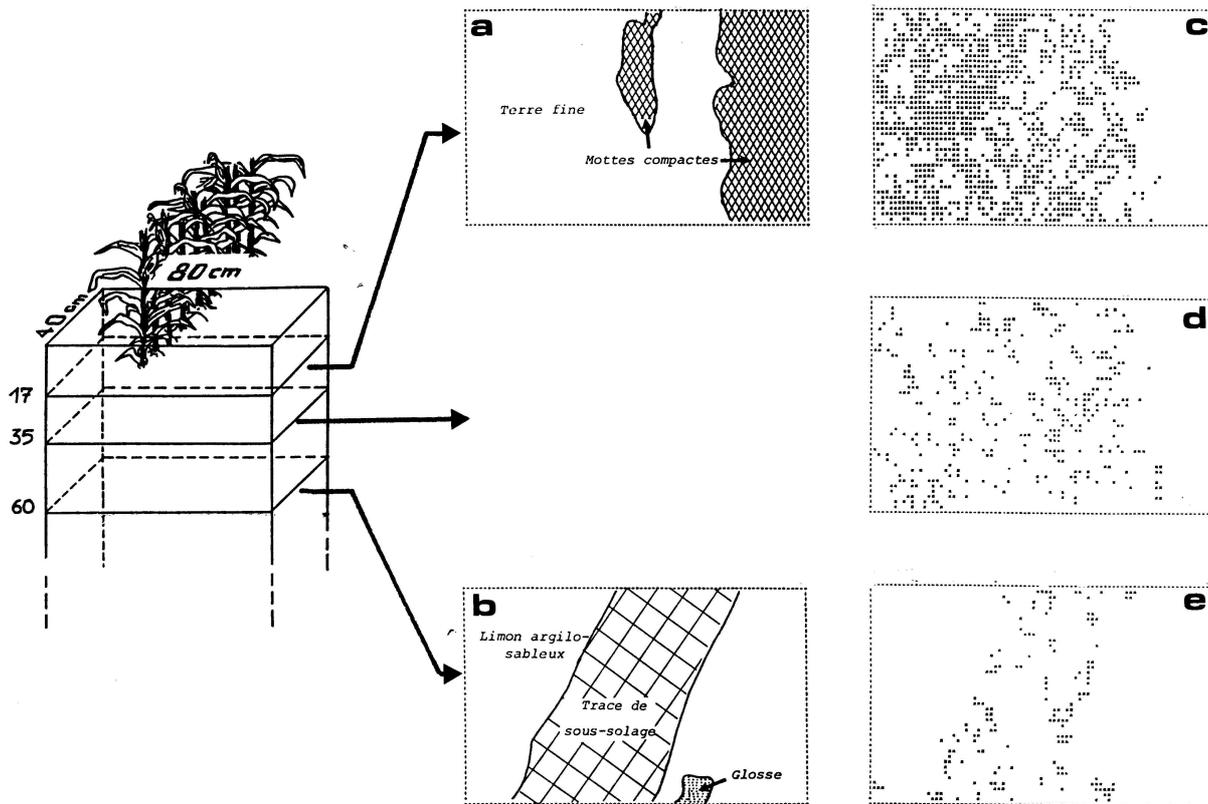


Figure 1. Caractéristiques physiques du sol et disposition spatiale des racines de maïs, cartographiées sur des plans horizontaux à différentes profondeurs dans le sol.

- a) État structural dans la couche labourée à 17 cm de profondeur
- b) Catégories structurales dans l'horizon d'accumulation à 60 cm de profondeur
- c), d) et e) impacts des racines sur les plans horizontaux à 17 cm, 35 cm et 60 cm de profondeur.

Dans les horizons profonds de ce sol (Station ITCF, La Jaillière 44) la disposition regroupée des racines était accentuée par un ancien sous-solage (densité d'impacts racinaires 6 fois plus élevée dans ses traces qu'en dehors). Par contre, l'effet d'ombre (réduction de la densité racinaire sous les zones compactes de la couche labourée) mise en évidence à Grignon, s'atténuait rapidement en profondeur: l'orientation verticale de la porosité empruntée par les racines était également moins marquée (ou remaniée par le sous-solage).

2. REGULATION DE L'ABSORPTION D'EAU AU NIVEAU RACINAIRE ; MODELISATION DYNAMIQUE DES TRANSFERTS HYDRIQUES DANS LA PLANTE.

Collaborations : R Habib (directeur de ma thèse, Avignon) ; L Pagès (INRA Avignon) ; T. Bariac (UMR Bioemco, Grignon) ; C Maurel (BPMP Montpellier) ; F Chaumont (Univ Louvain, Belgique) ; F Tardieu.
Encadrement de thèse : C. Ehler

2.1. Mise en place des racines en tant que capteurs d'eau

La capacité des racines à extraire l'eau du sol dépend de leur disposition spatiale. Elle varie avec l'état physique du sol qui peut ainsi jouer sur l'alimentation hydrique des plantes. En vue d'éclaircir les relations entre structure du sol et disposition des racines, j'ai repris au cours de mon DEA, les méthodes développées par TARDIEU et MANICHON (1986a) en parcelle cultivée : j'ai réalisé des cartographies d'impacts de racines du maïs sur des plans horizontaux dégagés à plusieurs profondeurs dans le sol que j'ai superposées à des cartes d'état structural du sol (Fig 1).

- **J'ai retrouvé des résultats sur la disposition non régulière des racines dans la couche labourée dont j'ai étendu la portée aux horizons non travaillés.** Comme à Grignon (TARDIEU ET MANICHON 1986b), les racines du maïs étaient localisées de façon nettement préférentielle dans les zones du sol de structure fragmentaire ainsi que dans les cavités. J'ai étendu ensuite la démarche aux horizons non travaillés. A la Jaillière, le sol hydromorphe lessivé que j'ai étudié présentait dans son horizon d'accumulation des zones fragmentaires dans des passages de sous-soleuse ainsi qu'une forte diversité de matériaux que j'ai classés selon leur propriétés plus ou moins favorables à la pénétration des racines. La nature très hétérogène de ces horizons m'a permis de dégager des relations entre les caractéristiques mécaniques du sol et la disposition des racines.

Au cours de ce travail, j'ai mesuré la difficulté d'intégrer l'ensemble des événements qui déterminent la disposition des racines dans le sol. Je m'explique ainsi pourquoi il reste difficile aujourd'hui de construire des modèles de prélèvements d'eau dans le sol sur de longues périodes : la modélisation de l'impact du système racinaire (statique) sur l'évolution des teneurs en eau a fortement progressé, mais en retour les conséquences de l'évolution de la teneur en eau du sol sur le développement du système racinaire restent difficiles à intégrer sur le long terme (voir par ex. la revue par DE DORLODOT *et al.* 2007). Cette difficulté représente selon moi un défi majeur pour raisonner l'adaptation des plantes à la contrainte hydrique. Même s'il est raisonnable de négliger l'impact de la dynamique racinaire dans un pot rapidement colonisé, **l'extrapolation au champ d'éventuelles différences génétiques de réponses à la sécheresse ne peut passer outre la question des dynamiques comparées d'épuisement de l'eau du sol et de progression du front racinaire.** Je n'exclue pas de revenir sur cette question suivant les avancées méthodologiques avec l'aide d'équipes compétentes avec lesquelles j'ai déjà des contacts (C DOUSSAN, L PAGES, Avignon ; X DRAYE Wageninigen).

2.2. Contribution des réserves internes de la plante au flux de transpiration.

Les réserves hydriques de la plante peuvent contribuer à compenser ses pertes en eau lors des pointes de transpiration. Grâce à cette contribution, les plantes à fortes réserves pourraient être mieux adaptées aux situations de forte demande transpiratoire. Mais on manque de données sur la part de l'eau stockée dans la plante qui contribue réellement à la transpiration, et sur la cinétique de cette contribution. Pour les apprécier chez de jeunes pêchers (3 à 5 ans) cultivés en solution nutritive (Fig 2), j'ai confronté 2 techniques : l'utilisation de capteurs de déplacements linéaires qui permettent de suivre l'évolution fine (à l'échelle micrométrique) de la dimension des organes, a priori liée à leurs contenus en eau, et l'estimation plus directe des variations de contenu en eau.

- **Grâce à la mesure séparée de la transpiration et de l'absorption par pesée, j'ai quantifié la faible part de l'eau contenue dans les parties aériennes qui contribue à la transpiration.** Les quantités d'eau perdues et restockées quotidiennement par la plante étaient négligeables (moins de 5%) vis à vis des quantités transpirées (Fig 2).

- **J'ai également pu corrélérer les variations de diamètre du tronc à l'état hydrique de la plante** (SIMONNEAU *et al.* 1993). Les variations journalières de stock d'eau dans la plante, bien que très faibles, s'accompagnaient de fortes variations du potentiel hydrique foliaire (de -0.2 MPa à l'aube, jusqu'à -2 MPa à midi). Il était donc important de pouvoir suivre les variations de stock d'eau malgré leur faible amplitude, car le potentiel hydrique est une grandeur à fort impact physiologique. Les mesures par pesées ont montré que les réserves en eau étaient sollicitées de la même façon sur toute la gamme de potentiels hydriques décrite au cours de la journée, indiquant une capacité hydraulique indépendante du potentiel. Une méthode plus classique mais destructive, sur rameaux excisés (courbe « pression-volume »), est venue confirmer ce

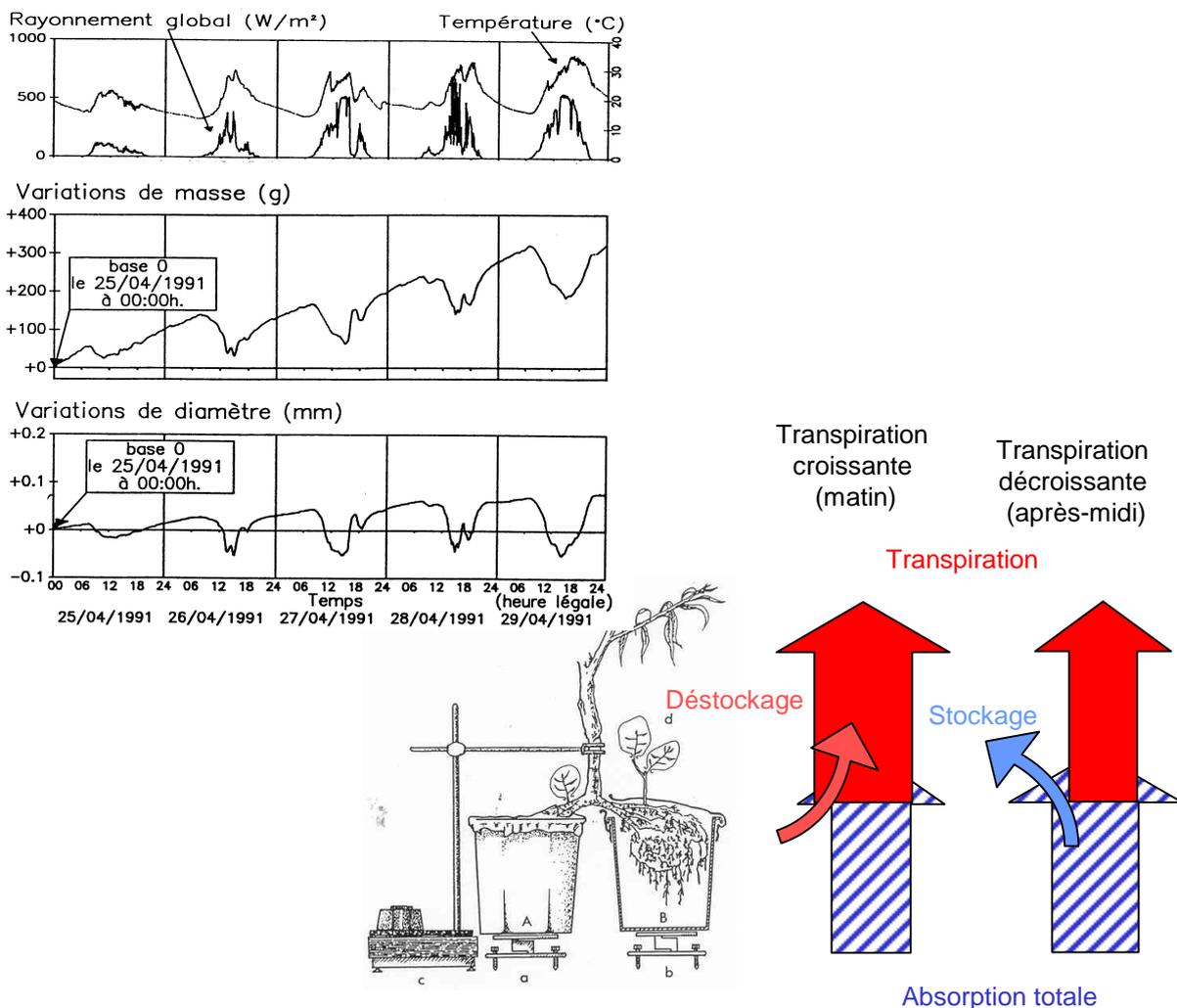


Figure 2. Contribution des réserves en eau au cours de plusieurs journées chez un jeune pêcher en solution nutritive. Le dispositif original de pesée séparée de la partie aérienne de l'arbre (c) et des conteneurs de solution nutritive (a,b) a permis le calcul de la transpiration, de l'absorption et (par différence) des variations de stock d'eau de la partie aérienne au cours de la journée; ces variations quotidiennes étaient corrélées avec les variations de diamètre du tronc mesuré par un capteur de déplacement micrométrique. Les drageons ensachés, portés directement par les racines (d) ont permis la mesure du potentiel hydrique racinaire.

(d'après Simonneau et Habib, 1991 et Simonneau *et al.* 1993)

résultat (SIMONNEAU 1992). Les variations de dimensions des organes suivaient étroitement les variations de stock d'eau dans les paries aériennes de l'arbre. Ces variations micromorphométriques peuvent donc être utilisées comme des indicateurs extrêmement sensibles aux changements d'état hydrique. Cela renforce les fondements de la méthode micromorphométrique pour piloter l'irrigation.

L'eau stockée dans les parties aériennes ne permet donc pas de tamponner significativement l'effet de la demande climatique. Ce comportement, observé chez des pêcheurs en solution nutritive, a pu être aisément testé au verger grâce à la relation que j'ai établie avec les variations de diamètre du tronc. A l'aide du modèle, il a même été possible d'évaluer le rôle de 2 autres compartiments-réservoirs difficiles d'accès mais apparemment **beaucoup plus importants : l'eau contenue dans les racines (voir 2.6) et dans la rhizosphère.** Les recherches mériteraient d'être poursuivies sur ces compartiments.

2.3. Régulation de l'absorption d'eau au sein du système racinaire : passive ?

Me travaux sur ce thème visaient initialement une meilleure gestion des quantités d'eau apportées aux cultures. Cela imposait de savoir **jusqu'à quel point on pouvait réduire les quantités d'eau et l'étendue de la zone d'apports sans conséquence néfaste sur le fonctionnement de la plante.** Des travaux antérieurs (MORIZET *et al.* 1978) avaient mis en évidence des mécanismes de compensation de l'absorption au sein du système racinaire qui permettraient aux racines les mieux pourvues en eau de satisfaire aux besoins de toute la plante. Les mécanismes en jeu, raisonnés par analogie électrique avec la loi d'Ohm (HABIB *et al.* 1991), pouvaient reposer soit sur la diminution de la résistance hydraulique racinaire, soit sur la baisse du potentiel hydrique racinaire (Ψ_r). Ma thèse visait notamment à confronter ces deux hypothèses. Pour cela, il était nécessaire de développer une méthode de mesure directe de Ψ_r *in planta* : un porte-greffe de pêcher a été choisi pour son aptitude à émettre des drageons (Fig. 2d). J'ai utilisé ces derniers comme sonde xylémique. J'ai d'abord évalué la méthode avant de l'appliquer et de l'adapter au maïs, ce qui m'a permis ensuite d'obtenir plusieurs résultats importants sur la régulation de l'absorption au sein du système racinaire en conditions de disponibilité hydrique non uniforme.

- **La mesure de Ψ_r sur drageon, cohérente avec d'autres méthodes, a permis de situer les principales résistances hydrauliques dans la plante intacte en fonctionnement.** J'ai vérifié par confrontation à une méthode alternative (psychrométrique) que le potentiel hydrique des drageons préalablement ensachés, mesuré avec une chambre à pression, se mettait en équilibre avec la racine (SIMONNEAU et HABIB 1991). J'ai également mis en évidence des structures anatomiques de connexion des drageons avec les racines qui appuient la fonction de sonde xylémique que j'ai fait jouer aux drageons. J'ai étendu cette méthode sur des plantes annuelles en l'appliquant aux feuilles basales (EHLERT *et al.* 2009). Bien que le site de mesure de Ψ_r (proche du collet) était toujours distinct des sites d'absorption, la méthode a apporté des précisions originales sur les valeurs des résistances à l'intérieur du système racinaire chez des plantes entières. La partie racinaire représentait environ 1/3 de la résistance totale au transfert de l'eau en phase liquide dans la plante chez les jeunes pêcheurs comme chez le maïs.

- **La mesure de Ψ_r *in planta* a permis de comprendre pourquoi une baisse de conductivité hydraulique racinaire (L_p) n'entraînait pas nécessairement de baisse du flux d'eau.** Dans le cadre de la thèse de C. Ehlert, nous avons montré que des traitements pharmacologiques qui réduisaient la conductivité hydraulique racinaire (L_p) n'entraînait pas nécessairement de modification de flux d'absorption d'eau, du moins tant que la demande évaporative restait modérée (EHLERT *et al.* 2009). Ce résultat contraste avec les observations sur système racinaire excisé, où les modifications de L_p se traduisent par des modifications de flux d'eau à travers les racines (LU et NEUMANN 1999; MARTINEZ-BALLESTA *et al.* 2003). En travaillant sur plante intacte, nous avons montré que les flux d'eau suivaient d'abord les fluctuations de demande évaporative et de conductance stomatique, car les stomates représentent de loin la résistance la plus forte au transfert d'eau. Tant que l'état hydrique dans la plante n'est pas fortement altéré, les stomates restent ouverts et les flux d'eau à travers la plante ne sont pas modifiés. C'était le cas dans nos expériences, où les flux d'eau étaient constants sous demande évaporative modérée. Les traitements de réduction de L_p ont par contre fortement accentué les gradients de potentiel hydrique de part et d'autre de la racine, en abaissant fortement Ψ_r . Cette observation est cohérente avec le maintien des flux, puisque l'augmentation du gradient de potentiels accroît la force motrice des flux d'eau et compense la baisse de L_p . Cela n'exclue pas qu'une réduction de L_p puisse entraîner une réduction des flux d'eau dans d'autres circonstances à la condition que ceci passe par la fermeture des stomates. Nous l'avons d'ailleurs observé dans des conditions de forte demande évaporative, en même temps que les potentiels hydriques foliaires atteignaient des valeurs très négatives (EHLERT 2008).

- **J'ai montré que la répartition de l'absorption d'eau en conditions de déficit hydrique localisé suivait des lois simples (SIMONNEAU et HABIB 1994).** J'ai obtenu ces résultats en appliquant

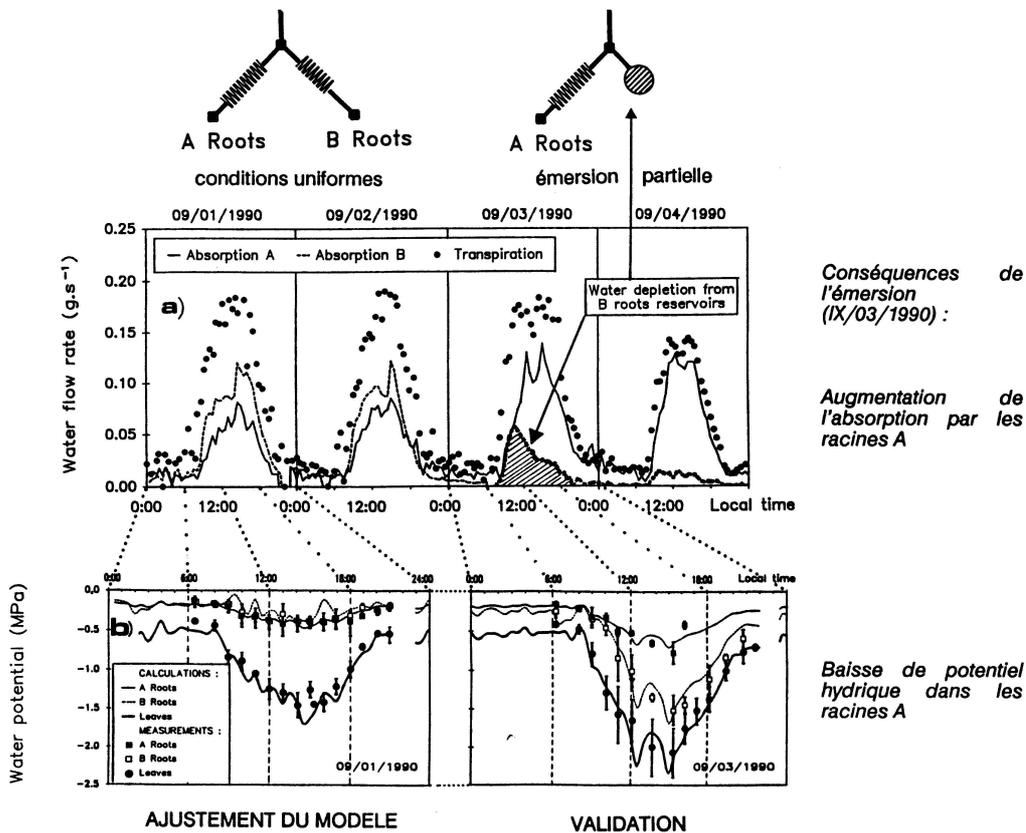


Figure 3. Régulation de l'absorption d'eau au sein du système racinaire biparti d'un pêcher soumis à une émergence partielle des racines.

a) L'augmentation de l'absorption du côté racinaire qui reste approvisionné après l'émergence partielle compense partiellement la chute d'absorption du côté privé d'eau. On observe toutefois une forte contribution transitoire des réserves en eau de la part des racines privées d'eau (hachures).

b) L'augmentation de l'absorption du côté racinaire qui reste approvisionné s'explique par la baisse du potentiel hydrique racinaire. Un modèle à conductances hydrauliques constantes, calé sur les conditions initiales de bonne alimentation hydrique (« AJUSTEMENT DU MODELE »), décrit les données observées après l'émergence partielle des racines (« VALIDATION »).

(d'après Simonneau et Habib, 1994)

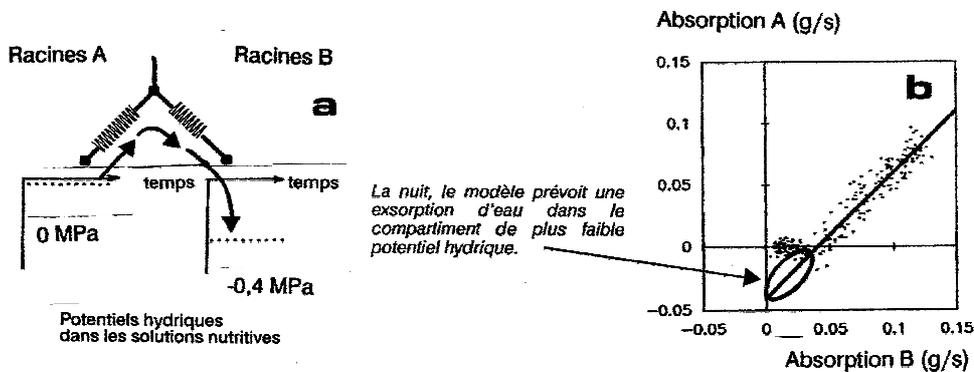


Figure 4. Mise en évidence d'une absence d'exsorption d'eau au sein du système racinaire biparti d'un pêcher soumis à une baisse de potentiel hydrique (addition de PEG) d'un seul côté des racines. Le sens des gradients de potentiels hydriques prévoit des phases d'exsorption d'eau (a), *i.e.* d'absorption négative, qui n'ont jamais été observées (b).

(d'après Simonneau 1992)

des restrictions hydriques sévères (par émerision des racines) ou modérées (avec du polyéthylène glycol) à une fraction racinaire chez des pêcheurs âgés de 3 à 5 ans avec leur système racinaire biparti.

- **La conductance hydraulique racinaire (L_p) ne varie pas avec l'intensité d'absorption** : l'augmentation de l'absorption s'accompagnait avant tout d'une diminution du potentiel hydrique racinaire. C'est ce que l'on a constaté lorsque la moitié du système racinaire était privée d'eau (Fig. 3b) : les résultats ont pu être modélisés sans mettre en cause de modification de la conductance hydraulique racinaire. En première approximation (régime statique), la partition racinaire est donc analogue à un système de conductances électriques constantes, connectées en parallèle.

- **En régime fluctuant, les réserves hydriques racinaires, facilement mobilisables, contribuent significativement à la transpiration.** Je l'ai démontré en imposant une émerision racinaire partielle. Pour éviter la déshydratation des racines par évaporation, j'ai substitué l'eau par l'huile, ce qui m'a également permis de suivre l'évolution de leur contenu en eau (par enregistrement de la poussée d'Archimède exercée par les racines sur l'huile, Fig. 3a). J'ai montré ainsi que la compensation d'absorption observée chez les racines qui restaient pourvues en eau ne suffisait pas à satisfaire la demande transpiratoire : dans un premier temps, les réserves hydriques racinaires de la partie privée d'eau participent à la transpiration ; dans un second temps, un nouvel équilibre s'établit entre une transpiration réduite par fermeture stomatique et l'absorption permise par les racines qui restent alimentées. La modélisation (voir 2.6) m'a aussi permis de confirmer ce résultat dans des conditions moins contrastées.

- **Les racines limitent l'exsorption d'eau en milieu 'sec'.** Je l'ai montré grâce au système de pesée qui permettait de suivre les flux d'eau à la sortie des racines vers les parties aériennes. J'ai confirmé ce résultat par des expériences de marquage d'un des 2 bacs de solution nutritive alimentant les jeunes pêcheurs. Les quantités d'eau marquée (^2H ou ^{18}O) retrouvées dans l'autre bac étaient toujours indétectables. Ce résultat s'opposait en partie au modèle analogique électrique. En particulier, la nuit (ou lorsque le débit de transpiration devenait faible), le modèle prévoyait que l'eau absorbée par les racines dans les zones les plus humides était redistribuée dans le système racinaire, pour être exsorbée par les racines situées dans les zones les plus sèches (Fig. 4a).

Plusieurs auteurs (par ex. HAWKINS *et al.* 2009) ont montré avec de l'eau marquée que ce phénomène d'« ascenseur hydraulique » avait lieu la nuit, sans pouvoir le quantifier. Le bénéfice en terme de mobilisation des réserves profondes restait donc discutable. Mes résultats, sans contredire l'existence de tels transferts, ont montré que ces derniers étaient quantitativement négligeables (Fig. 4b). Il faut noter cependant que les mycorhizes qui facilitent les transferts d'eau entre plantes pourraient, dans le cas d'espèces à profondeurs d'enracinement contrastées, amplifier le rôle de l'ascenseur hydraulique en connectant plus directement les plantes à enracinement superficiel aux plantes à enracinement profond (EGERTON-WARBURTON *et al.* 2007).

2.4. Nouvelle donne : les aquaporines occupent une place importante dans le contrôle de l'état hydrique des racines et du reste de la plante.

A l'issue des travaux précédents, l'ordre de grandeur des résistances hydrauliques racinaires apparaissait suffisamment important pour expliquer que des modifications de L_p puissent avoir un impact fort sur les cascades de potentiels hydriques dans toute la plante. La découverte et la caractérisation fonctionnelle des aquaporines, famille de protéines canal localisées dans les membranes, a révélé qu'elles réduisaient considérablement la résistance au transfert d'eau transmembranaire (CHRISPEELS et MAUREL 1994). Plusieurs questions se posaient alors : Quelle part du transport d'eau à travers les racines était contrôlé par les aquaporines ? Quel impact pouvaient avoir les variations d'activité des aquaporines ? Dans quelles conditions pouvait-on les observer ? J'ai tiré parti de l'expérience acquise par l'équipe de C Maurel (BPMP Montpellier) sur *Arabidopsis* pour répondre à certaines de ces questions chez le maïs. L'enjeu était de pouvoir relancer les nombreuses études limitées à la conformation des systèmes racinaires (ou portes-greffes) en vue d'améliorer la tolérance des plantes à la sécheresse.

• **La majeure partie de l'eau emprunte des voies racinaires contrôlées par des aquaporines.** Pour parvenir à ce résultat déterminant dans le cadre de la thèse de C Ehlert chez le maïs, nous avons tiré parti de l'expérience acquise par l'équipe de C Maurel (BPMP, Montpellier) sur *Arabidopsis*. Nous avons préféré les traitements pharmacologiques inhibiteurs de l'activité des aquaporines plutôt que les plantes transgéniques qui posent toujours problème dans le cas d'une famille multigénique (voir la revue de HACHEZ *et al.* 2006). L'utilisation de plusieurs inhibiteurs et le retour aux conditions initiales nous ont permis de contrôler les effets indésirables des traitements pharmacologiques. Enfin, pour se rapprocher des conditions *in planta*, nous avons adapté une méthode de mesure de L_p par suction appliquée à la section supérieure du système racinaire excisé, plutôt que par pressurisation du milieu racinaire pour forcer l'exsudation. Il en est ressorti que les traitements pharmacologiques réduisaient fortement la L_p des racines excisées, de 32 % à 59 % suivant les inhibiteurs utilisés (Fig. 5). En reprenant la technique du split root sur plante entière,

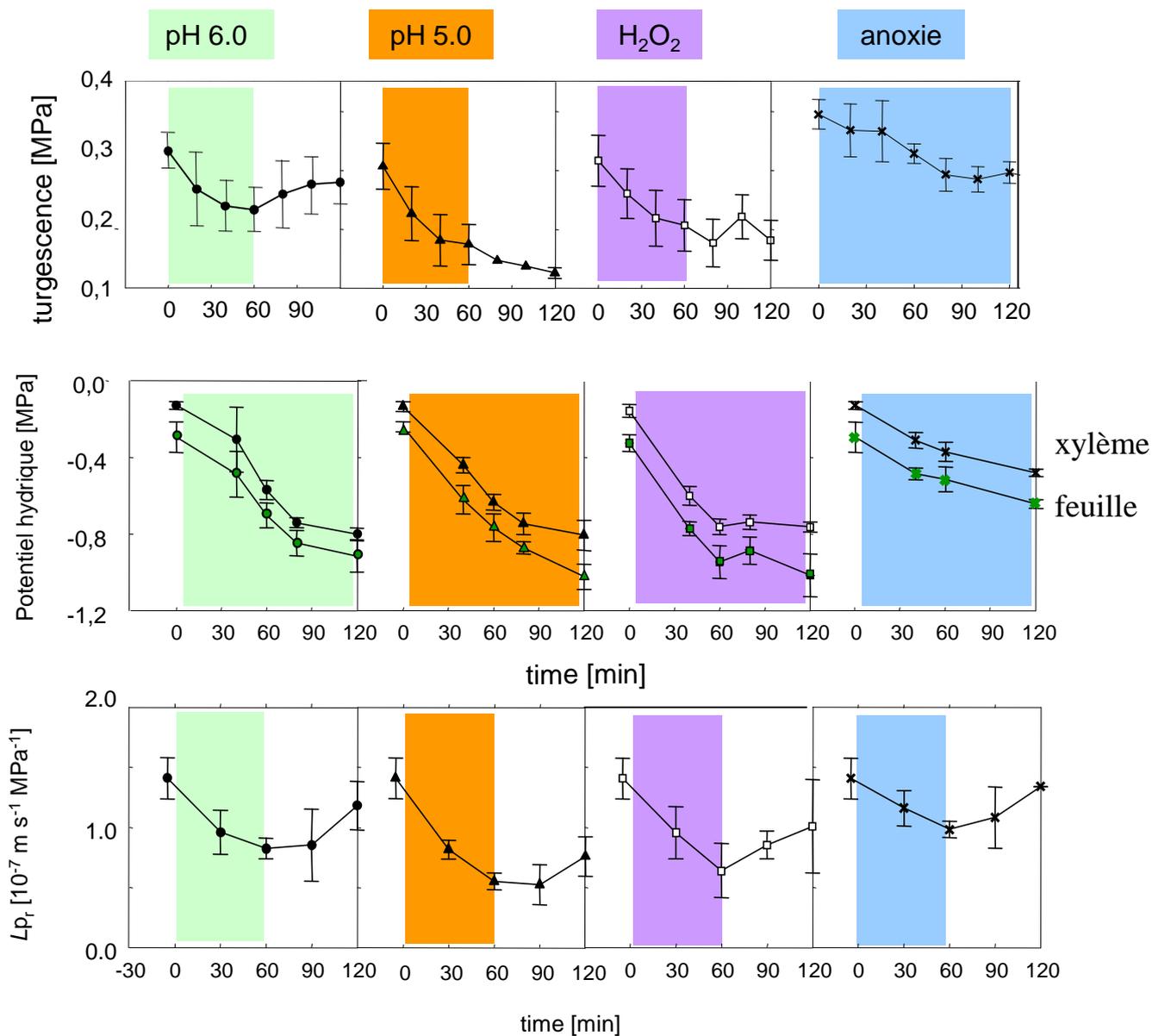


Figure 5. Effet de traitements inhibiteurs de l'activité des aquaporines (charge acide à pH 5 ou pH 6, H₂O₂) et de l'anoxie sur la conductance hydraulique racinaire (L_p), les potentiels hydriques dans le xylème (mesuré sur feuilles ensachées), dans les feuilles en transpiration et sur la turgescence des cellules dans les zones en croissance des feuille de maïs.

Les résultats montrent que :

- les aquaporines au niveau racinaire contrôlent en grande partie l'entrée d'eau dans la plante;
- la baisse de conductivité hydraulique au niveau racinaire se répercute fortement sur l'ensemble des potentiels hydriques dans la plante jusque dans les zones en croissance, où la turgescence est affectée.

(d'après Ehlert *et al.*, 2009)

nous avons montré que les traitements inhibiteurs d'activité des aquaporines avaient un effet beaucoup plus marqué sur racines en place (jusqu'à 80 % d'inhibition) comparé aux systèmes excisés (en moyenne 40 %) (EHLERT *et al.* 2009).

Les aquaporines contrôlent donc une grande partie des flux d'eau à travers la racine, y compris chez le maïs soumis à la transpiration. Ce résultat était relativement inattendu car Steudle avait suggéré, sur les bases d'un modèle composite de transfert d'eau à travers la racine (STEUDLE et FRENSCH 1996) que l'essentiel de l'eau devait emprunter une voie apoplastique (dans le réseau de parois) chez le maïs lorsque le moteur des flux d'eau était, comme dans nos conditions, de nature hydrostatique (piloté par la transpiration) en franchissant un nombre négligeable de membranes cellulaires. Il demeure difficile de préciser le nombre de membranes traversées dans nos conditions. Cependant, nous avons observé une inhibition comparable à l'échelle de la racine excisée et à l'échelle d'une seule membrane au moyen de la sonde à pression intracellulaire. Ceci suggère un nombre réduit de passages trans-membranaires à travers la racine.

- **Le contrôle par les aquaporines racinaires s'exerce avant tout sur les cascades de potentiel hydrique et peu sur les flux d'eau, excepté dans 2 circonstances. 1/ Lorsque l'inhibition des aquaporines est localisée :** nous avons montré avec la technique du split root, que la répartition de l'absorption d'eau suivait alors les modifications de ζ_p (Ehlert 2008). Comme dans le cas des disponibilités hydriques hétérogènes (voir 2.3), le flux total d'absorption restait globalement maintenu pour compenser les pertes transpiratoires. **2/ Lorsque la chute de potentiel hydrique dans la plante induit une fermeture stomatique :** nous l'avons observé en augmentant la demande évaporative. Le potentiel hydrique foliaire a alors atteint des valeurs très négatives comparables aux valeurs obtenues chez le maïs au champ en déficit hydrique (SIMONNEAU et TARDIEU 1998) lorsque la fermeture stomatique devient marquée.

- **L'hypoxie racinaire induit des réductions de ζ_p chez le maïs (Fig. 5) comme chez Arabidopsis** (TOURNAIRE-ROUX *et al.* 2003) suggérant des mécanismes génériques d'inactivation des aquaporines (acidification cytosolique et protonation d'un résidu His commun aux aquaporines du plasmalemme).

Il n'était pas nouveau que les racines et leurs capacités à approvisionner la plante en eau jouent un rôle déterminant sur l'état hydrique de l'ensemble de la plante et sa capacité à tolérer un déficit hydrique. Cependant, avant ce travail sur la contribution majeure des aquaporines, la plupart des études plaçaient a priori les déterminismes sous-jacents dans des caractères morphologiques ou histologiques. Avec un rôle aussi important des aquaporines, **on peut maintenant supposer que la variabilité puisse aussi s'exprimer non seulement à travers la famille des gènes correspondant, mais également sur tout l'arsenal des régulateurs de leur activité**, ce qui complexifie fortement la recherche de caractères héréditaires à ce niveau. C'est par exemple ce que nous avons constaté dans notre étude sur le rôle de l'acide abscissique (ABA) chez une gamme de transformants de maïs affectés dans leur capacité de synthèse d'ABA (PARENT *et al.* 2009). Les transformations ont eu un impact fort sur ζ_p constituant un source de variabilité indirecte.

2.5. Devenir de l'eau dans la plante, en provenance de plusieurs parties du système racinaire

Les modèles de transfert d'eau dans la plante font l'hypothèse que la totalité de l'eau absorbée par les racines passe par un collecteur commun avant d'être transpirée, sans qu'il n'en n'existe de démonstration claire. J'ai donc souhaité revenir sur cette hypothèse pour savoir si la répartition de l'absorption d'eau pouvait dépendre d'une hétérogénéité de la demande dans le feuillage. L'étude a été menée dans le prolongement de mon travail de thèse sur des pêchers avec leur système racinaire biparti en conteneurs de sable ou de solution nutritive (Fig 2). Dans une première série d'expériences, l'eau n'a été fournie qu'à une fraction des racines. Cela n'a pas eu d'effet particulier sur l'état hydrique de l'une ou de l'autre des branches principales (évalué par les variations de leur diamètre, Fig. 6b). De manière symétrique, j'ai modifié la répartition de la demande transpiratoire en ombrant l'une des branches principales de l'arbre. Cela n'a eu qu'un effet négligeable sur la répartition de l'absorption. Cette première série d'expériences m'a conduit à rejeter un schéma du type « connexions exclusives » entre racines et feuilles. Dans une seconde série d'expériences j'ai fourni de l'eau enrichie en isotopes lourds (^2H ou ^{18}O) à l'une seulement des fractions racinaires ; certaines branches sont apparues très significativement plus marquées que d'autres (Fig. 6a), me conduisant à exclure un schéma de type « collecteur commun » qui inclurait un mélange des flux d'origine racinaire au niveau du collet (Coll T Bariac, alors à Paris VI).

- **Seul un schéma de type "connexions privilégiées" (Fig. 6c) entre racines et feuilles, combinant 2 types de voies en fonction des conditions aux bornes de la plante, permet**

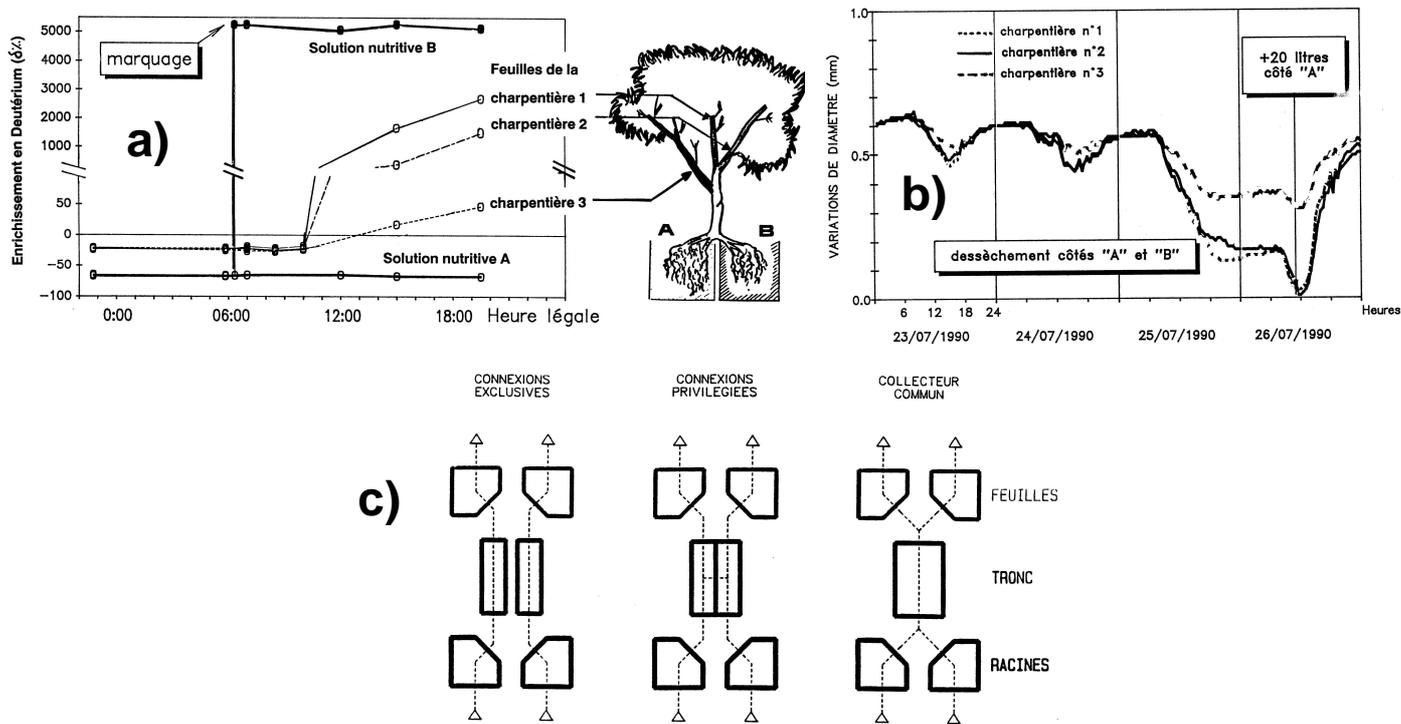


Figure 6. Mise en évidence d'un schéma de connexions privilégiées entre racines et feuilles chez les jeunes pêcheurs avec leur système racinaire biparti.

a) Dans des conditions de disponibilité hydrique et de demande évaporative uniformes, de l'eau marquée sur un seul côté racinaire ne se retrouve que dans 2 des 3 branches principales (charpentières).

b) Dans des conditions de fourniture en eau non uniforme (un seul côté racinaire), toutes les branches principales se réhydratent au vu de la récupération de leur diamètre mesuré par des capteurs micrométriques.

c) La première expérience n'est compatible qu'avec les schémas de connexions exclusives ou privilégiées, alors que la seconde ne l'est qu'avec les schémas de connexions communes ou privilégiées. Seul le schéma central de connexions privilégiées s'accorde à l'ensemble des expériences avec une prédominance des voies longitudinales en conditions uniformes, combinées aux voies transversales en conditions non uniformes.

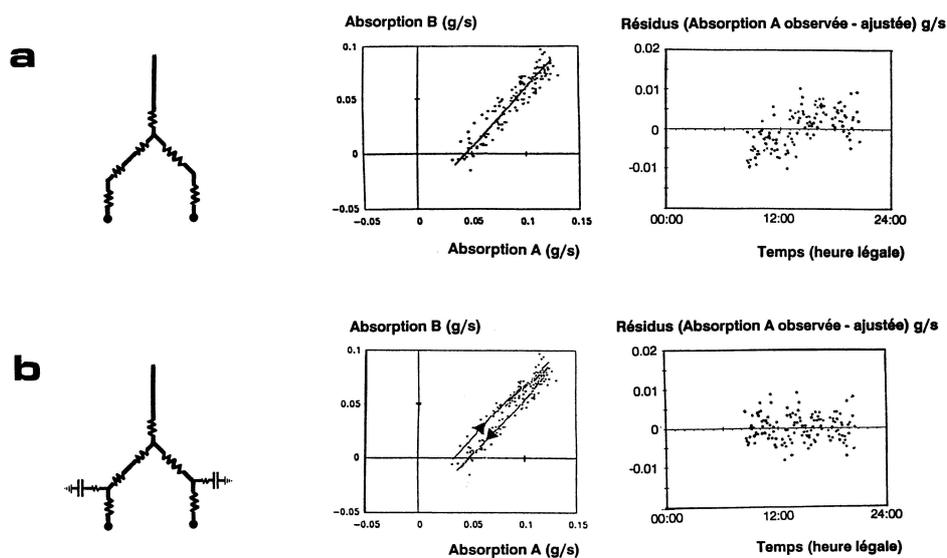


Figure 7. Utilisation d'un modèle dynamique à compartiments pour révéler le rôle des réserves en eau dans le système racinaire biparti de jeunes pêcheurs en solution nutritive. Deux types de modèles, (a) sans ou (b) avec réserves hydriques dans les racines ont été testés pour rendre compte de la répartition de l'absorption d'eau entre 2 côtés racinaires soumis à un contraste de disponibilités hydriques. Seul le modèle à réserves (b) s'ajuste aux observations sans biais dans les résidus.

(d'après Simonneau, 1992)

d'expliquer l'ensemble des résultats obtenus. Lorsque les conditions aux bornes de la plante sont uniformes, les connexions privilégiées « longitudinales » entre certaines racines et certaines feuilles sont empruntées par l'eau. Lorsque la plante subit une hétérogénéité d'offre ou de demande, les échanges d'eau ont lieu, en plus des voies longitudinales, par des connexions hydrauliques « transversales » reliant les voies de conduction longitudinales et empêchent la propagation de la non uniformité.

En résumé, j'ai répondu directement à la question posée: du point de vue des quantités d'eau qui transitent à travers les différentes parties de la plante et de l'évolution de l'état hydrique, un schéma de type « collecteur commun » décrit correctement l'ensemble des observations. Mais si l'on cherche à décrire la convection des solutés, il importe cette fois de connaître les trajets empruntés par l'eau, c'est le schéma « connexions privilégiées » qui doit être retenu. Ceci peut avoir des conséquences fortes sur les pratiques de fertilisation ou de traitement systémique. Pour arriver à ce résultat, j'ai utilisé de façon originale mon travail préliminaire sur les microvariations de diamètre comme indicateur d'état hydrique. Les seules expériences de marquage m'auraient suggéré une réponse erronée. C'est la conception raisonnée de ces différents types d'expérimentations qui m'a permis de proposer le schéma « connexions privilégiées ». Ces travaux ont été suspendus lors de mon départ d'Avignon. Pour clore ce travail il s'agirait de valider le schéma « connexions privilégiées » en précisant la valeur relative des résistances hydrauliques axiales et radiales.

2.6. Elaboration d'un modèle dynamique à compartiment pour la simulation des transferts d'eau, des potentiels hydriques et des teneurs en eau

L'ensemble des résultats obtenus ci-dessus a constitué pour moi l'occasion de développer une approche de modélisation dynamique en point d'orgue de cette partie. J'ai réalisé une implémentation en langage Fortran (initialement, grâce à la présence d'experts dans les laboratoires voisins du centre INRA d'Avignon). Ce travail assez complet m'a servi de référence en modélisation pour appréhender les difficultés que j'ai eues à résoudre ultérieurement. Le modèle que j'ai développé pour modéliser la répartition de l'absorption simule l'évolution des flux et des potentiels hydriques sur l'ensemble du système divisé en compartiments. Sur certains d'entre eux (les réservoirs), le contenu en eau peut être envisagé dépendant du potentiel : une méthode numérique (Runge-Kutta) résout les équations différentielles qui en résultent. Le modèle admet des conditions aux limites portant indifféremment sur les débits ou les potentiels. Il autorise enfin l'ajustement des paramètres du système (algorithme HAUS59 basé sur une méthode à gradients développé à l'INRA). **Le modèle s'est révélé pertinent pour décrire l'ensemble des expérimentations sur la répartition de l'absorption réalisées au cours de ma thèse.**

- **Le modèle a permis de dégager des mécanismes difficiles à discerner sans cet outil.** Ainsi, j'ai recherché une interprétation de l'hystérésis de plus en plus accentuée notée sur la répartition de l'absorption à mesure que j'appliquais des conditions de disponibilité hydrique de plus en plus contrastées. J'ai retrouvé cet effet lors de simulations incluant les réserves en eau des 2 compartiments racinaires (Fig. 7) : leurs contributions étaient d'autant plus déphasées que les disponibilités hydriques étaient contrastées.

La perspective essentielle de ce travail consistait à coupler les résultats obtenus avec un modèle de redistribution d'eau dans le sol en présence de racines d'une part, et de contrôle des flux de transpiration par les stomates d'autre part. Comme je l'ai signalé plus haut, une difficulté essentielle réside toujours dans la prise en compte de la dynamique de mise en place des racines (PIERRET *et al.* 2007). Cependant mes travaux ont clarifié certaines hypothèses qui ont été intégrées dans les modèles d'absorption d'eau développés depuis :

- 1/ l'exsorption d'eau des racines vers le sol sec est négligeable;
- 2/ le formalisme Ohmique a été validé pour l'étape d'absorption (avec une conductance hydraulique racinaire indépendante du flux d'eau);
- 3/ enfin, **le potentiel hydrique à l'intérieur du système racinaire ne pouvait pas être considéré uniforme** : il s'agissait là de l'écart majeur avec les hypothèses préexistantes ; les modèles développés par la suite prennent explicitement en compte ce résultat qui requiert la description des résistances à l'intérieur du système racinaire (DOUSSAN *et al.* 2006).

Ce volet de mon travail sur la régulation de l'absorption d'eau a souligné **3 mécanismes qui tendent à limiter l'effet à court terme d'une faible disponibilité en eau** sur l'état hydrique de la plante. J'ai insisté sur la compensation de l'absorption par les racines les mieux pourvues en eau, et sur l'absence d'exsorption dans les zones les plus sèches du sol. Mais il est apparu également que les réserves en eau des racines (bien plus que celles des parties aériennes) pouvaient être largement sollicitées pour compenser les pertes par transpiration. Lorsque la contrainte hydrique se prolonge, la perte d'eau par les racines ne serait pas réversible, ce qui pourrait en limiter le rôle.

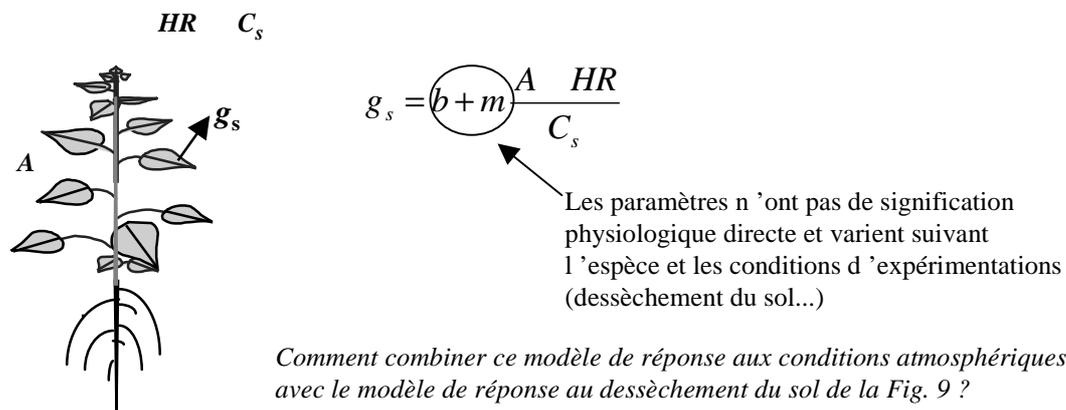


Figure 8. Modèle de contrôle de la conductance stomatique (g_s) par la photosynthèse et les conditions atmosphériques (Ball et al. 1987). Le modèle est construit pour un sol pourvu en eau. Le modèle prévoit g_s directement à partir des conditions environnementales (humidité relative HR et concentration en CO_2 à la surface de la feuille C_s) de la photosynthèse nette (A) et de 2 paramètres empiriques spécifiques de la plante étudiée b et m .

	$J_{eau} = \frac{s(\Phi_n - G) + \rho_a c_p VPD g_a}{\lambda [s + \gamma(1 + g_a / g_s)]} \quad (\text{Eq. 1})$	Demande
	$g_s = g_{smin} + \alpha \exp \{ \beta [ABA]_{xyl} \exp(\delta \Psi_l) \} \quad (\text{Eq. 2})$	Contrôles
	$J_{eau} = -(\Psi_l - \Psi_r) / R_{plante} \quad (\text{Eq. 3})$	
	$[ABA]_{xyl} = \frac{a \Psi_r}{J_{eau} + b} \quad (\text{Eq. 4})$	
	$J_{eau} = -(\Psi_r - \Psi_{sol}) [4\pi k(\theta_{sol}) / \ln(d^2 / r^2)] \quad (\text{Eq. 5})$	Offre

Les paramètres caractéristiques du génotype ont un sens physiologique; ici, 'a' caractérise la capacité de synthèse d'ABA par les racines.

Peut-on rendre compte de l'effet d'une modification génétique de la capacité de synthèse d'ABA, par la seule modification de la valeur de ce paramètre ?

Figure 9. Modélisation intégrée du contrôle de la conductance stomatique (g_s) par l'ABA (d'après Tardieu 1993). L'éq. 2 s'applique lorsque le flux de photons incident excède $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Le modèle prévoit g_s , la concentration en ABA dans la sève xylémique ($[ABA]_{xyl}$), la densité de flux de transpiration (J_{eau}) et les potentiels hydriques foliaire (Ψ_l) et racinaire (Ψ_r), à partir des variables environnementales (Rayonnement net, Φ_n ; déficit de saturation en vapeur d'eau dans l'air, VPD ; potentiel hydrique du sol, Ψ_{sol}), de la conductivité hydraulique du sol ($k(\theta_{sol})$) et de paramètres spécifiques de la plante étudiée: R_{plante} : résistance hydraulique de la plante; d, r : demi-distance moyenne entre 2 racines les plus proches, et rayon moyen des racines; α, β, δ : amplitude des variations de g_s , sensibilité de g_s à $[ABA]_{xyl}$ et coefficient d'interaction avec Ψ_l ; a, b : coefficients caractérisant le flux d'ABA délivré par les racines dans le xylème.

(d'après Tardieu et Simonneau, 1998)

3. REPONSE DES STOMATES AU DEFICIT HYDRIQUE ; UNE MODELISATION DE LA VARIABILITE GENETIQUE A L'ECHELLE DE LA PLANTE ENTIERE.

Collaborations : F Tardieu (LEPSE) ; A Marion-Poll, A Frey, C Audran (LBS, Versailles) ; Contacts réguliers avec l'équipe de WJ Davies (Univ Lancaster, UK) sur le rôle de l'acide abscissique, et avec plusieurs équipes qui analysent à la signalétique intracellulaire dans les cellules stomatiques (A Vavasour, N Leonhardt & B Genty, CEA Cadarache ; H Sentenac, BPMP Montpellier ; J Leung, Gif) ; O Brendel (INRA, Nancy)

Encadrement de thèse : C. Borel

Co-encadrement de thèse : E. Hosy, A. Lebaudy

3.1. Contexte scientifique et questions posées

Dans une perspective d'innovation variétale, 3 types de besoins motivent les travaux sur le contrôle stomatique. En premier lieu, il s'agit d'évaluer dans quelle mesure le niveau d'ouverture des stomates contrôle la croissance par ses conséquences sur l'acquisition du CO₂ atmosphérique. En second lieu, il s'agit d'être en mesure de prédire le rythme d'épuisement des réserves en eau du sol lié à la transpiration. Enfin, il s'agit de comprendre l'impact de la demande évaporative sur l'état hydrique de la plante pour raisonner les mécanismes physiologiques qui en dépendent (comme l'expansion cellulaire). Aucune de ces 3 questions n'est entièrement résolue à ce jour pour permettre des prédictions fiables des effets d'une modification génétique ou environnementale. Il était tentant d'interpréter les limitations de croissance sous déficit hydrique comme une conséquence directe de la fermeture stomatique sur les flux de C disponibles pour l'accroissement de biomasse. Pourtant, le déficit hydrique a des effets inhibiteurs très rapides sur la croissance, bien avant que les pools de réserves carbonées ne soient affectés par la chute éventuelle de la photosynthèse. Ce constat m'a conduit à délaisser l'analyse des impacts du déficit hydrique et des réponses stomatiques sur l'assimilation du carbone, et à focaliser mes travaux sur le rôle des stomates dans le contrôle des pertes en eau par la plante en conditions climatiques fluctuantes.

Lorsque j'ai repris cette thématique au LEPSE (à partir de 1995), les modèles utilisés pour prédire l'impact des changements climatiques globaux sur le fonctionnement stomatique et la transpiration rendaient compte essentiellement de l'effet du rayonnement solaire, du déficit de saturation (VPD) et de la concentration du CO₂ dans l'air (ex : BALL *et al.* 1987, Fig. 8). Les seuls modèles capables de prédire l'ensemble des effets climatiques en incluant le déficit hydrique dans le sol, étaient de nature purement statistique, souvent multiplicatif comme le modèle de Jarvis (1976). F Tardieu avait posé les bases d'un modèle qui permettait de rendre compte de l'effet du déficit hydrique du sol sur la conductance stomatique et la transpiration à l'échelle de la plante entière (TARDIEU et DAVIES 1993, Fig 9). Le modèle reposait sur la synthèse d'acide abscissique (ABA) par les racines en réponse au dessèchement du sol, et sur la sensibilité bien connue des stomates à cette hormone transportée jusqu'aux feuilles (WILKINSON et DAVIES 1992 ; WASILEWSKA *et al.* 2008). Le modèle prévoyait l'évolution de la conductance stomatique, de la concentration de l'ABA dans le xylème ([ABA]_{xyl}) et des états hydriques des feuilles et des racines. Les variables d'entrée étaient le rayonnement, le déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air et l'état hydrique du sol. Mais d'une part certaines hypothèses ou formalismes du modèle restaient à évaluer. D'autre part aucun couplage n'existait entre ces modèles et le modèle développé au LEPSE basé sur le rôle de l'ABA. L'accueil d'un scientifique étranger (V. Gutschick, université New Mexico) m'a donné l'occasion d'aborder cette question dans le but initial de **disposer d'un outil de caractérisation de la transpiration d'un génotype en réponse aux fluctuations de l'ensemble des conditions climatiques (édaphiques et atmosphériques).**

3.2. Evaluation et amélioration d'un modèle fondé sur le rôle de l'ABA

J'ai d'abord testé les formalismes retenus dans le modèle. La principale difficulté tenait dans la confusion entre les effets respectifs de variables qui évoluent simultanément en conditions naturelles. Les protocoles expérimentaux mis en place ont visé à dé-corréler ces variables grâce à (i) l'analyse dans des conditions variées au champ, en serre ou en chambre de culture où l'état hydrique du sol et le déficit de saturation de l'air ont été manipulés séparément ; (ii) l'apport d'ABA exogène à des plantes entières en serre ou au champ, ou à des feuilles détachées ; (iii) la mesure directe de capacités de synthèse d'ABA de racines détachées soumises à une gamme de déshydratations.

- **L'ABA s'accumule proportionnellement à la baisse de Ψ_r dans des racines détachées de maïs, comme supposé dans le modèle** (SIMONNEAU *et al.* 1998). J'ai montré que toutes les racines (et pas seulement les apex) étaient capables de synthétiser des quantités importantes d'ABA (Fig. 10a). Alors que la vitesse de synthèse était le plus souvent exprimée dans la littérature en fonction de la teneur en eau relative des racines, j'ai pu l'exprimer de manière plus stable en fonction du potentiel hydrique, ce qui rendait cette partie du modèle interfaçable avec les modèles de transfert d'eau.

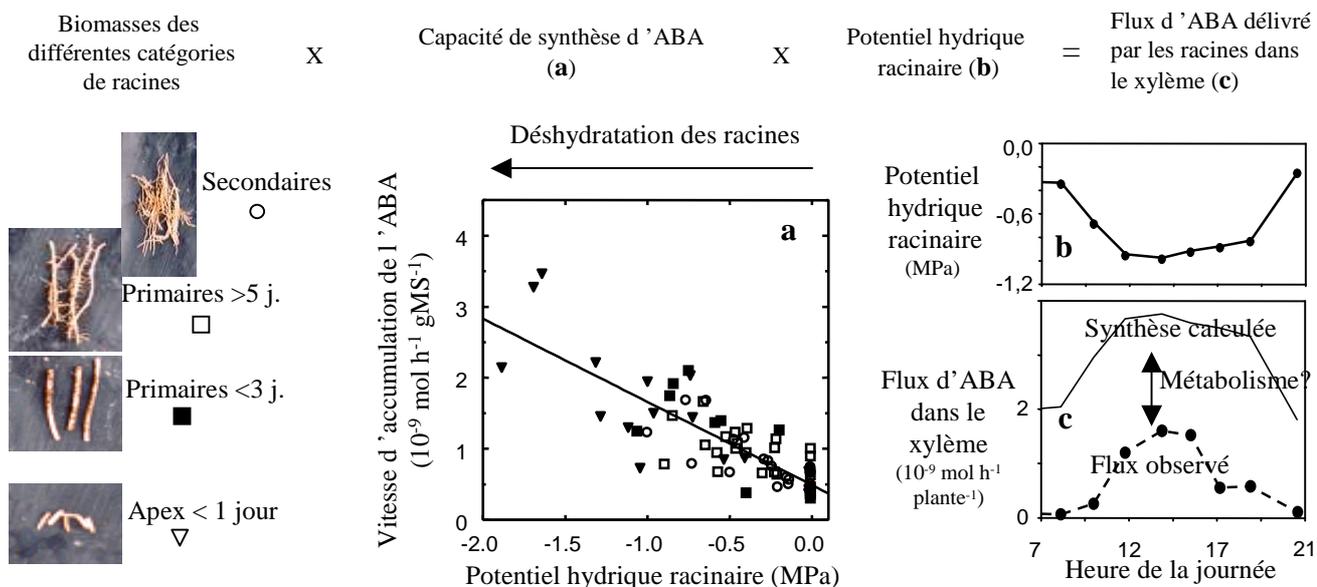


Figure 10. Analyse et modélisation du flux d'ABA délivré par les racines dans le xylème (maïs).
 (a) L'ABA s'accumule proportionnellement à la baisse de potentiel hydrique dans les racines détachées de maïs selon une relation commune à toutes les catégories de racines (Simonneau *et al.* 1998)
 (b) En pots, peu après un arrêt d'irrigation, le potentiel hydrique des racines fluctue fortement en fonction des variations journalières de la demande évaporative.
 (c) En multipliant le potentiel hydrique des racines par leur capacité de synthèse d'ABA, on calcule un flux d'ABA délivré par la totalité des racines qui rend compte de la forte augmentation du flux d'ABA xylémien observée au cours de la journée.

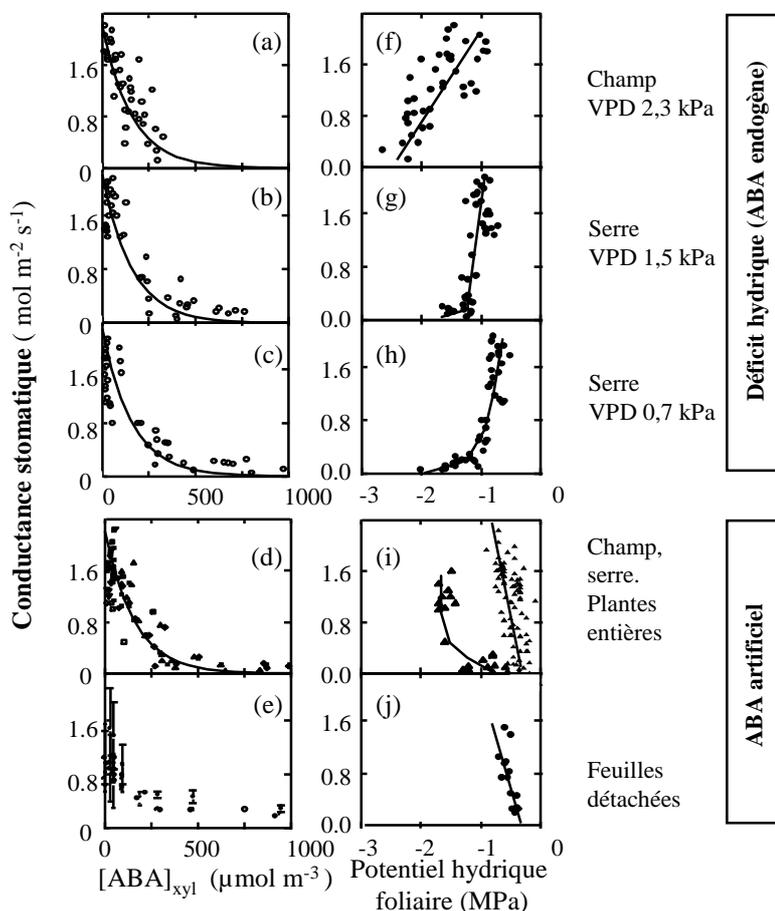


Figure 11. La relation entre la conductance stomatique (g_s) et la concentration de l'ABA dans le xylème est stable (a-e), alors que la relation entre g_s et état hydrique foliaire ne l'est pas (f-j).
 Relations expérimentales obtenues sur tournesol soumis à différentes demandes transpiratoires (caractérisées par le déficit de pression de vapeur d'eau dans l'air, VPD), et ayant subi soit un dessèchement (ABA endogène; a, b, c, f, g, h), soit un apport d'ABA artificiel (d, e, i, j).

(d'après Tardieu *et al.* 1996).

- **Une augmentation modérée des capacités de synthèse d'ABA dans toutes les racines rend compte de l'augmentation drastique de $[ABA]_{xyl}$ lorsque le sol se dessèche.** Le modèle de contrôle stomatique de la transpiration repose sur une origine racinaire de l'ABA qui reste controversée (POPOVA *et al.* 2000 ; CHRISTMANN *et al.* 2007). Notamment, il apparaît paradoxal que chez le maïs soumis à une sécheresse du sol, la concentration de l'ABA dans le xylème puisse être multipliée par 50, alors que la synthèse racinaire de l'ABA n'augmente que de 4 à 5 fois (SIMONNEAU *et al.* 1998). Afin d'éclaircir ce point, j'ai estimé les quantités d'ABA fournies par les racines de maïs à partir de leurs capacités de synthèse caractérisées *in vitro* (Fig. 10). J'ai confirmé que la totalité des racines était suffisante pour délivrer les quantités d'ABA correspondant à la forte augmentation de concentration notée dans la sève de plantes soumises à un déficit hydrique.
- **Des relations linéaires entre le potentiel hydrique des racines ou le potentiel de base et $[ABA]_{xyl}$ dans le xylème ont été observées chez toutes les espèces analysées, conformément aux prévisions du modèle.** Chez le maïs, le tournesol, l'orge, le pois, le peuplier, le blé et le merisier, nous avons trouvé des relations stables (dans un lieu donné) entre $[ABA]_{xyl}$ et le potentiel de base (Ψ_{base} , potentiel hydrique foliaire mesuré à l'aube en l'absence de transpiration et qui reflète le potentiel du sol tel qu'il est ressenti par la plante). Ce résultat montrait qu'une modélisation était possible (BOREL *et al.* 1997 ; SIMONNEAU et TARDIEU 1998). Cependant les relations obtenues, stables dans un lieu donné, étaient éminemment instables entre lieux. Nous avons supposé que la conductivité hydraulique du sol jouait un rôle majeur dans cette instabilité. Cette question mériterait d'être reprise en testant des formalismes de transfert d'eau entre le sol et la plante moins simplistes que l'équation 5 de la Fig. 9.
- **Les cinétiques journalières de $[ABA]_{xyl}$ sont correctement décrites par le modèle (TARDIEU et SIMONNEAU 1998).** J'ai développé des algorithmes de calcul permettant de résoudre le système d'équations non linéaires et de tester sa cohérence avec les différentes observations réalisées chez des plantes entières. De manière générale, le flux d'eau et le potentiel racinaire évoluent conjointement au cours de la journée avec des effets opposés sur $[ABA]_{xyl}$ (Fig. 9, équation 4). On s'attendait donc à une certaine stabilité au cours de la journée. Les données du champ s'accordent avec ces prévisions, alors qu'en serre on observe un pic de $[ABA]_{xyl}$ en cours de journée. J'ai montré que ces pics étaient associés aux dépressions du potentiel hydrique racinaire (Fig. 10b,c) d'autant plus marquées que la conductivité hydraulique du substrat dans les pots était faible (Simonneau et Bouchabke, np).
- **Chez toutes les espèces étudiées, la réponse de la conductance stomatique à $[ABA]_{xyl}$ suit un même modèle** qui décrit à la fois les variations dans le temps, les différences liées aux modifications d'état hydrique du sol ou aux variations de demande climatique. Par exemple, dans le cas du tournesol, la conductance stomatique était liée par une relation stable à $[ABA]_{xyl}$ quelles que soient les conditions (champ, serre, chambre de culture) et quelle que soit la demande climatique, à condition que le rayonnement fût supérieur à $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 11a,b,c). La relation entre conductance stomatique et potentiel hydrique foliaire, à la base de nombreux modèles issus de celui de JARVIS (1976), était au contraire très variable entre situations, en particulier en fonction de la demande climatique (Fig 11f,g,h). Ce comportement a pu être prévu par notre modèle basé sur le rôle de l'ABA, en considérant que le potentiel hydrique foliaire ne contrôlait pas la conductance stomatique et se comportait à l'inverse comme une conséquence des flux d'eau et des résistances de la plante. Des comportements similaires ont été observés sur orge (BOREL *et al.* 1997), *N. plumbaginifolia* (BOREL *et al.* 2002) et blé (n.p.).
- **Les réponses stomatiques à l'ABA endogène et exogène sont similaires, ce qui suggère que l'ABA constitue bien la composante majeure du message racinaire.** En effet, chez le tournesol (TARDIEU *et al.* 1996, Fig. 11), le maïs et le peuplier, la réponse de la conductance stomatique à de l'ABA exogène injecté était la même que la réponse à l'ABA endogène induit par le dessèchement du sol. Cependant, nous avons démontré que la sensibilité stomatique à l'ABA était légèrement modifiée par un second médiateur du stress hydrique, d'origine racinaire comme l'ABA, mais distinct de ce dernier (BOREL *et al.* 2002). Des approches de greffes multiples sur différents portes-greffes de plantes transformées sur leur capacité de synthèse d'ABA (altérés sur l'expression de la zéaxanthine époxydase, enzyme de synthèse de l'ABA) m'ont permis d'aboutir à cette conclusion.
- **Le déficit de saturation de l'air (VPD) n'a pas d'effet direct sur la conductance stomatique de plantes bien alimentées en eau dans des sols à forte conductivité hydraulique** (Simonneau, Borel np). L'augmentation du VPD est considérée comme un facteur majeur de fermeture stomatique, mais la nature de son rôle et sa prise en compte dans les modèles revêt des formes multiples (MONTEITH 1995). Nous n'avons observé d'effet du VPD qu'en cas de déficit hydrique même léger dans le sol, ou lorsque la conductivité hydraulique du sol était limitante (terreau ou substrats artificiels). Une augmentation de $[ABA]_{xyl}$ était alors notée et rendait compte de la régulation stomatique. Dans les autres cas, ni des variations de VPD ni des variations brusques de surface transpirante (couverture par papier aluminium) n'ont provoqué de variation significative de conductance stomatique. J'ai donc émis l'hypothèse que l'effet

Déficit hydrique

ABA artificiel

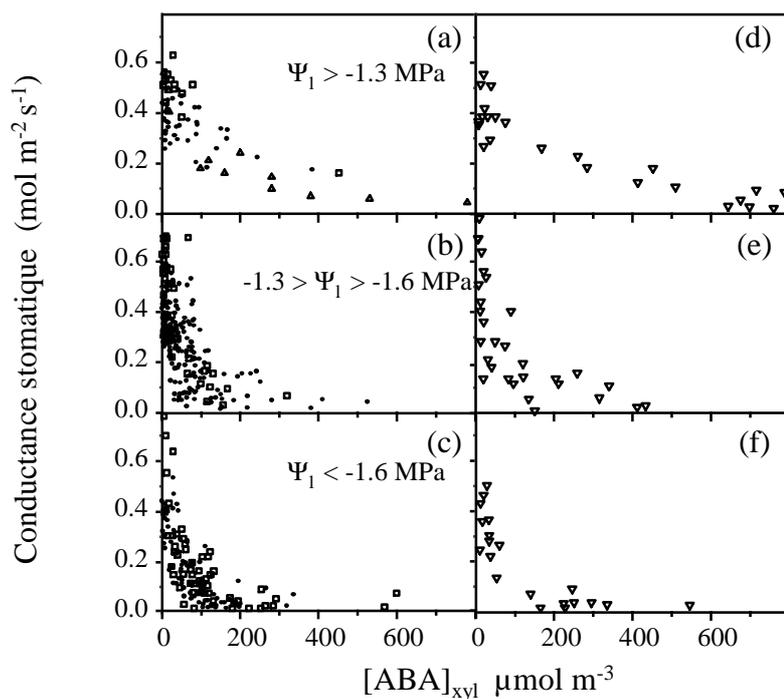


Figure 12. La réponse de la conductance stomatique à la concentration de l'ABA dans le xylème ($[ABA]_{xyl}$) dépend du potentiel hydrique foliaire (Ψ_1) chez le maïs (plante isohydrrique). Les données ont été obtenues sur des plantes soumises à un dessèchement du sol (a, b, c), ou alimentées par de l'ABA artificiel (d : plantes bien irriguées, e : déficit hydrique modéré, f : déficit hydrique sévère). (D'après Tardieu et Simonneau 1998).

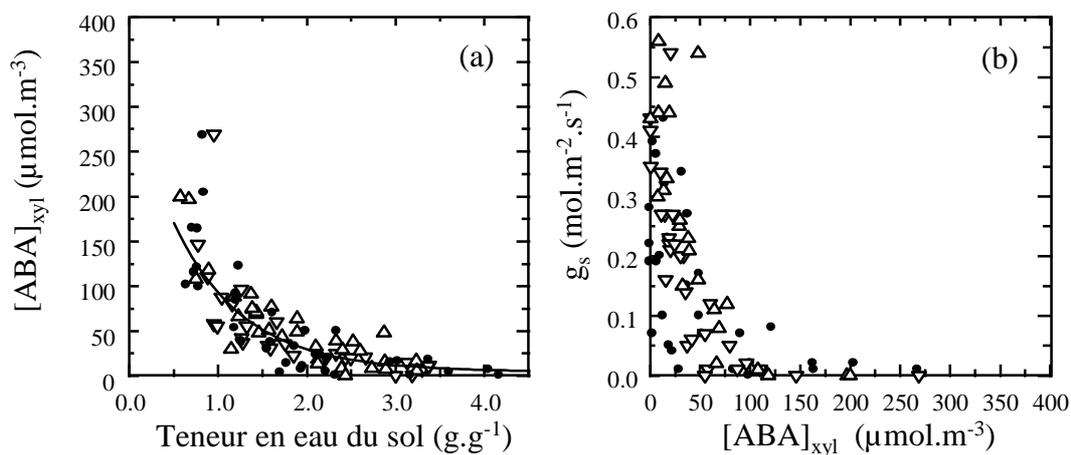


Figure 13. Réponse de la conductance stomatique (g_s) (a) à la teneur en eau du sol ou (b) à la concentration de l'ABA dans le xylème ($[ABA]_{xyl}$) chez trois génotypes d'orge (un symbole par génotype) lors d'un dessèchement en pots. Aucune différence n'est apparue entre génotypes caractérisés par ailleurs comme tolérant (●) ou sensibles (∇, Δ) à la sécheresse. (d'après Borel *et al.* 1997).

du VPD sur la conductance stomatique était fortement lié à la conductivité hydraulique du sol, et que son effet direct sur les stomates était faible. Cette interprétation est cohérente avec une médiation hydraulique (via l'état hydrique des cellules) de l'effet du VPD. L'ABA synthétisé par les racines augmentait toujours avec le VPD, et pouvait donc également apparaître comme un médiateur possible de l'effet du VPD. Cette question est restée en suspens.

L'ensemble des travaux sur ce volet a montré qu'une approche de modélisation de la synthèse d'ABA par les racines était possible, et que les lois de contrôle de la conductance stomatique proposées en 1993 étaient largement valides. Cependant, même si j'ai montré que les racines avaient une capacité de fourniture d'ABA suffisante pour entraîner la fermeture stomatique et que la réponse stomatique était similaire à l'ABA endogène ou exogène, cela ne démontrait pas que l'ABA actif sur les stomates provenait des racines et seulement des racines. L'ABA d'origine racinaire peut être dégradé, conjugué (LEE *et al.* 2006) ou piégé dans les compartiments alcalins (WILKINSON et DAVIES 1997) avant d'atteindre les cellules de garde. La libération d'ABA conjugué ou piégé suite aux variations de pH avec le déficit hydrique (WILKINSON et DAVIES 2008) ou encore la néosynthèse dans les tissus foliaires pourraient contribuer pour une large part à la fourniture d'ABA actif sur les stomates (CHRISTMANN *et al.* 2007). La stabilité de la relation entre $[ABA]_{xyt}$ et conductance stomatique peut donc apparaître étonnante alors que les phénomènes ci-dessus ne sont pas explicités dans le modèle. En réalité, dans le modèle, les capacités de synthèse et de dégradation rapide de l'ABA sont confondues au travers d'une capacité de synthèse nette évaluée globalement par l'analyse directe de $[ABA]_{xyt}$. Les différentes contributions à l'origine des variations de $[ABA]_{xyt}$ mériteraient d'être analysées indépendamment car elles peuvent receler des sources de variabilité génétique de $[ABA]_{xyt}$ et donc de variabilité de la réponse stomatique au dessèchement du sol. Des études dans ce sens sur la compartimentation et le métabolisme de l'ABA ont été poursuivies par nos collaborateurs à Würzburg (W Hartung) et Lancaster (WJ Davies). Enfin, l'instabilité entre sites de la relation entre potentiel hydrique de base et $[ABA]_{xyt}$ et l'instabilité de l'évolution journalière de $[ABA]_{xyt}$ suggèrent qu'une modélisation prenant mieux en compte le transfert d'eau sol - racine serait nécessaire. Cette perspective renvoie à la modélisation des interactions hydriques entre le sol et la racine (voir 2.6).

3.3. Essais de modélisation de la variabilité génétique.

Nous avons poursuivi cet objectif au travers de l'analyse et la modélisation des différences de comportements liées au fonctionnement stomatique (i) entre espèces "isohydriques" et "anisohydriques" (espèces qui maintiennent, resp. qui ne maintiennent pas, leur état hydrique foliaire lors de déficit hydrique, cf. § 3.1), (ii) entre lignées ou hybrides considérés comme tolérants ou sensibles à la sécheresse, (iii) entre transformants de *Nicotiana plumbaginifolia* transformés à partir du gène codant pour la zéaxanthine époxydase qui intervient dans les dernières étapes de synthèse de l'ABA (équipe d'A. Marion-Poll, B. V. INRA Versailles).

• **Variabilité interspécifique : dans tous les cas étudiés (mono ou dicotylédones, herbacées ou ligneuses, C3 ou C4), les comportements de la conductance stomatique et du potentiel hydrique foliaire ont pu être analysés au travers du modèle présenté à la Fig. 9**, et la variabilité entre espèces a été exprimée au travers de valeurs des paramètres du modèle. Deux comportements, isohydrique et anisohydrique, permettent une classification originale des espèces suivant le comportement de leur potentiel hydrique foliaire au cours d'un dessèchement du sol. Le comportement du maïs est un exemple typique de comportement isohydrique, où le potentiel hydrique foliaire mesuré pendant la journée est maintenu dans une gamme étroite quel que soit l'état hydrique du sol. Chez les espèces anisohydriques, au contraire, le potentiel hydrique à midi diminue dans les feuilles en même temps que dans le sol lorsqu'il se dessèche. Ce comportement était lié à celui de la conductance stomatique. Nous avons montré que le pois et le peuplier avaient des comportements isohydriques semblables à celui du maïs grâce à une régulation stomatique précoce (TARDIEU et SIMONNEAU 1998). Au contraire, nous avons observé un comportement anisohydrique chez le tournesol, l'orge (BOREL *et al.* 1997) et *N. plumbaginifolia* (BOREL *et al.* 2002), où la conductance stomatique restait élevée tardivement au cours du dessèchement et ne permettait pas le maintien de l'état hydrique foliaire. TARDIEU & DAVIES (1992) avaient montré que la régulation précoce des espèces isohydriques reposait sur une participation conjointe du potentiel hydrique foliaire et de l'ABA à la régulation stomatique (Fig. 12). En complément, nous avons montré que chez les espèces anisohydriques, la régulation stomatique était indépendante du potentiel hydrique foliaire (Fig. 11) et intervenait ainsi plus tard lors du dessèchement (TARDIEU *et al.* 1996). Un aspect original du modèle, fortement cité, était qu'il rendait compte de ces comportements contrastés entre espèces isohydriques et anisohydriques à travers un seul paramètre. alors que les mécanismes exacts ne sont pas connus et mériteraient d'être explorés. Dans ce travail, j'ai montré qu'une relation indirecte entre conductance stomatique et potentiel hydrique des feuilles pouvait être extraite du modèle, alors que cette relation n'était

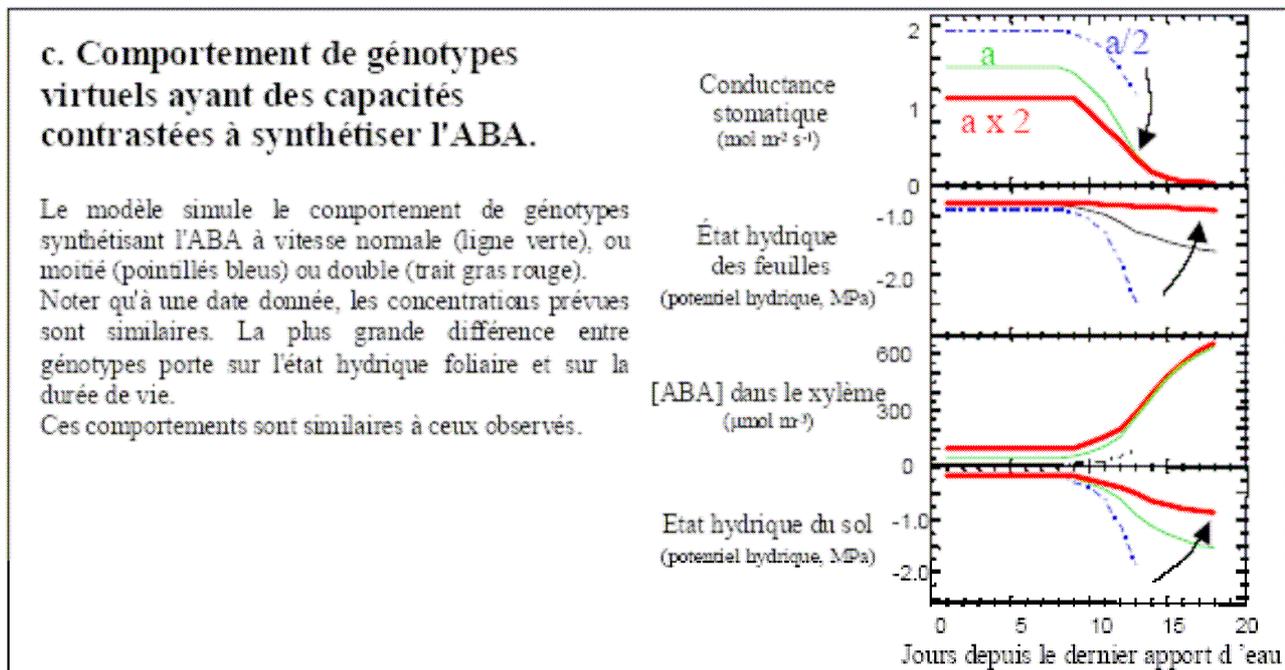
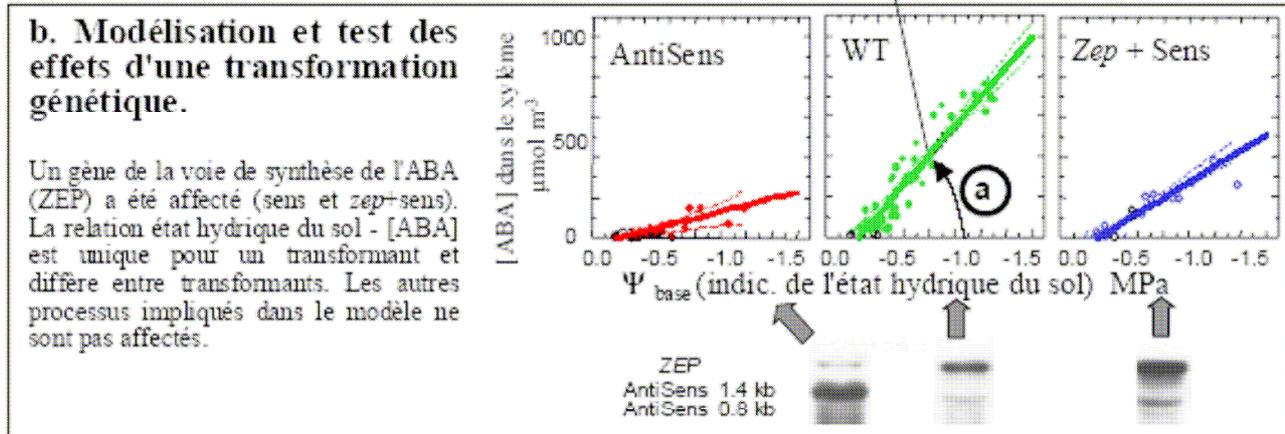
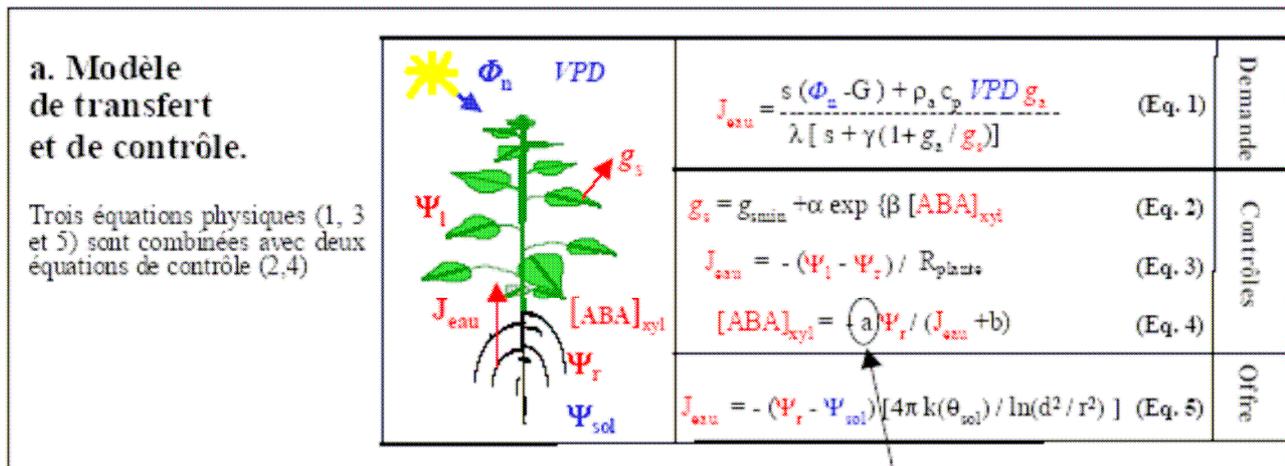


Figure 14 : contrôle stomatique en déficit hydrique et biosynthèse de l'acide abscissique (ABA): du modèle (a) à la simulation du comportement de plantes génétiquement transformées (c) en passant par l'évaluation sur des transformations réelles.

(D'après Tardieu et Simonneau 1998, Audran *et al.* 1998, Borel 1999, Borel *et al.* 2001a,b)

pas constitutive du modèle. J'ai retrouvé, comme nous l'avions observé, que cette relation fortuite était dépendante des conditions de transpiration (notamment du VPD).

- **Variabilité entre lignées 'sensibles' et 'tolérantes' à la sécheresse : des différences dans l'ajustement de la surface foliaire plutôt que dans le contrôle stomatique ?** Les comparaisons que j'ai effectuées ont porté sur des lignées d'orge (BOREL *et al.* 1997) ayant des origines géographiques et génétiques contrastées ou des résistances à la sécheresse différentes. Des différences de conductance entre géotypes sont fréquemment observées après plusieurs jours sans apport d'eau. Cependant, ces différences n'étaient pas dues à des différences intrinsèques de contrôle stomatique puisqu'à un potentiel hydrique du sol donné, les géotypes "sensibles" et "tolérants" avaient des conductances semblables et des $[ABA]_{xyl}$ très proches (Fig. 13). Les cultivars "tolérants" ont surtout retardé le dessèchement du sol du fait d'une croissance foliaire plus lente, donc d'une transpiration plus faible que les "sensibles".

3.4. Essai de transgénèse *in silico* chez des transformants de *N. plumbaginifolia* exprimant des capacités contrastées à synthétiser l'ABA.

Le modèle basé sur le rôle de l'ABA a été construit pour donner une signification biologique aux paramètres. Il devenait donc possible d'anticiper l'effet d'une variation génétique sur tel ou tel paramètre caractéristique du géotype. C'est ce que F Tardieu et moi avons entrepris de tester grâce à une collaboration établie avec l'équipe d'A Marion-Poll (INRA Versailles). Nous avons pu disposer d'une gamme de transformants zéaxanthine époxydase, enzyme de la voie de synthèse de l'ABA de *N. plumbaginifolia*, qui nous a permis de confronter les prévisions du modèle avec les observations (Fig. 14).

- Chez tous les transformants comme chez le sauvage, nous avons retrouvé des relations linéaires entre Ψ_{base} et $[ABA]_{xyl}$ mesuré en fin de nuit (Fig. 14b). Seule la pente de cette relation variait conformément aux effets des transformations génétiques prévus par le modèle. **Ceci a constitué un des premiers exemples où une transformation génétique pouvait être traduite en modélisation par la variation d'un paramètre mesuré** Tous les transformants présentaient une même réponse à l'ABA exogène. La sensibilité de la conductance à $[ABA]_{xyl}$ était bien indépendante de la transformation (BOREL *et al.* 2001 b).

- **Le modèle basé sur l'ABA se prêtait à une intégration simple des effets de la transformation génétique.** Nous avons injecté les valeurs du paramètre caractéristique de la capacité de synthèse d'ABA et simulé l'impact de la modification génétique sur le fonctionnement hydrique de la plante. Les résultats étaient comparables aux valeurs observées chez les transformants (Borel 1999).

Ces travaux ont montré que la variabilité génétique (entre espèces et entre transformants) pouvait être traduite par la variation d'un paramètre mesuré du modèle. Il s'agissait d'une démonstration fondatrice pour la démarche générale du LEPSE. Elle confirmait qu'il était pertinent d'engager une démarche de représentation de la variabilité génétique des réponses à l'environnement à travers leur modélisation pour peu que les paramètres caractéristiques des géotypes puissent garder une correspondance avec des caractères biologiques. Cette condition permettait alors de tester l'impact d'une variation du(des) caractère(s) biologique(s) par simulation en faisant varier la valeur du paramètre. Les simulations ont permis ensuite de dépasser le cadre des expérimentations réalisables. En particulier, la transgénèse *in silico*, ou la recherche d'idéotypes, est devenue possible grâce à la manipulation virtuelle des valeurs des paramètres dans le modèle, comme alternative aux plans de croisement ou aux manipulations génétiques réelles.

3.5. Utilisation inattendue du modèle pour interpréter les effets d'un pathogène racinaire et confirmer le rôle de l'ABA.

Phytophthora cinnamomi Rands est un pathogène majeur chez les espèces ligneuses. Il s'attaque aux tissus corticaux, provoque des lésions sur les racines fines, et induit finalement des symptômes de dépérissement similaires à ceux provoqués par la sécheresse. J'ai donc participé à l'interprétation d'une expérience, conduite par des collègues de l'UMR BIOGECO à Bordeaux, qui visait à tester dans quelle mesure les effets d'une infection racinaire chez le châtaigner par *P. cinnamomi* pouvaient s'interpréter comme un stress hydrique induit par la réduction de la capacité d'extraction d'eau. Mon expérience sur l'extraction (BOREL *et SIMONNEAU* 2002) et le dosage de l'ABA (BARRIEU *et SIMONNEAU* 2000) m'a permis de guider les protocoles dosage de l'ABA recueilli dans la sève du xylème pour en évaluer le rôle avec l'aide d'une technicienne du LEPSE (G Rolland).

- **Le modèle de contrôle stomatique fondé sur le rôle de l'ABA est apparu cohérent avec l'ensemble des effets induits par *P. cinnamomi*.** Les résultats (MAUREL *et al.* 2004) ont montré que l'inoculation ou la sécheresse réduisaient de manière similaire la conductance stomatique, la transpiration,



Le modèle de Ball *et al.*

Le modèle ABA

$$g_s = \frac{m_0 A h_s e^{-\beta [ABA]_{xyl}}}{C_s} + b$$

Equation 1

Modèle combiné (multiplicatif)

Equation 2
Equation 3

$$A = (C_i - \Gamma) \min \left(\frac{V_{c_{max}}}{(C_i + K_{CO_2})}; \frac{PFD}{4.5(C_i + 7.3\Gamma)} \right)$$

$$C_i = C_{air} - A (1.6/g_s + 1.37/g_a)$$

$$[ABA]_{xyl} = \frac{a |\Psi_{base}|}{b} \quad \text{Equation 4}$$

Ball *et al.* seul
([ABA]_{xyl} < 100 nM)

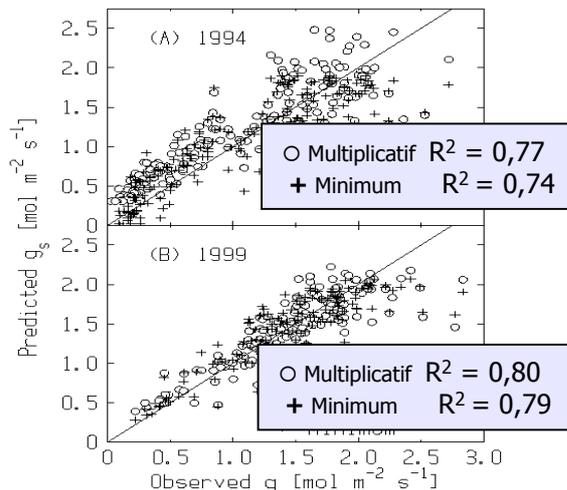
Modèle combiné

ABA seul



R² = 0,47

R² = 0,67



R² = 0,58

R² = 0,08

Figure 15 : élaboration d'un modèle de conductance stomatique (g_s) combinant les effets atmosphériques (Ball *et al.* 1987, Fig. 8) et les effets du dessèchement du sol (modèle ABA, Fig. 9). L'équation 1 explicite la combinaison mathématique (multiplicative) proposée pour intégrer les effets du potentiel hydrique du sol (Ψ_{base}) à travers son effet sur la concentration de l'ABA dans le xylème ($[ABA]_{xyl}$, équation 4), de l'humidité de l'air (h_s), de la concentration en CO₂ (C_s) et du rayonnement (PFD) à travers son effet sur la photosynthèse (A, équation 2). La résolution fait appel à l'équation 3 qui relie la concentration interne en CO₂ à la concentration externe en fonction du niveau de photosynthèse et de la conductance stomatique.

Le modèle combiné a pu être ajusté avec un jeu unique de paramètres sur 2 années d'expérimentation sur tournesol soumis à un gradient de dessèchement au champ. Comme le montrent les coefficients de corrélation entre valeurs observées et simulées, les écarts entre modèle et observation sont nettement réduits avec le modèle combiné multiplicatif de l'équation 1, comparé aux modèles simples. On note en particulier que le modèle ABA seul ne convenait pas pour décrire les données de 1999, année où les pluies n'ont pas permis l'établissement d'un dessèchement prononcé.

(d'après Gutschick & Simonneau 2002)

la conductance hydraulique spécifique du sol aux feuilles, le potentiel hydrique foliaire, en augmentant $[ABA]_{xyl}$. Lorsque l'inoculation ou la sécheresse étaient appliquées à une fraction du système racinaire seulement, on retrouvait des effets, plus modérés, sur la baisse de conductance stomatique et l'augmentation de $[ABA]_{xyl}$ alors que le potentiel hydrique foliaire n'était pas affecté. Des bio-essais réalisés par les collègues de Bordeaux ont montré la conductance stomatique du châtaigner était sensible à l'ABA et aux extraits de sève de plantes inoculées mais pas aux toxines de *Phytophthora*. L'ensemble des résultats soutient que l'effet du pathogène induit des effets analogues à un stress hydrique. Ceci suggère que le traitement de la maladie devrait porter en premier lieu sur le rétablissement des capacités d'extraction d'eau par les racines.

3.6. Extensions de la modélisation

- **Extrapolation du modèle aux cinétiques de consommation d'eau pour prédire les réponses à un arrêt de fourniture en eau.**

Dans le cadre de la thèse de C Borel, nous avons construit des algorithmes de prédiction de l'évolution des réserves en eau du sol couplant les propriétés hydrique du sol (VAN GENUCHTEN 1980) avec les formalismes de réponse des stomates aux conditions atmosphériques. La modélisation nous a permis de simuler les quantités d'eau consommées par les différents géotypes dans un scénario climatique type sur de courtes périodes, au cours desquelles la surface foliaire était supposée peu affectée (BOREL 1999, Fig. 14c). L'eau consommée était alors strictement dépendante des réponses stomatiques. Sur un plus long terme, la simulation devrait prendre en compte la forte variabilité génétique de sensibilité de la croissance foliaire au déficit hydrique : il en résulte une dynamique de consommation d'eau plus complexe, combinant des interactions multiples entre modification de la synthèse d'ABA, impact sur l'ouverture stomatique et sur l'expansion foliaire, et conséquences de ces 2 dernières sur la transpiration et l'épuisement des réserves. Le cadre de la thèse de C Borel ne nous a pas permis de pousser l'analyse aussi loin. Ces perspectives sont cependant reprises aujourd'hui dans mon projet.

D'autres processus à prendre en compte pourraient être intégrés, comme la croissance racinaire et son influence sur les variations fines de disponibilité en eau en fonction du type de sol (TUZET *et al.* 2003), ou encore le couplage de l'ouverture stomatique avec la photosynthèse qui permet d'explicitier les effets du rayonnement et de la température (CALVET *et al.* 2004). La limite pour l'utilisation de ces modèles plus détaillés tient essentiellement dans le nombre de paramètres générés et dans leur accessibilité.

- **Couplage avec les modèles de réponse aux effets atmosphériques utilisés dans l'étude des changements climatiques globaux.**

De nombreux modèles sont utilisés dans l'étude des changements climatiques globaux. Ils focalisent sur l'effet des conditions aériennes (rayonnement solaire, déficit de saturation et concentration du CO_2 dans l'air: BALL *et al.* 1987; DEWAR 1995; LEUNING 1995). L'effet du déficit hydrique dans le sol est le plus souvent englobé dans un effet du potentiel hydrique foliaire qui se surimpose aux effets du climat aérien sans interaction, alors qu'on peut attendre que le potentiel hydrique foliaire réponde au contraire aux interactions entre déficit hydrique du sol et demande transpiratoire.

En collaboration avec un professeur accueilli au LEPSE (V. Gutschick, Univ. New Mexico), j'ai proposé une combinaison du modèle de réponse des stomates au dessèchement du sol fondé sur le rôle de l'ABA (élaboré au LEPSE) avec les modèles existants de réponse au climat aérien, en l'étayant par des données collectées sur tournesol (GUTSCHICK et SIMONNEAU 2002). J'ai réalisé l'essentiel du travail expérimental principalement au champ sur des gradients d'irrigation, alors que V. Gutschick a pris en charge la partie informatique. Les formalismes testés ont fait l'objet de discussions concertées. Comparée aux approches antérieures (JARVIS 1976), la modélisation que nous avons obtenue rend les paramètres plus stables pour un géotype donné (Fig. 15), ce qui correspond bien à un objectif de modélisation de l'interaction géotype-environnement avec une héritabilité maximale des paramètres.

Un aspect original a été l'utilisation de l'analyse des pistes pour hiérarchiser les variables environnementales explicatives des variations de conductance stomatique. A cette occasion, j'ai réalisé le potentiel offert par la méthode d'analyse des pistes lorsqu'on recherche des structurations entre variables explicatives sur de grands jeux de données. J'ai encouragé mes collègues à mettre en œuvre cette méthode, bien maîtrisée par D Vile (dernier CR recruté au LEPSE), ce qui a déjà donné d'autres résultats.

Le formalisme obtenu laisse une part explicative forte au déficit de saturation de l'air sur le contrôle de l'ouverture stomatique et suggère qu'il n'est pas possible de rendre compte de cet effet par l'intervention seule de l'ABA, contrairement à notre proposition initiale.

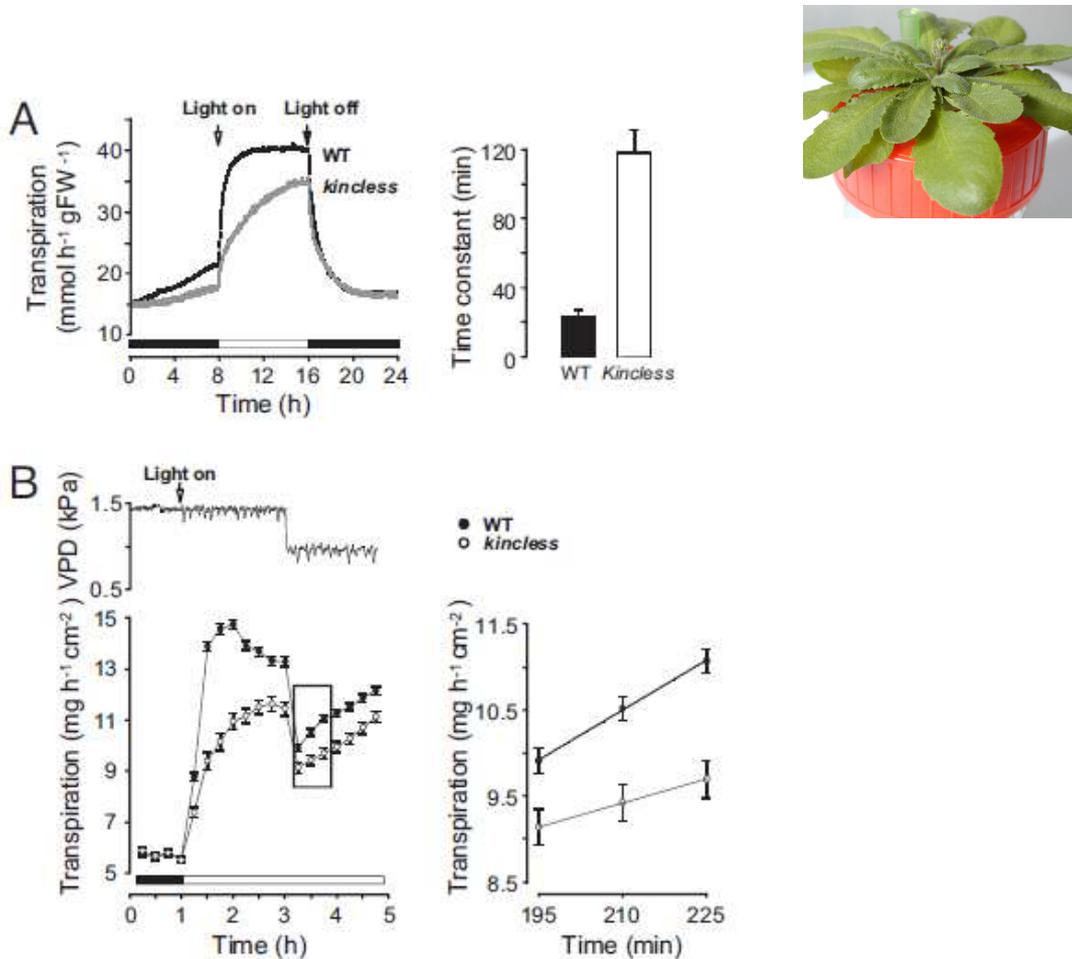


Figure 16 : exemple d'analyse écophysiological du phénotype de mutants *kinless* d'*Arabidopsis thaliana* altérés dans l'activité des canaux K⁺ entrants exprimés dans les cellules de garde. L'activité des canaux intervient substantiellement dans la réponse des stomates (A) à la lumière et (B) aux changements brusques de déficit de saturation dans l'air (VPD).

(d'après [Lebaudy et al. 2008](#))

A ce stade de mes travaux, nous disposions au LEPSE d'un outil pour caractériser la sensibilité de la transpiration aux fluctuations de l'ensemble des conditions climatiques (édaphiques et atmosphériques) utilisable pour analyser l'interaction génotype - environnement dans des environnements variés (réseaux d'essais...). Un autre modèle (DEWAR 2002) reprenait les formalismes du modèle fondé sur l'ABA en proposant également un couplage avec les modèles atmosphériques. Le modèle de DEWAR présentait l'avantage de faire reposer ce couplage sur des hypothèses plus biologiques de fonctionnement biophysique des cellules de garde. Mais il n'est pas possible de l'évaluer ni de le paramétrer dans l'état actuel des méthodologies.

La modélisation obtenue a marqué un point d'arrêt de mon investissement dans cette thématique. Des collaborations mériteraient cependant d'être construites pour éclaircir les rôles respectifs de l'ABA et des potentiels hydriques en comparant par exemple notre modèle avec celui de TUZET *et al.* (2003), proche du nôtre, mais qui propose un contrôle direct de l'ouverture stomatique par le potentiel hydrique foliaire sans intervention de l'ABA. Cette piste de travail, qui ignore le rôle de l'ABA, est à rapprocher des conclusions de COCHARD *et al.* (2002) qui constatent une corrélation étroite chez plusieurs espèces entre le seuil de potentiel hydrique associé à un certain niveau de fermeture stomatique et le potentiel hydrique critique en dessous duquel la cavitation du xylème qui alimente les feuilles s'emballe. A mi-distance entre notre modèle basé sur l'ABA et les modèles basés sur un rôle unique du potentiel hydrique foliaire, CHRISTMANN *et al.* (2007) ont suggéré que l'ABA interviendrait comme signal secondaire local dans les feuilles mais que le signal primaire de déclenchement de la fermeture stomatique serait le potentiel hydrique. Cette problématique est reprise dans mon projet.

3.7. Renouveau des stratégies de recherche sur l'origine de la variabilité génétique des réponses de la transpiration au déficit hydrique.

Après la publication du modèle combinant effets des conditions atmosphériques et influence du déficit hydrique, relayés par l'ABA (GUTSCHICK et SIMONNEAU 2002), j'ai dû ralentir mon activité dans ce domaine suite à la prise en charge de la direction du LEPSE. Pourtant, l'analyse du déterminisme de la transpiration restait une compétence importante pour le LEPSE, non seulement pour comparer les cinétiques d'épuisement des réserves en eau du sol entre génotypes, mais aussi pour prédire l'impact de la demande évaporative sur l'état hydrique des tissus. J'ai donc décidé de suspendre mon approche « processus candidat » (action d'une hormone, l'ABA, complétée par la recherche d'une interaction éventuelle avec l'effet du déficit hydrique sur le pH et ses conséquences sur la redistribution de l'hormone), considérant que d'autres équipes (Hartung en Allemagne, Davies au Royaume-Uni) étaient mieux placées pour décortiquer plus finement le rôle de l'ABA. Dans le même temps, grâce à un premier co-encadrement de thèse (E HOSY 2003), dirigée par H. Sentenac (BPMP Montpellier), j'entreprenais le transfert des méthodologies liées à cette activité sur *Arabidopsis*. Ces développements chez une espèce modèle m'ont permis d'engager **2 nouvelles stratégies** en profitant d'opportunités de collaborations avec mon équipe et des partenaires de Biologie Végétale ou de Génétique.

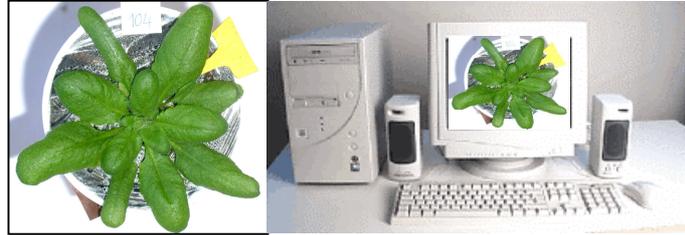
- **Approche « gène candidat » par génétique inverse** (coll. équipes « Canaux potassiques » et « aquaporines », BPMP Montpellier) : il s'agissait ici avant tout de compléter le travail des collègues spécialistes en analyses moléculaires et cellulaires par un apport de connaissances à l'échelle de la plante entière sur le déterminisme du contrôle de la transpiration. Ma contribution consistait à (i) guider la recherche de conditions environnementales qui maximisent les conséquences phénotypiques attendues par la modification d'expression d'un gène, et (ii) évaluer quantitativement, parmi les composantes physiologiques qui participent au contrôle de la transpiration, celles qui sont affectées par la modification génétique étudiée (souvent à l'aide de la modélisation).

J'ai exploré plus particulièrement le rôle des canaux potassiques dans les cellules de garde car ce sont des intermédiaires majeurs dans la réponse à l'ABA et aux stimuli lumineux (SCHROEDER *et al.* 2001). De manière générale, chez les mutants, nous avons obtenu des réponses plus marquées dans les dynamiques de réponse à la lumière ou au VPD, significativement ralenties par rapport aux sauvages, qu'en régimes stationnaires (HOSY *et al.* 2003 ; LÉBAUDY *et al.* 2008, Fig. 16). Grâce à des croisements entre mutants simples et dominants négatifs, nous avons montré par des analyses phénotypiques simples (transpiration de la plante entière) que les sous unités des canaux s'hétéromérisaient fortement (DREYER *et al.* 2008).

A ce stade, j'en ai conclu que peu de variabilité génétique était à attendre d'un éventuel polymorphisme sur ces gènes, et que d'autres mécanismes que les échanges de K^+ (comme les flux ou le métabolisme des solutés organiques ; TALBOTT et ZEIGER 1998) étaient probablement à prendre en compte pour expliquer l'ouverture stomatique en réponse à la lumière. Cependant, l'exploration de conditions environnementales plus étendues a révélé un rôle particulier des canaux sortants. Dans des contextes où les ions Na^+ étaient abondants, nous avons observé que la fermeture stomatique pouvait être sensiblement



Suivi de transpiration des plantes individuelles en pot par pesée



Calcul de la surface foliaire par analyse d'images.

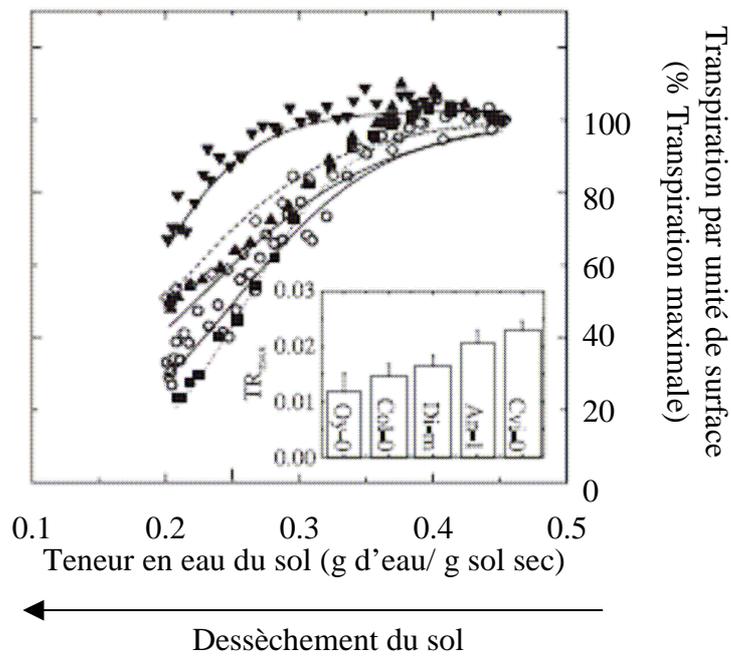


Figure 17 : Identification d'une accession parmi 11 dont la réponse de la transpiration au dessèchement progressif du sol est retardé (An-1, triangles renversés). L'insert donne les transpirations maximales de quelques accessions et indique une forte variabilité.

(d'après Granier *et al.* 2006)

ralentie chez des mutants altérés dans l'activité des canaux potassiques entrants (LEBAUDY *et al.* 2008). Ceci suggérerait un rôle protecteur de ces canaux entrants contre l'accumulation de Na⁺ dans les cellules de garde, ions plus difficile à évacuer. Un autre contexte a révélé un avantage chez les plantes sauvages : il s'agissait des conditions de fort rayonnement matinal qui coïncidait alors avec le rythme circadien d'ouverture stomatique matinale plus marquée chez le sauvage (LEBAUDY *et al.* 2008). L'accès à des plates-formes équipées pour réaliser de telles manipulations de l'environnement, comme celle du Groupe de Recherches Appliquées en Phytotechnologie (GRAP) au CEA de Cadarache, pourrait se révéler d'une aide précieuse pour explorer ce type de scénarios climatiques.

- **Approche globale par analyse de la variabilité génétique naturelle** (action coordonnée initiée dans mon équipe dans le cadre d'un projet GABI-Génoplande): il s'agissait essentiellement ici (i) de recenser et quantifier les marges de variations génétiques de la transpiration dans différents types de scénarios climatiques, (ii) d'identifier sur quels processus majeurs s'exprimaient les variations génétiques observées (architecture foliaire et conductance aérodynamique, pertes cuticulaires, perception des signaux environnementaux par la plante et transduction vers les stomates, densité stomatique, sensibilité des stomates aux signaux internes hydrauliques ou hormonaux) et éventuellement (iii) de tirer profit du travail de caractérisation moléculaire de la diversité génétique chez *Arabidopsis* pour entreprendre une stratégie plus globale de recherche de gènes (et surtout des processus associés) via une démarche QTL. Cette stratégie présente évidemment un fort potentiel chez *Arabidopsis*, où les possibilités de gérer simultanément plusieurs croisement parentaux lèvent la limite inhérente au choix d'un nombre réduit de parents chez d'autres espèces plus encombrantes et à cycle plus long.

J'ai contribué à un travail de **caractérisation d'une collection d'écotypes d'*Arabidopsis*** (GRANIER *et al.* 2006 ; projet Génoplande-GABI) après avoir contribué à la **mise au point d'un automate de phénotypage** (DAUZAT *et al.* 2004). Une première série d'expériences sur 11 écotypes à fort polymorphisme a permis d'identifier une forte variabilité génétique de réponses de la transpiration au dessèchement du sol (GRANIER *et al.* 2006 ; Fig. 17) ouvrant la voie à la recherche de régions du génome (QTL) impliquées dans ces réponses. L'efficacité d'utilisation de l'eau a été calculée directement par le rapport entre gain de biomasse et quantité d'eau consommée, mais aussi évaluée par l'enrichissement en ¹³C (coll. O. BRENDÉL, INRA Champenoux) avec une très bonne corrélation. Il faut noter qu'**en maximisant la variabilité génétique chez un minimum d'accessions (seulement 8) sur la base de marqueurs neutres, on a également maximisé la variabilité génétique d'un caractère phénotypique très intégré comme l'efficacité d'utilisation de l'eau** (étendue aussi forte que celle observée par O. BRENDÉL entre espèces forestières aux comportements contrastés). Ce résultat, espéré mais non trivial, rassure sur la stratégie d'exploration des populations sur la base de marqueurs neutres. D'autre part, **une accession au comportement atypique a été isolée** : sa transpiration était maintenue malgré un dessèchement du sol assez marqué (Fig. 17), et son efficacité d'utilisation de l'eau était supérieure à celle des autres accessions dans les mêmes conditions.

La suite de ce travail peut s'inscrire dans plusieurs directions. L'étude de mutants ou transformants annotés sur des processus connus (ex. insensible à l'ABA) pourrait être intégrée aux travaux de phénotypage sur les accessions ; l'ensemble des génotypes sauvages et transformés pourraient ensuite être regroupés selon leur typologie de réponse de la transpiration; enfin, l'appartenance d'accessions à un même type que des transformants annotés permettrait de guider vers les processus élémentaires à l'origine du phénotype observé. L'analyse QTL des paramètres de réponse de la transpiration est un complément logique de cette approche. Le phénotypage initial des accessions servirait alors de guide pour le choix des lignées parentales. En parallèle, les travaux menés sur les réponses de la croissance foliaire (C Granier) ouvrent la voie à la **recherche de liaisons entre sensibilités de la transpiration et de la croissance** en réponse aux différentes conditions environnementales explorées. C'est sans doute sur cette dernière piste que la contribution de notre équipe peut être la plus originale. Le phénotypage des réponses de la croissance est déjà engagé sur les différentes catégories de génotypes. L'accès à des ressources génétiques originales est possible grâce aux contacts entre notre équipe et la plupart des équipes nationales et internationales impliquées dans l'analyse de la croissance et de la transpiration chez *Arabidopsis*, et notre capacité de phénotypage sera bientôt triplée. Pour saisir cette conjonction d'opportunités, j'ai déposé des sujets de stage et post-doc avec les autres chercheurs de l'équipe SPIC. Quelques limites méthodologiques restent à lever pour élever les débits de mesure.

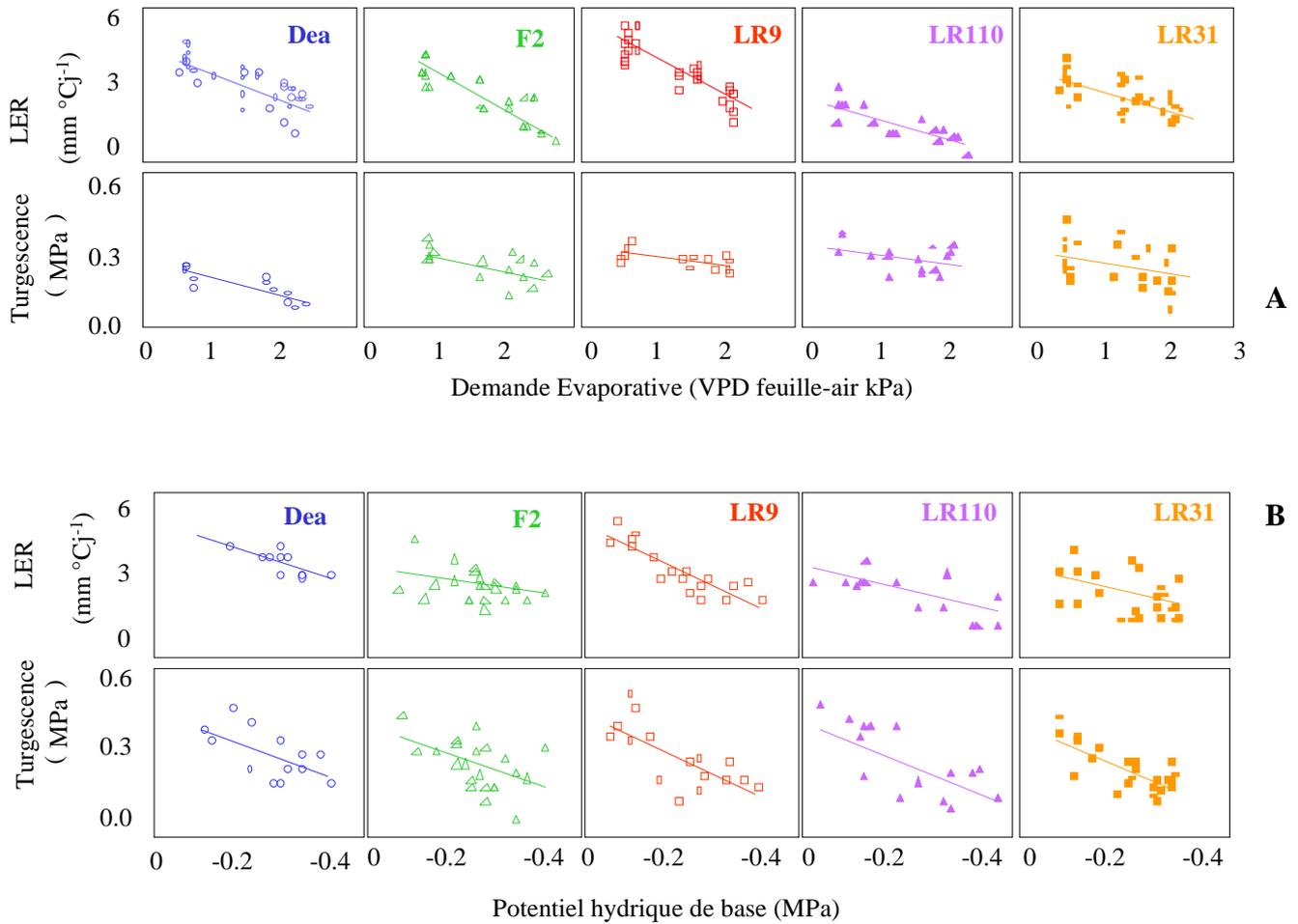
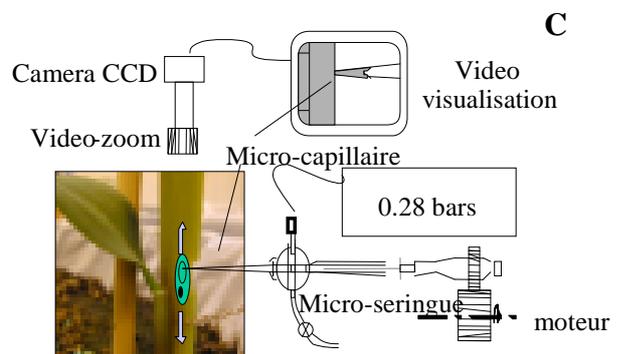


Figure 18: La turgescence des cellules n'est pas maintenue dans des feuilles en croissance soumises à un déficit hydrique atmosphérique ou édaphique. Le non maintien de la turgescence dans la zone en croissance de feuilles se retrouve non seulement au cours de la journée (A) pour des plantes transpirantes mais également la nuit, pour des plantes soumises à un déficit hydrique édaphique (B). Ces résultats suggèrent que l'hydraulique joue un rôle central dans le contrôle de la croissance, au moins sur des pas de temps courts. La turgescence intracellulaire est estimée grâce à une sonde à pression (C). LER = vitesse d'élongation des feuilles.

(D'après Bouchabke *et al.* 2006 et Bouchabke 2003)



4. CONTROLE HYDRAULIQUE DE LA CROISSANCE FOLIAIRE ; COUPLAGE AVEC LES MODELES DE TRANSFERT D'EAU DANS LA PLANTE.

Collaborations : C Maurel (BPMP, Montpellier) ; F Tardieu (LEPSE) ; Contacts réguliers avec les Pr E Steudle (Univ Bayreuth, D) et D Tomos (Univ Bangor, UK) sur l'hydraulique intracellulaire.

Encadrement de thèse : O Bouchabke ; C Ehlert

Co-encadrement de thèse : M Mahdid (en cours) ; F Pantin (en cours)

4.1. Contexte : cadre d'analyse et répartition des efforts dans l'équipe

Les modes d'actions connus du déficit hydrique sur la **croissance foliaire**, passent soient (i) par une voie biochimique (enzymatique, hormonale ou liée à la néosynthèse de matériaux) en affectant **l'extensibilité des parois**, (ii) et/ou par voie hydraulique en réduisant **la turgescence dans les tissus en croissance**. La voie biochimique et le rôle de protéines pariétales ont retenu l'attention des chercheurs (VAN VOLKENBURGH 1999) et a été explorée par B. Muller et C. Granier au sein de mon équipe. La seconde voie, hydraulique, a été régulièrement remise en cause (SCHACKEL *et al.* 1987; ZHU et BOYER 1992 ; FRENSCH 1997). Par exemple, les travaux sur racines montrent une grande stabilité de la turgescence dans la zone d'allongement, grâce à un ajustement osmotique efficace, y compris lorsque la croissance est réduite en conditions sèches (PRITCHARD *et al.* 1991). Mais l'efficacité de l'ajustement osmotique pour le maintien de la turgescence, établie essentiellement sur des organes exempts de transpiration (racines, hypocotyles de plantules non feuillées) reste discutable. **En l'absence de démonstration nette sur le rôle ou non de la turgescence dans la réponse de la croissance au déficit hydrique, et pour équilibrer l'effort de recherche de l'équipe, j'ai engagé des activités dans cette seconde voie.** (Thèse O. Bouchabke puis C. Ehlert). Cette inflexion de ma thématique m'a permis de mieux articuler mes travaux avec ceux du reste de l'unité.

J'ai choisi de traiter cette question sur le maïs car il s'agissait d'une espèce d'intérêt agronomique fortement travaillée au LEPSE, pour laquelle les méthodologies pointues étaient envisageables (sonde à pression, mesure des flux d'eau et d'allongement foliaire à très court pas de temps). La structuration spatiale et temporelle de la croissance y avait été particulièrement bien décrite. Du matériel génétique avait été caractérisé (REYMOND *et al.* 2003) avec des sensibilités contrastées de la croissance au déficit hydrique.

4.2. Rôle de la turgescence cellulaire dans les tissus foliaires en croissance, en réponse aux déficits hydriques édaphiques et atmosphériques

- **La turgescence dans les cellules en croissance n'est pas maintenue dans les feuilles de plantes soumises à une forte demande évaporative** dès que le sol n'est plus saturé. En adaptant une sonde à pression intracellulaire pour des mesures sur plante de maïs adulte en conditions de transpiration (Fig. 18c), nous avons observé que l'augmentation de la demande évaporative (variation de VPD) entraînait des réductions significatives de la turgescence cellulaire mesurée directement dans la zone d'allongement foliaire (Fig. 18a). Ce résultat a été obtenu chez cinq lignées de maïs choisies pour leurs réponses contrastées au VPD. De plus, l'effet du VPD sur la turgescence et sur la vitesse de croissance disparaissait en présence d'eau saturante dans le sol, suggérant que la résistance au transfert d'eau sol-racine amplifiait l'effet de la demande évaporative. Dans tous les cas, la réponse de la croissance au VPD est restée liée à celle de la turgescence (BOUCHABKE *et al.* 2006). Ceci soutenait un rôle majeur de la turgescence dans la réponse de la croissance foliaire à la demande évaporative.
- **La turgescence dans les zones foliaires en croissance est durablement réduite par un stress hydrique édaphique maintenu durant plusieurs jours.** De façon beaucoup moins attendue que dans des conditions de déficit atmosphérique seul, la même technique de mesure directe de la turgescence intracellulaire a révélé qu'un déficit hydrique dans le sol s'accompagnait également d'une baisse de turgescence dans les cellules de la zone en croissance (Fig. 18b). Dans ce cas, nous avons également mesuré le potentiel osmotique intracellulaire (en adaptant une technique micro-cryoscopique, coll. D. Tomos, univ. Bangor, UK). Cette technique est venue confirmer que **l'ajustement osmotique (baisse du potentiel osmotique) observé en réponse au déficit hydrique du sol ne suffit pas au maintien de la turgescence**. Là encore, dans le cas d'un déficit hydrique édaphique, la turgescence et son déterminisme hydraulique (dont l'ajustement osmotique) pourraient jouer un rôle important dans la réponse de la croissance. De plus, les lignées de maïs qui présentaient les plus fortes réductions de croissance foliaire en réponse au déficit hydrique du sol étaient également celles pour lesquelles la turgescence était le plus fortement affectée (BOUCHABKE 2003).
- Enfin, **la turgescence cellulaire présente également des variations spatiales le long de la zone en croissance à la base de la feuille**, proches de la distribution en cloche de la vitesse d'allongement local (BOUCHABKE 2003). Mais ces variations spatiales ne permettaient pas d'expliquer de

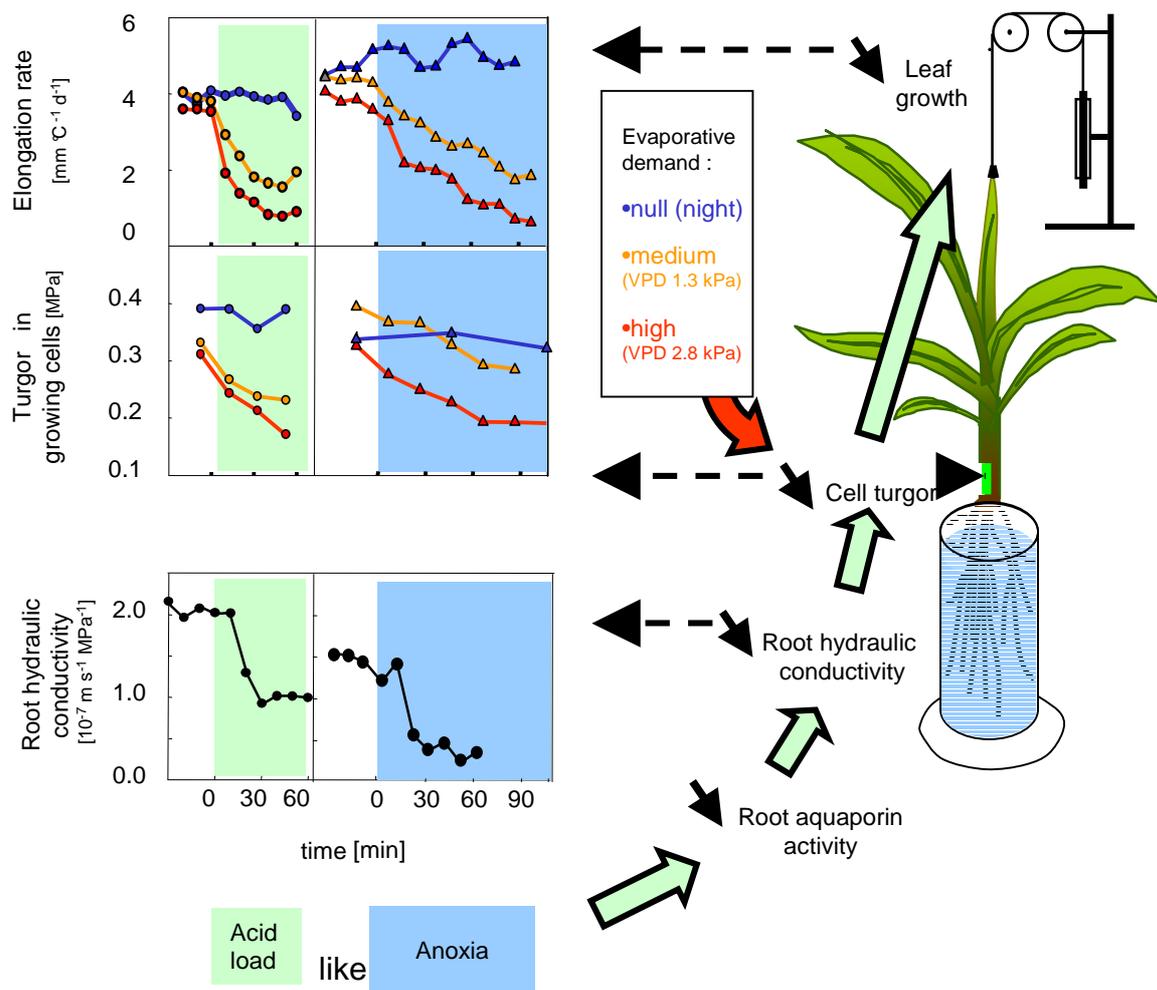


Figure 19. Effet d'un traitement inhibiteur de l'activité des aquaporines (charge acide) et de l'anoxie sur la conductance hydraulique racinaire, la turgescence des cellules dans les zones de croissance des feuilles, et la vitesse de croissance foliaire chez le maïs sous 3 régimes de demande évaporative.

Les résultats montrent que :

- la baisse de conductivité hydraulique au niveau racinaire rend la croissance foliaire très sensible à la demande évaporative, avec un rôle cohérent de la turgescence;
- L'anoxie entraîne des cascades de réponses similaires au traitement inhibiteur d'activité des aquaporines.

(d'après Ehlert *et al.* 2009)

façon unique la distribution spatiale de l'allongement foliaire et ses modifications en réponse aux contraintes. Dans ce cas, il est probable que l'évolution des propriétés rhéologiques au cours de la maturation des tissus jouent un rôle majeur pour expliquer la répartition spatiale de la croissance le long de la feuille.

Globalement, les résultats établis sur des plantes de maïs relativement âgées ont révélé un rôle significatif des variations de turgescence dans la réponse de la croissance foliaire aux déficits hydriques édaphiques comme atmosphériques. Ils ont remis en cause l'hypothèse dominante d'un ajustement osmotique efficace et d'un contrôle de la croissance par la seule modification des propriétés rhéologiques des parois. L'introduction d'une variabilité génétique contrastée au niveau macroscopique de la feuille a été utile pour renforcer l'hypothèse émise à l'échelle inférieure des cellules en croissance. La généralisation de la mesure du potentiel osmotique dans les tissus en croissance (cryo-osmométrie) serait nécessaire pour tester si des différences génétiques d'ajustement osmotique peuvent être à l'origine de ces différences de réponse de la turgescence et de la croissance. Ce dernier point est repris dans mon projet.

4.3. Rôle des aquaporines racinaires dans la réponse de la croissance foliaire

Les résultats positifs sur le rôle central de la turgescence dans le contrôle de la croissance foliaire renvoyaient logiquement à de nouvelles questions sur **l'origine des variations de sensibilité de la croissance foliaire à la demande évaporative**. Nous avons émis l'hypothèse que l'état hydrique du sol n'était pas seul en cause, mais que les variations de conductivité hydraulique entre le sol et les racines intervenaient également puisque ces deux caractéristiques pouvaient théoriquement moduler la turgescence dans les tissus foliaires en croissance d'une plante qui transpire (BOUCHABKE *et al.* 2006). Les difficultés pour contrôler de manière reproductible les caractéristiques hydrauliques de l'interface sol-racines constituaient un obstacle majeur pour tester cette hypothèse. La manipulation de l'activité des aquaporines racinaires ouvrait une alternative beaucoup plus contrôlable avec des enjeux complémentaires en génétique.

J'ai donc engagé une **collaboration avec l'équipe « aquaporines »** (C MAUREL, BPMP Montpellier), soutenue par une ACI du ministère de 2004 à 2006, puis un projet INRA AgroBI (de 2007 à 2009), et une bourse de thèse du département EA depuis février 2005. Il s'agissait de tirer profit des découvertes de l'équipe « aquaporines » sur la modification chimique ou génétique de l'activité de ces protéines canal à eau pour tester plus à fond les hypothèses sur le contrôle hydraulique de la croissance foliaire, en bouleversant les corrélations entre variables hydriques.

- **L'activité des aquaporines racinaires, qui répond largement à des modifications génétiques** (synthèse d'ABA, PARENT *et al.* 2009) **ou des traitements environnementaux** (hypoxie, EHLERT *et al.* 2009), **est apparue déterminante pour la réponse de la turgescence et de la croissance des feuilles de maïs**. Chez le maïs, nous avons montré que l'inactivation des aquaporines racinaires par des inhibiteurs chimiques ou une hypoxie racinaire, entraînait des réductions parallèles et réversibles de la croissance foliaire et de la turgescence cellulaire (Fig. 19). Ces effets disparaissaient sous faible demande évaporative (la nuit). Nous avons donc montré que les aquaporines racinaires pouvaient jouer un rôle quantitatif important sur les variations de croissance foliaire (alors qu'elles ne modifiaient pratiquement pas l'ouverture stomatique et les flux d'eau dans nos conditions de demande évaporative limitée). Nous avons aussi confirmé que les effets des déficits hydriques atmosphérique et édaphique n'étaient pas indépendants.
- **L'hypoxie racinaire inhibe la croissance foliaire du maïs à court terme en suivant les mêmes cascades signalétiques hydrauliques que celles induites par les traitements pharmacologiques visant l'inactivation des aquaporines racinaires** (Fig. 19). A plus long terme, l'absence de réversion complète des traitements a suggéré une contribution complémentaire des processus de modification des propriétés rhéologiques des parois dans les tissus en croissance.

4.4. Modélisation couplée du contrôle hydraulique de la croissance foliaire et des transferts d'eau dans la plante

Dans le cadre de la thèse de C. Ehlert (2008), j'ai développé un modèle qui combine des équations de contrôle de la croissance par la turgescence (LOCKHART 1965) avec la modélisation des transferts d'eau dans la plante basée sur l'analogie avec la loi d'Ohm (Fig. 20). A l'aide de ce modèle, nous avons examiné comment la vitesse de croissance foliaire du maïs pouvait répondre aux influences combinées de la disponibilité de l'eau dans le sol (potentiel hydrique supposé uniforme) et de la demande évaporative. Les observations obtenues avec les inhibiteurs d'aquaporines ont été utilisées pour calibrer le modèle. Le modèle calibré a ensuite été validé avec les données obtenues en conditions d'anoxie.

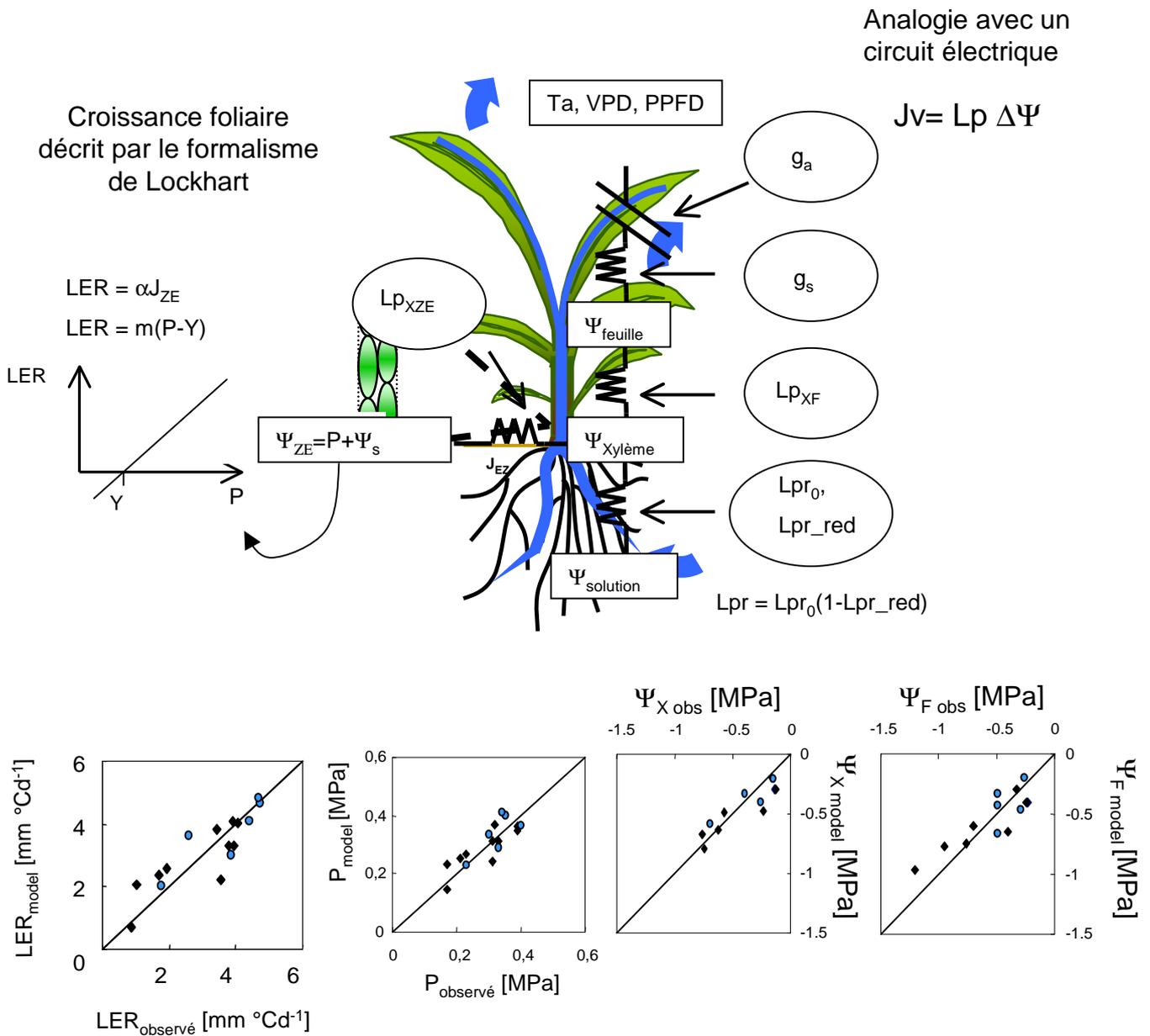


Figure 20. Modélisation des effets d'une réduction de la conductance hydraulique racinaire (Lpr) sur les potentiels hydriques dans le xylème (Ψ_X) dans les feuilles en transpiration (Ψ_F), sur la turgescence dans les cellules en croissance (P) et sur la vitesse de croissance foliaire (LER) chez le maïs.

Les données ont été ajustées sur des observations réalisées la nuit et à différents niveaux de demande évaporative le jour en réponse à des inhibiteurs pharmacologiques de l'activité des aquaporines (ronds pleins). Le modèle ainsi ajusté, simule correctement les observations réalisées en conditions d'anoxie qui réduisait également Lpr (ronds grisés).

(d'après Ehlert 2008)

- **En cohérence avec les observations, le modèle prévoyait que la réduction de conductance hydraulique racinaire amplifiait considérablement la sensibilité de la croissance foliaire à la demande évaporative.** Ce résultat suggère que des variations de conductivité hydraulique dans la zone d'enracinement, autant qu'à l'intérieur des racines, pourraient expliquer en partie la forte variabilité génétique de réponse de la croissance foliaire au VPD, telle qu'observée chez le maïs par mes collègues du LEPSE (REYMOND *et al.* 2003). Les travaux futurs au LEPSE devraient logiquement porter attention aux caractéristiques racinaires (et du sol) qui modifient les propriétés hydrodynamiques du système sol-racine.

L'ensemble de mes travaux sur le déterminisme hydraulique de la croissance a contribué à réviser les formalismes mathématiques utilisés au LEPSE pour analyser la variabilité génétique des réponses de la croissance foliaire. En particulier, l'effet du déficit hydrique dans le sol, initialement attribué exclusivement à la synthèse accrue d'ABA, est maintenant formulé sur un fondement plus hydraulique, et n'est plus considéré comme indépendant de l'effet de la demande évaporative : l'amplification de l'effet du déficit hydrique édaphique par le déficit atmosphérique est inclus sous une forme cohérente avec le rôle central de la turgescence. Il s'agit pour moi d'un exemple typique d'interaction entre des travaux détaillés d'écophysiologie conduits dans l'équipe SPIC pour rechercher les mécanismes déterminants du contrôle de la croissance, et les travaux de modélisation intégrative développés dans l'équipe MAGE (et potentiellement MAPI) pour caractériser la variabilité génétique.

Par ailleurs, les caractéristiques génétiques et environnementales qui contrôlent la conductivité hydraulique du sol aux racines, jouent un grand rôle dans la variabilité des réponses de la croissance foliaire à la demande évaporative. Cette conclusion obtenue grâce à la manipulation de l'activité des aquaporines racinaires mérite d'être testée pour d'autres déterminants comme la répartition des racines en interaction avec la structure du sol, le contact entre sol et racines.

 Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux UMR INRA-SupAgro DIRECTEUR : Simonneau T. SECRETARIAT : Palpacuer MC. AT; Gouraud MF. TR		 
MISSIONS TRANSVERSALES D'APPUI		
Qualité : Dauzat M. AI Prévention: Mineau J. AT Radioprotection : Rolland G. TR Correspondant informatique: Brichef N. TR Systèmes d'information, bases de données : Negro V. IE Formation permanente : Dauzat M. AI Communication: Rolland G. TR, Granier C. CR Accès bibliographie : Turc O. CR		Serre : Suard B. TR Prototypes en automatique, chambres climatiques: Hamard P. AI Phenodyn (serre et chambre): Berthezene S. AT, Suard B. TR Phenopsis (chambre): Dauzat M. AI, Balsera C. AT Vehicules, équipements electromécaniques : Balsera C. AT Atelier, logistique bâtiment : Suard B. TR Imagerie : Turc O. CR
EQUIPES DE RECHERCHE		
SPIC : Stress environnementaux et Processus Intégrés du contrôle de la Croissance <u>Muller B.</u> (responsable), DR Granier C. CR Simonneau T. CR Ville D. CR Balsera C. AT Dauzat M. AI Rolland G. TR Thiloux JJ. AT Tiené S. Doc Boutellier M. Doc Pantin F. Doc Massonnet C. Post-Doc Wuyts N. Post-Doc Pervant M. CDD Ing Fabre J. CDD Ing Bédée A. CDD Tr	MAGE : Modélisation et Analyse de l'interaction Génotype - Environnement. <u>Tardieu E.</u> (responsable) DR Fournier C. IR Turc O. CR Welcker C. IR Berthezene S. AT Suard B. TR Brichef N. TR Parent B. Doc (Benovent C. Doc, Etranger) Domerg C. CDD Ing Chapuis R. CDD Ing Vargas M. Visit	MAPI : Modélisation et Analyse du Phénotype Intégré des Plantes <u>Lacour J.</u> (responsable) PR Christophe A. CR Guilloni L. MC Lebon E. IR Pellegrino A. MC Maille H. IATOS Mineau J. AT Pallas B. Doc Radanielson A. Doc (Scholasch T. Doc, Etranger) Prieto J. Doc Bazzou K. CDD Ing

Mars 2009

Figure 21. Organigramme du Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux (42 personnes, hors stagiaires courte durée) que je dirige depuis 2003.

5. ANIMATION DE LA RECHERCHE, FORMATION ET AUTRES ACTIVITES

5.1. Animation et administration de l'UMR LEPSE (2003-2010)

Attaché aux ambitions du LEPSE, j'ai pris la direction de l'unité en 2003 (Fig. 21) dans le but principal de libérer les potentiels individuels et de développer une politique d'équipement à la hauteur du projet d'unité. J'ai accédé à cette fonction après 6 mois comme adjoint auprès de F Tardieu, précédent Directeur, pour suivre plusieurs formations (Direction d'Unité ; animation d'équipe ; budget), et prendre la mesure du paysage scientifique de Montpellier, particulièrement riche, complexe et compétitif.

- **J'ai avant tout défendu un projet d'unité solide et cohérent avec les orientations de l'INRA (voir introduction).**

J'ai maintenu l'unité dans le cadre de ses missions constituantes : (i) asseoir son expertise en analyse de la réponse des plantes aux contraintes environnementales d'origine climatique ; (ii) développer des modèles mathématiques pour analyser ces réponses à l'échelle intégrée de la plante entière ; (iii) appliquer ces modèles aux plantes utilisées en génomique et transférer les connaissances aux plantes d'intérêt agronomique. Conformément à nos engagements, notre activité a débouché sur des modèles écophysiologiques qui, combinés à des modèles de génétique quantitative, permettaient de simuler, selon le scénario climatique, le comportement de génotypes réels ou fictifs caractérisés par des combinaisons d'allèles ou des caractéristiques physiologiques héréditaires. Pour la période 2007-2010, j'ai souhaité porter nos efforts sur les interactions entre contraintes environnementales et l'extension aux phases de fin de cycle. Ces 2 projets successifs ont exigé des évolutions importantes, avec l'introduction massive de la variabilité génétique et de la génétique quantitative, l'accroissement de nos débits de phénotypage, la gestion de grands jeux de données, et le développement de nouvelles procédures de modélisation.

- **J'ai consolidé la position du LEPSE à l'interface de disciplines multiples en renforçant les liens avec la biologie végétale dans une perspective génétique et agronomique.**

J'ai adapté nos compétences par des plans de recrutement et de formation appropriés.

En génétique, nos compétences se sont renforcées avec l'arrivée d'un ingénieur du GAP en 2003 (C Welcker) et des collaborations durables avec des généticiens d'autres unités (Versailles sur *Arabidopsis*, Moulon et Montpellier sur maïs, Toulouse sur tournesol et Montpellier et Bordeaux sur vigne).

En biologie moléculaire et cellulaire, l'essentiel de l'évolution des compétences a été fortement facilitée par notre rapprochement auprès de l'UMR BPMP, les conférences hebdomadaires de l'IBIP, et les collaborations avec Versailles, Gand (VIB), Gölml (MPI), Cologne (MPI) et Zurich (ETH).

En gestion et analyse des données, des collaborations actives ont été mises en place avec le Laboratoire d'Analyse des Systèmes et de Biométrie de Montpellier. Le plan de formation de l'unité a accordé une place importante à la gestion et l'analyse des données (logiciel R et langage MySQL principalement). J'ai obtenu le recrutement d'un ingénieur en système d'informations (2007) pour pérenniser les nombreuses actions engagées en partenariat et par des ingénieurs en CDD au LEPSE.

En modélisation, j'ai appuyé la mobilité d'un ingénieur (C Fournier, 2006), spécialiste en représentation informatique du développement des plantes, impliqué pour moitié de son temps dans la plate-forme OpenAlea de modélisation des plantes. Des collaborations plus éloignées (INRIA, école centrale de Paris) ont permis de développer de nouvelles approches de modélisation exigeantes en mathématiques appliquées (suivi : A. Christophe). Le recrutement d'un CR2 (D Vile, 2007) avec une bonne maîtrise en analyses multivariées a contribué au renforcement de nos compétences en modélisation statistique.

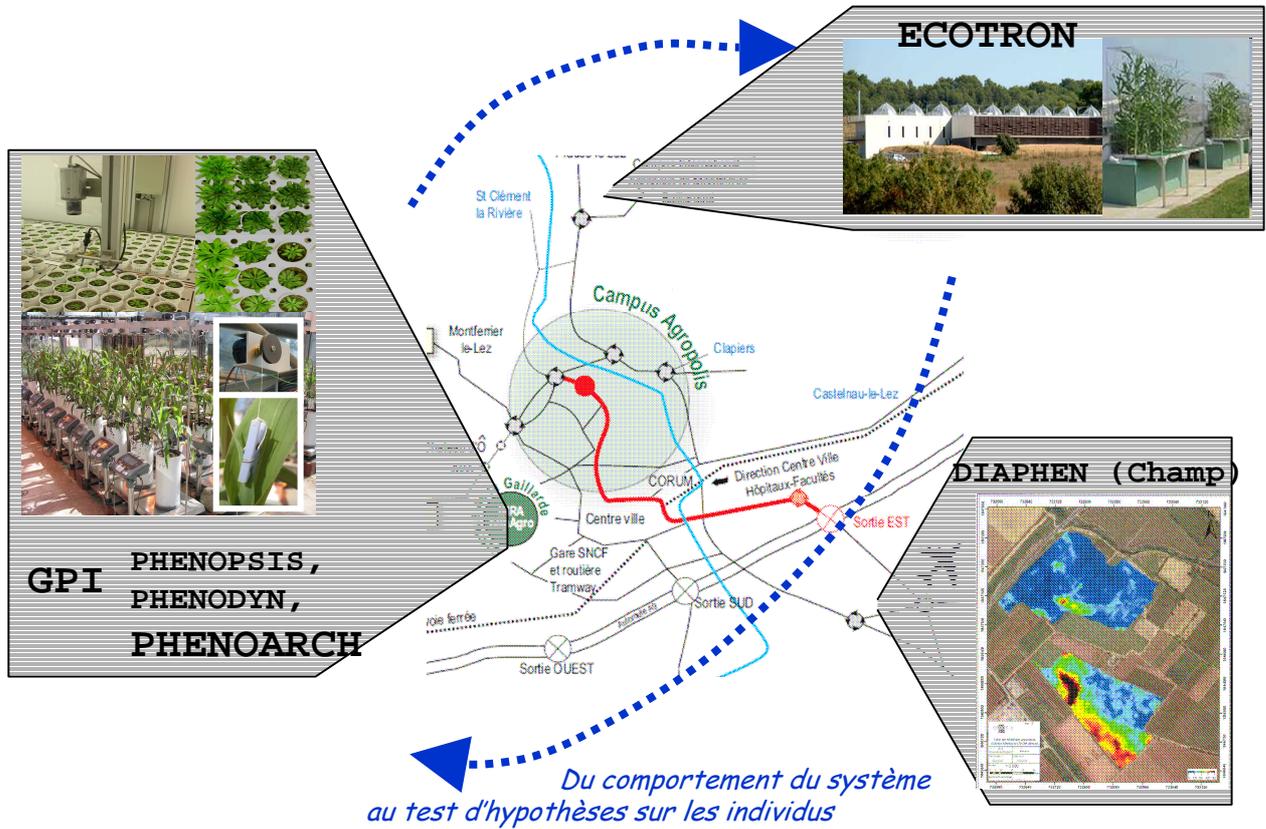
J'ai également veillé à la **professionnalisation des compétences techniques nécessaires au développement de nos installations de phénotypage**. J'ai défini les profils pour les recrutements d'un AT spécialisé en mesures physiques (2006), d'un TR spécialisé en électronique (2008), et finalisé un plan de formation individuel en gestion de grand instrument pour un AT (2009).

J'ai contribué à l'intégration du LEPSE dans des structures fédératives imbriquées.

J'ai défendu une intégration du LEPSE favorable à l'augmentation de la masse critique sur nos disciplines d'intérêt (écophysiologie, génétique, Biologie Végétale) et exigeante sur la qualité de la production scientifique attendue (qui a constamment gagné en impact et volume). Le rapprochement avec la Biologie Végétale a constitué un premier niveau de structuration. En 2005, j'ai consacré une partie importante de mon temps à la finalisation d'un plan quadriennal d'action commun avec l'unité BPMP (j'ai contribué à 3 des 4 contrats retenus dans ce cadre) et au déménagement dans un bâtiment neuf partagé avec cette unité pour constituer l'Institut de Biologie Intégrative des Plantes (IBIP). J'ai coordonné l'imbrication du LEPSE avec l'IBIP dans l'IFR 127 Daphné, dont le projet scientifique, cohérent avec celui du

• Complémentarités scientifiques

Des individus aux communautés



• Echanges de savoir-faire (instrumentation, bases de données...)

Figure 22. Les plates-formes de phénotypage du dispositif Montpellierain : un atout puissant pour développer les interfaces entre écophysiologie, biologie moléculaire, génétique, écologie et agronomie.

LEPSE, a permis de favoriser les échanges et l'optimisation des moyens avec les partenaires de Montpellier et Avignon en écophysiologie, génétique et modélisation. Le dernier niveau d'insertion a été celui du RTRA « Recherche agronomique et développement durable, Sud & Méditerranée ». Enfin j'ai assuré le lien pour l'unité avec l'école doctorale SIBAGHE, structurée autour d'un périmètre voisin.

- **J'ai coordonné la mise en place de la plate-forme « du gène au phénotype intégré ».**

Je me suis particulièrement investi dans le montage administratif et financier (voire technologique) de cette plate-forme adossée aux ambitions scientifiques de l'IBIP. La plate-forme doit rassembler à terme un continuum d'équipements pour l'étude des réponses des plantes aux facteurs environnementaux aux différentes échelles d'organisation du vivant. Elle comprend des espaces de culture pour les constructions génétiques, des espaces de conditionnement environnemental des plantes pour le phénotypage, des dispositifs automatisés pour le phénotypage à haut débit de la croissance et de la transpiration des plantes, et un ensemble de plateaux de phénotypage à débit plus réduit correspondant aux thématiques spécifiques des équipes de l'IBIP. J'ai bénéficié de l'aide des SDAR de Montpellier et de mon département INRA pour combiner des soutiens multiples (total approchant les 3 M€) et défendre les projets en particulier auprès de l'INRA (équipements lourds) et de la région Languedoc Roussillon (CPER) en collaboration avec C Grignon puis JF Briat (directeurs de BPMP).

Pour le LEPSE, cette action était particulièrement nécessaire par nos choix d'exploration de la variabilité génétique basés sur la recherche de caractères héréditaires dans de larges populations (lignées recombinantes de maïs ou d'*Arabidopsis*, plans diallèles chez le tournesol, etc).

Pour assurer la cohérence des différents dispositifs de phénotypage des plantes, je me suis impliqué dans les comités de pilotage ou d'utilisation des plate-formes voisines (Fig 22) : le projet DiaPhen de phénotypage au champ, porté par P Roumet (INRA, Montpellier), l'Ecotron, porté par J Roy (CNRS Montpellier), dédié à l'analyse des interactions entre individus (écosystèmes) ; la plate-forme du Groupe de Recherches Appliquées en Phytotechnologie (GRAP) au CEA de Cadarache, dont j'ai soutenu un projet récemment accepté par le comité IbiSA visant à exploiter les nouvelles technologies à diodes pour mieux gérer l'uniformité du rayonnement dans l'espace et ses fluctuations dans le temps. J'ai tiré parti de cette implication multiple pour mettre en relation les techniciens en charge de la mise en place de ces plates-formes. Des échanges sur les capteurs et les méthodes de gestion des données ont déjà eu lieu.

- **J'ai modifié la structuration interne du LEPSE pour démultiplier son potentiel de production scientifique en l'appuyant sur des collaborations de haut niveau.**

J'ai restructuré l'unité en 3 équipes organisées de manière plus opérationnelle autour des espèces et des méthodes de phénotypage associés à ces espèces (Fig 21). J'ai veillé à limiter le nombre d'espèces travaillées (*Arabidopsis*, maïs, tournesol et vigne) tout en défendant leur complémentarité. En créant l'équipe SPIC, animée par B Muller, j'ai voulu regrouper des moyens pour étendre nos actions sur *Arabidopsis*. J'ai aussi assuré un soutien important pour la participation des chercheurs et doctorants aux colloques internationaux, ce qui a contribué au bon ancrage de nos travaux à l'international. Cette structuration a ouvert de nouveaux espaces pour des chercheurs comme C Granier qui a pris en charge un volet important d'un projet Européen sur le déterminisme de la croissance foliaire. Les techniciens ont développé des compétences pointues sur les automates de phénotypage originaux associés aux travaux de leur équipe. J'ai contribué aux évaluations individuelles et à la préparation des concours des agents INRA. J'ai personnellement accompagné l'insertion de Denis Vile, CR recruté en septembre 2007, pour analyser l'impact de la transpiration sur la température perçue par les feuilles. Pour limiter les risques de cloisonnement entre équipes, j'avais organisé des réunions hebdomadaires d'unité et mis en place un conseil élu pour examiner et améliorer très régulièrement (mensuellement) les conditions et l'ambiance collective de travail ; la direction collégiale de l'unité (avec les 3 responsables d'équipes) assurait les prises de décision concertées quand nécessaire. Malgré cela, des évolutions dans les ambitions individuelles ont conduit à une recomposition en cours, à finaliser dans notre prochain projet (porté par B Muller).

5.2. Enseignement et encadrement de jeunes chercheurs

- **Enseignement lié à ma thématique de recherche**

Je participe régulièrement aux enseignements de 3^{ème} cycle, le plus souvent sur les formations universitaires (Univ Montpellier 2), plus rarement celles d'ingénieur (SupAgro). Mes interventions concernent **la régulation des échanges gazeux (vapeur d'eau et CO₂) entre la plante et l'atmosphère, avec un accent particulier sur les mécanismes biophysiques et moléculaires de contrôle de l'ouverture stomatique, et sur la formalisation mathématique des lois de réponse.** J'insiste sur les apports de la modélisation hiérarchisée des processus.

Année	Maîtrise / M1	DEA / M2	Doctorat	Post-Doctorat	Situation
1991		J.-P. Goutouly (1)			IR INRA
1994		T. Lafarge (1)			CR CIRAD
1995		C. Borel (1)			CR INRA
1996			C. Borel (4)		
1997					
1998	H. Perino M Lechaudel				? ?
1999	O. Marchioro	O. Bouchabke A. Pellegrino (1)	O. Bouchabke (1)		? MCF SupAgro
2000					IR INRA
2001	A. Finiels			E Hosy (1)	?
2002	M. Chéron				?
2003	A. Lebaudy				Post-doc
2004		A. Lebaudy (1)		A Lebaudy (2)	
2005			C. Ehlert (1)		
2006					Food security Parme
2007	F. Deloge				Doc BPMP
2008		F. Pantin	F. Pantin	M Mahdid	A-L Fanciullino CR INRA
2009		M. Belluau			?

Table 2. Encadrements de masters, doctorats et post-doctorats.

En gras : encadrement à 100 % (M1 et M2) ou suivi direct (Doctorats) sous direction de F Tardieu (HDR), B Muller (HDR) ou H Sentenac (HDR).

En maigre : encadrement partiel (co-encadrement).

Entre parenthèses : nombre d'articles de rang A co-publiés avec la personne encadrée.

- **Enseignement (et transfert de savoir faire) lié aux méthodes de modélisation**

J'ai construit un cours/TD sur la régression non linéaire qui résume les problèmes spécifiques à la régression non linéaire, balaye les outils disponibles pour l'ajustement des paramètres ; j'offre une première prise en main au moyen d'une feuille Excel® que j'ai construite pour comparer plusieurs traitements (ou génotypes) par un test de Fisher. Cette dernière application a largement diffusé au sein de l'unité : elle a été utilisée dans plusieurs publications de mes collègues.

- **Membre du comité de Direction du pôle EVAP de l'université Montpellier 2.**

Le devenir des étudiants accueillis au LEPSE montre qu'une formation pluridisciplinaire, équilibrée entre biotechnologies et approches quantitatives pour appréhender les relations entre la plante entière et l'environnement, répond à un besoin substantiel du monde de la recherche publique ou privée. Les cursus universitaires actuels souffrent de déficits de formation en approches quantitatives, en physiologie de la plante entière et de ses interactions avec le milieu physique. Le pôle de recherche végétal montpelliérain regroupe de nombreuses compétences qui permettraient de combler ces déficits. Ces compétences sont regroupées dans un des 5 secteurs du pôle "Environnement, Vie, Agroalimentaire, Planète" (EVAP) de l'université Montpellier 2. Ma participation à son comité de direction s'inscrit dans cette perspective.

- **Membre de réseaux d'animation scientifique**

« **Xylème et croissance** ». J'ai organisé une réunion du réseau à Montpellier en 2003, et propose d'intégrer une session aux Journées d'Ecologie Fonctionnelle à Montpellier en 2010.

Bureau de l'atelierM, cellule d'animation sur la modélisation à l'INRA. Mon activité s'est pour l'instant limitée à l'insertion d'un module d'initiation à la modélisation des systèmes au cours d'une école chercheurs en biologie intégrative (Batz/mer, 2006). Mais les 2 à 3 réunions annuelles m'ont permis d'améliorer ma vision sur les compétences en modélisation à l'INRA et dans son environnement proche.

- **(Co)-encadrement de thèses en cours (voir historique Tab. 2)**

M Mahdid (direction Pr Khameli, ENS Vieux Kouba à Alger ; fin en 2010) ; rôles respectifs de l'ABA et de l'ajustement osmotique dans la réponse de la croissance foliaire de 4 variétés de blé dur face à une contrainte hydrique, à court terme (quelques heures) et à plus long terme (quelques jours).

F Pantin (direction B Muller, LEPSE, fin en 2011) ; interactions entre limitations hydraulique et métabolique de la croissance foliaire chez *Arabidopsis thaliana*.

C Taochy (direction H Sentenac, BPMP Montpellier ; fin en 2012) ; rôle de transporteurs d'efflux de nitrate dans le contrôle stomatique et la croissance en condition de stress hydrique ou salin.

5.3. Participation à des jurys de thèse et de recrutement

J'ai participé à un jury de recrutement de CR pour l'INRA, et 3 jurys de thèse comme examinateur.

5.4 Expertise et consultance (actions ponctuelles principales)

Je maintiens le LEPSE en position de laboratoire ressource pour le dosage radio-immunologique de l'ABA que j'ai importé du JIC Norwich en 1993 (en moyenne une demande externe/an) (BARRIEU *et al.* 1998) . j'ai évalué la pertinence du dosage de l'ABA dans le xylème (BOREL *et al.* 2002). J'appuie une TR de l'équipe pour adapter les protocoles d'échantillonnage d'extraction et de dosage. L'interprétation des résultats peut conduire à des co-signatures .

Je suis régulièrement sollicité par les collègues du LEPSE pour proposer des formes mathématiques adaptées aux relations qu'ils mettent en évidence graphiquement. Pour **estimer les paramètres de modèles non linéaires complexes**, j'ai également adapté d'anciens programmes développés à l'INRA (HAUSS 59) que j'ai mis en œuvre dans le cadre de thèses que j'ai (co)encadrées.

J'ai collaboré avec l'Institut Technique de la Vigne de 1999 à 2002 sous l'impulsion d' E Lebon (LEPSE) pour mettre au point des indicateurs de suivi de l'état hydrique de la vigne.

J'ai contribué à une prospective sur la place du végétal au CNRS (conduite :J Joyard, 2008).

J'ai écrit un rapport pour l'AFSSA en 2009 sur « les risques pour les abeilles liées aux sécrétions extra-florales chez le maïs pouvant contenir des résidus de pesticides ».

5.5 Contributions à l'évaluation de la recherche

Je suis membre nommé de la CSS EGBIP : j'y confronte mon expérience à l'interface entre écophysiologie, génétique, biologie moléculaire et cellulaire, avec les parcours des collègues impliqués dans des approches multidisciplinaires comparables. J'essaie de guider mes collègues sur ces bases.

J'ai évalué 3 UMRs (toutes pluridisciplinaires) dont une en qualité de président.

J'évalue 3 à 4 articles par an, essentiellement pour les revues dans lesquelles je publie.

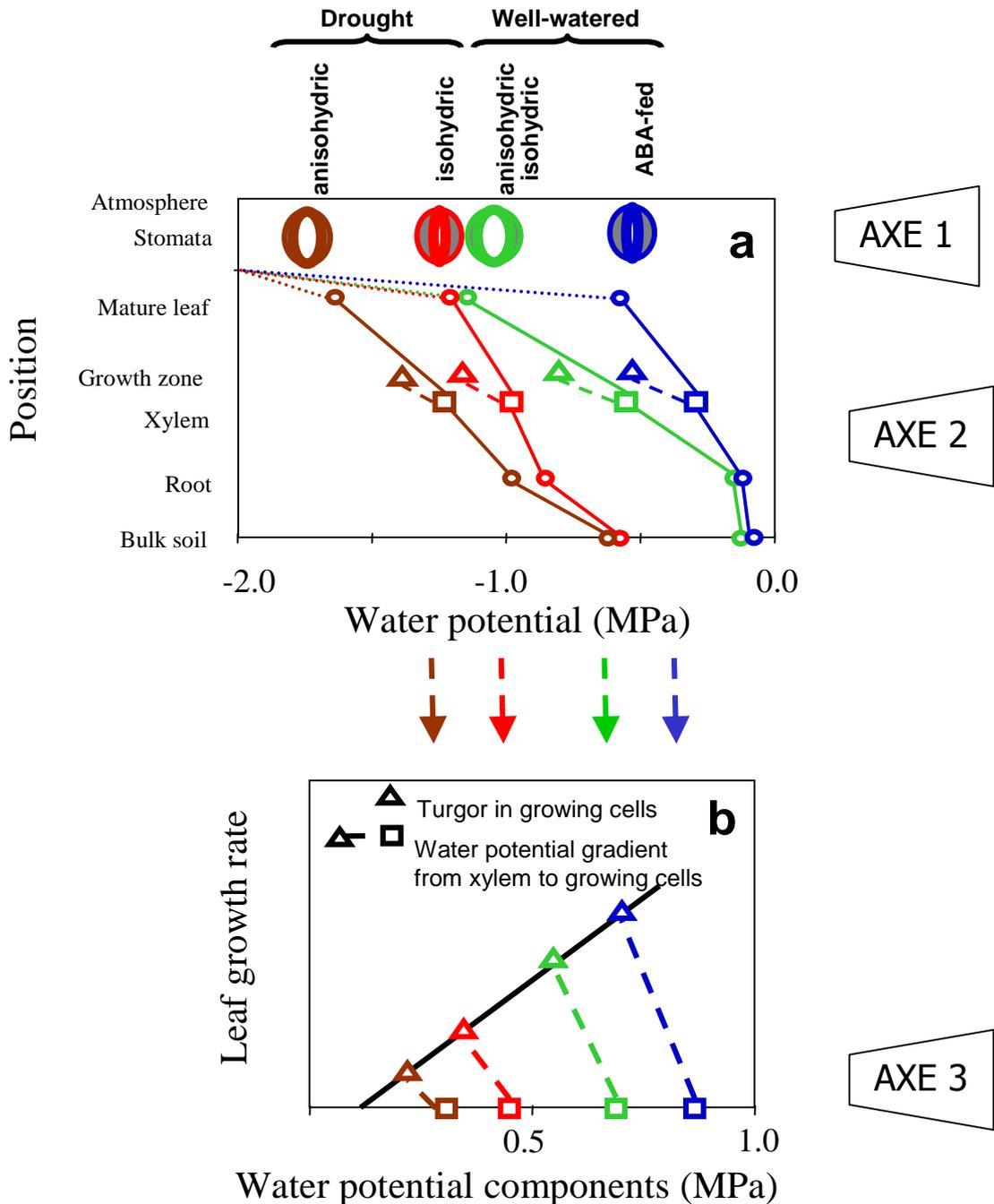


Figure 23. Représentation schématique du couplage entre modèle de transfert hydrique (a) et modèle de croissance (b) et position de mes 3 premiers axes de recherche pour progresser dans l'intégration des processus.

- (a) Le modèle de transfert d'eau permet de calculer les gradients de potentiels hydriques le long de la plante en fonction de la demande évaporative, du potentiel hydrique dans le sol, d'un modèle stomatique (AXE 1) et des conductances hydrauliques sur chaque maillon (AXE 2).
- (b) Le modèle de Lockhart permet de calculer l'impact des niveaux de potentiels hydrique (plus exactement de la turgescence dans la zone en croissance sur l'allongement foliaire. La ligne pleine représente la première équation du modèle de Lockhart selon laquelle la vitesse de croissance varie linéairement avec la turgescence (triangles). La pente de cette droite dépend des propriétés rhéologiques des tissus. La droite en pointillés représentent la 2ème équation de Lockhart qui relie la croissance, équivalente à une entrée d'eau, au potentiel du xylème. La pente de la droite est donnée par la conductance hydraulique sur le trajet depuis le xylème jusqu'au cellules en croissance. L'ordonnée à l'origine dépend du potentiel osmotique dans les cellules en croissance (AXE 3).
(D'après *Tardieu et al.* à paraître)

6. PROJET : CONTROLE HYDRAULIQUE DE LA CROISSANCE ET MODELISATION INTEGRATIVE DE L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'EAU PAR LES PLANTES.

Mon projet s'inscrit dans la continuité mes travaux sur la limitation hydraulique de la croissance. Il vise à identifier de nouveaux déterminants physiologiques du contrôle de l'expansion foliaire et leurs modes d'interactions avec l'environnement à l'échelle de la plante entière. En plaçant la turgescence des tissus en croissance au cœur de mon analyse, je compte focaliser sur les mécanismes qui en modulent la valeur. Les régulations des flux d'eau à l'entrée de la plante (régulation de l'absorption) et à sa sortie (contrôle stomatique de la transpiration) restent donc des cibles d'étude privilégiées. Mais je souhaite ouvrir de nouveaux chantiers sur le rôle des flux de solutés dans les zones en croissance, déterminant essentiel de la pression d'origine osmotique. Mes collaborations me permettent également d'examiner le rôle des aquaporines dans l'approvisionnement en eau au sein de ces zones en croissance. Je souhaite généraliser le recours à la modélisation pour assembler les différents processus en jeu (en particulier ceux analysés par mes collègues d'équipe) et être ainsi en mesure d'évaluer l'impact quantitatif des différents déterminants. Enfin, par l'analyse conjointe des processus de croissance et de consommation d'eau, je propose une nouvelle analyse de la variabilité de l'efficacité d'utilisation de l'eau par les plantes. Le contexte d'une compétition accrue pour l'usage de l'eau et les besoins de production de biomasse à vocation énergétique rendent cet objectif ultime de mes travaux particulièrement cohérent avec les priorités de l'INRA.

A travers ces choix, je souhaite renforcer ma position d'interface avec la biologie végétale en particulier au sein de l'IBIP, en conservant une cohérence avec le projet scientifique du LEPSE :

- participer à l'identification de processus à l'échelle moléculaire, cellulaire ou tissulaire, à fort impact quantitatif sur les flux d'eau, l'état hydrique dans les organes et/ou le contrôle hydraulique de la croissance en réponse à des fluctuations environnementales (climat et salinité) ;
- faire évoluer les formalismes mathématiques et les méthodes associées utilisables pour le phénotypage.

6.1. Principaux axes de travail

Pour structurer mes actions, je propose de compléter la modélisation dynamique des transferts d'eau dans la plante que j'ai présentée dans mon rapport et d'y adjoindre le cadre d'analyse proposé par LOCHKART (1965) qui permet une décomposition rationnelle du processus complexe de croissance (Fig 23).

Les axes de travail que je retiens s'inscrivent dans cette décomposition des processus. Les priorités correspondent soit à des limites identifiées pour la modélisation intégrative du contrôle hydraulique de la croissance, soit à de nouvelles pistes à explorer. Je recense ainsi 3 axes de travail complémentaires mais qui permettent des avancées indépendantes et un 4^{ème} axe plus intégratif.

- **Axe 1. Contrôle stomatique : décomposer les flux d'eau (et de solutés) entre les différents types cellulaires pour affiner les modèles de réponse aux variables environnementales et les mettre à l'épreuve d'une intégration sur de longues périodes.**

Eclaircir la réponse au VPD. Je propose de repartir de l'instabilité des modèles de réponse des stomates à la demande évaporative. Les mécanismes sous-jacents restent très discutés. L'accumulation d'ABA ou d'osmolytes déchargés par le flux transpiratoire sur les parois des cellules de garde est une hypothèse en cours d'exploration dans d'autres laboratoires (OUTLAW et DE VliegHERE-HE 2001). Je compte explorer une seconde hypothèse basée sur les chutes de turgescence induites dans les feuilles par l'augmentation de la demande évaporative et de la transpiration, en tenant compte de la contre pression exercée par les cellules péristomatiques (FRANKS et FARQUHAR 2001). Il existe déjà des modèles qui distinguent ces différentes catégories de cellules dans la feuille (DEWAR 1995, 2002). Ils sont cohérents en théorie avec la variabilité des réponses au VPD. Je compte les évaluer, en m'appuyant sur l'utilisation de mutants dérégulés sur l'un des mécanismes qui distinguent le fonctionnement des cellules de garde (systèmes de transport ioniques membranaires spécifiques aux cellules de garde par ex).

Evaluer le rôle de la cuticule à court et long terme. Les pertes d'eau à travers la cuticule, pourraient avoir un effet plus marqué sur la turgescence des cellules de garde que sur le reste des cellules de la feuille (KERSTIENS 1998). Je souhaite évaluer cette hypothèse et ses conséquences sur la variabilité des réponses stomatiques au VPD en m'appuyant sur une collaboration initiée avec J Joubès (biogenèse membranaire, Bordeaux) qui dispose à la fois de variants génétiques affectés dans la synthèse des cires cuticulaires, et des moyens d'analyser les réponses en termes biochimiques et enzymatiques. Ce contexte est également favorable à l'étude du rôle de la cuticule dans les réponses adaptatives au déficit hydrique à plus long terme. Des approches génétiques plus massives (couplées par ex avec les travaux de C Granier) pourraient permettre d'identifier, parmi les variations d'épaisseur, de composition ou de structure de la cuticule, les composantes reliées à sa perméabilité, question qui reste ouverte (BURGHARDT et RIEDERER 2007).

Tenter d'expliquer le mode d'interaction entre potentiel hydrique et concentration en ABA en situation de déficit hydrique. La décomposition des réponses hydriques entre les différents types cellulaires offre également un cadre théorique pour interpréter cette interaction. La comparaison d'espèce iso- ou anisohydriques pourrait être l'occasion de tester si le niveau d'interaction entre ABA et potentiel hydrique est bien à l'origine de cette classification.

Evaluer le rôle de la perméabilité hydraulique transmembranaire. Le modèle théorique de DEWAR (1995, 2002) prévoit qu'une augmentation de la perméabilité hydraulique des cellules de garde conduit à une moindre sensibilité des stomates au déficit de saturation de l'air. L'évaluation expérimentale pourrait être conduite en collaboration avec C Maurel (BPMP, Montpellier) et B Genty (DEVM, CEA Cadarache) qui ont engagé un projet dans ce sens. Sauf développement de matériel génétique approprié, les techniques pharmacologiques utilisées sur racines pourraient être reprises sur feuilles. La collaboration initiée avec l'équipe de C Maurel, dans le cadre de la thèse de F Pantin que je co-encadre, permettra une première caractérisation de variants génétiques manipulés sur l'expression des aquaporines majoritairement exprimées dans le plasmalemmme des tissus foliaires.

Poursuivre l'analyse du rôle des transports d'ions en focalisant sur les réponses dynamiques aux changement de conditions lumineuses ou d'humidité. L'ensemble de mes travaux sur le rôle des régulateurs de transport ionique dans les cellules de garde suggère une implication faible dans les niveaux stationnaires d'ouverture stomatique, mais un rôle plus marqué dans les dynamiques de fermeture ou d'ouverture. Je souhaite tester si des mutants présentent des contrastes marqués de l'utilisation de l'eau sur des périodes de plusieurs jours, en conditions lumineuses et/ou d'humidité très fluctuantes.

- **Axe 2 : approvisionnement en eau des cellules en croissance : rôle des aquaporines.**

Explorer les sources de variations environnementales et génétiques de L_p chez les plantes d'intérêt agronomique en parallèle aux travaux de C Maurel sur *Arabidopsis*. Mes travaux sur le rôle des aquaporines en collaboration avec C Maurel ont permis de guider l'analyse des transformants ABA conduite par F Tardieu (PARENT *et al.* 2009), en montrant qu'il existait des contextes génétiques dans lesquels on retrouvait une variabilité de L_p , avec un impact sur la croissance foliaire. Je souhaite poursuivre dans cette voie en étendant à terme l'analyse à d'autres contextes génétiques et environnementaux (stress salin). Dans le cadre d'un projet AgroBI, j'ai développé des méthodes de caractérisation des réponses de la croissance et de l'absorption d'eau qui, combinées à la modélisation, permettraient de scruter assez rapidement les liens avec la variabilité de L_p , en dépassant les limites des méthodes sur racines excisées. Ce travail serait entrepris dans le cadre des projets conduits par F Tardieu ou C Maurel.

Evaluer le rôle des aquaporines dans les tissus foliaires en expansion (Coll C Maurel). Je co-encadre actuellement une thèse (F Pantin, direction B Muller, LEPSE) qui vise à explorer les interactions entre contrôles hydraulique et métabolique de la croissance. Les résultats obtenus à ce jour montrent que l'influence hydraulique s'amplifie au cours du développement de la feuille alors que l'influence métabolique s'atténue. Nous examinons l'ensemble des déterminants qui conditionnent l'équilibre entre les capacités d'approvisionnement en eau des cellules en expansion et la sollicitation de leur contenu en eau par la transpiration. Dans ce cadre, nous entreprenons l'analyse de l'expression des aquaporines dans les tissus en croissance à différents stades de développement.

- **Axe 3 : ajustement osmotique ; revisiter son rôle dans les zones en croissance en combinant l'analyse des flux de solutés avec l'analyse des flux d'eau.**

L'ajustement osmotique correspond à l'accumulation active de solutés dans les cellules en réponse à une baisse de potentiel hydrique du sol. Il permet le maintien plus ou moins complet de la turgescence dans les cellules (MORGAN 1984). On peut donc attendre que des capacités d'ajustement osmotique optimales permettent un maintien de la croissance en conditions de déficit hydrique ou de stress salin. Mais les liaisons entre maintien du rendement en conditions sèches et ajustement osmotique restent cependant discutables (SERRAJ et SINCLAIR 2002). Pourtant, nos observations (BOUCHABKE *et al.* 2006) en déficit hydrique et celles d'autres auteurs (FRICKE et PETERS 2002) en stress salin soulignent que l'ajustement osmotique dans les zones en croissance est souvent imparfait. Ces conclusions divergentes pourraient provenir de la nature des organes examinés. Je propose de concentrer l'analyse de l'ajustement osmotique dans les zones en croissance, alors que de nombreux travaux passés les distinguaient peu ou pas des tissus matures.

Combiner les outils pointus du LEPSE avec les approches moléculaires pour l'analyse des flux de solutés dans la zone en croissance. J'ai importé et mis en œuvre (Coll D Tomos, Univ Bangor UK) une technique de mesure du potentiel osmotique intracellulaire qui permet de focaliser sur les zones en croissance. Cette technique, combinée à l'utilisation de mutants ou transformants altérés dans le transport des solutés à rôle osmotique majeur, offre un contexte favorable pour tester si le rôle des flux de solutés dans le contrôle de la turgescence des cellules en croissance mérite d'être exploré plus avant. Deux contextes génétiques chez *Arabidopsis* peuvent être étudiés dans un proche avenir : un mutant affecté sur le transport de nitrates (thèse C Tauchy, coll. H Sentenac, BPMP, Montpellier) et des mutants altérés dans

les flux de sucres (thèse F Pantin, coll B Muller, LEPSE). Des variants génétiques de riz (étudiés par AA Véry, BPMP Montpellier) pourraient également servir de support à cette problématique.

Articulation possible avec les travaux d'O Turc (LEPSE) sur les organes reproducteurs. Chez le maïs, un ajustement osmotique important durant la croissance reproductive, souvent jugée sensible au déficit hydrique, est favorable pour éviter l'avortement et maintenir le nombre de grains formés sous stress hydrique. Cela pourrait être lié à la vitesse de croissance des soies qui répond à la contrainte hydrique de manière très similaire aux feuilles. Le rôle des flux de solutés dans ces organes en croissance pourrait également être examiné sur du matériel contrasté sur le plan phénotypique.

• **Axe 4 : Coupler croissance et transpiration pour cerner l'origine de la variabilité génétique et environnementale de l'efficacité d'utilisation de l'eau (EUE).**

Jusqu'à présent, les travaux du LEPSE ont traité séparément l'analyse de la croissance et celle de la transpiration. Cette approche a permis de dépasser le résultat grossier que les plantes les plus petites résistent le mieux à l'absence d'apport d'eau. Mais pour identifier des cultures qui valorisent pleinement les ressources avec une production acceptable, il est nécessaire d'optimiser à la fois l'utilisation de l'eau et la production en examinant les couplages entre les 2 processus de croissance et de consommation d'eau.

Pari sur un rôle limitant de la croissance sur la photosynthèse nette en conditions de déficit hydrique. Il s'agit de renverser la proposition habituelle selon laquelle l'assimilation du C lors de la photosynthèse est l'étape limitante pour l'accroissement de biomasse. En partant du constat que les plantes élevées sous déficit hydrique ont des teneurs en sucres égales ou supérieures à celles des plantes témoins, il est raisonnable d'avancer l'hypothèse inverse: il s'agirait donc de tester l'hypothèse d'un rétrocontrôle de la photosynthèse nette par la vitesse de croissance des organes, elle-même définie, en conditions de déficit hydrique, par d'autres processus indépendants de l'assimilation du Carbone (axe 3). Cette hypothèse me permettrait d'entreprendre une modélisation de l'EUE en agrégeant les résultats de mes travaux et ceux d'autres collègues. Il est probable que l'hypothèse que j'introduis pour cela ne sera pas suffisante pour rendre compte des situations observées. On sait déjà que l'état des réserves carbonées est fluctuant (ce qui suppose une marge d'indépendance entre entrée du carbone et utilisation pour la croissance) et qu'il semble influencer négativement sur la conductance stomatique. Mes collaborations en cours avec B Muller, basées sur l'analyse des pools carbonés dans des mutants d'*Arabidopsis* affectés sur le métabolisme carboné, pourraient permettre d'éclaircir ce point.

Ouvrir un chantier sur l'analyse de l'extensibilité des tissus en croissance. Si l'hypothèse ci-dessus s'avérait pertinente, la question du déterminisme de l'EUE serait renvoyée sur le déterminisme de l'inhibition de la croissance sous déficit hydrique. La décomposition de LOCKHART (1965) montre bien que la limitation hydraulique par le niveau de turgescence n'est qu'un volet (Fig. 23b). La baisse d'extensibilité des tissus constitue le volet complémentaire de cette analyse. J'ai évoqué une première approche de cette question avec B Muller dans le cadre de la thèse de F Pantin (coll B Moulia, UMR PIAF, Clermont-Fd).

Explorer des scénarios pédo-climatiques moins artificialisés. Les questions actuelles ne portent pas nécessairement sur la nature des déterminants de l'EUE, en grande partie connus, mais sur la contribution des différents déterminants à l'EUE et leurs interactions. Ces aspects quantitatifs n'ont pas d'intérêt chez des plantes modèles et des conditions trop éloignées des systèmes agronomiques. Au LEPSE, la vigne (étudiée par E Lebon) pourrait être un objet d'étude pertinent.

6.2. Les moyens et techniques à déployer

J'envisage la mise en œuvre de mon projet au sein de mon unité actuelle. A l'approche de la fin de mon mandat de Directeur d'Unité, je souhaite déployer les différents axes de mon projet en m'appuyant sur les collaborations que j'ai citées. Ils constituent la base de nouveaux projets à déposer lors de prochains appels d'offre. Mon implication partielle dans les contrats de mes collègues me permet de disposer de moyens financiers dans les mois qui viennent. Ce contexte est favorable au développement des techniques suivantes dont j'ai mentionné la nécessité plus haut :

- L'observation in situ des stomates : je compte explorer sa faisabilité dans le cadre de mes collaborations avec l'équipe « canaux » (JC Boyer, BPMP Montpellier), et avec l'appui du plateau d'imagerie PHYV de Montpellier (JL Verdeil) qui dispose d'un microscope environnemental.
- Les mesures d'échanges gazeux à court pas de temps : M Dauzat (AI au LEPSE) collabore avec les fournisseurs pour faire évoluer les équipements dans ce sens.
- Les mesures de turgescence dans les cellules de garde (d'*Arabidopsis*) : mes contacts avec les équipes expertes et l'appui de Ph Hamard (AI au LEPSE) sont nécessaires pour lever les difficultés actuelles.
- L'analyse de l'enrichissement naturel en ¹³C dans les feuilles, qui caractérise l'EUE, pourrait être développée sur le plateau national d'analyses isotopiques hébergé dans l'UMR BPMP (resp. P Tillard).
- Les mesures d'extensibilité des tissus : à développer. Contacts avec B Moulia (UMR PIAF, Clermont-Fd).

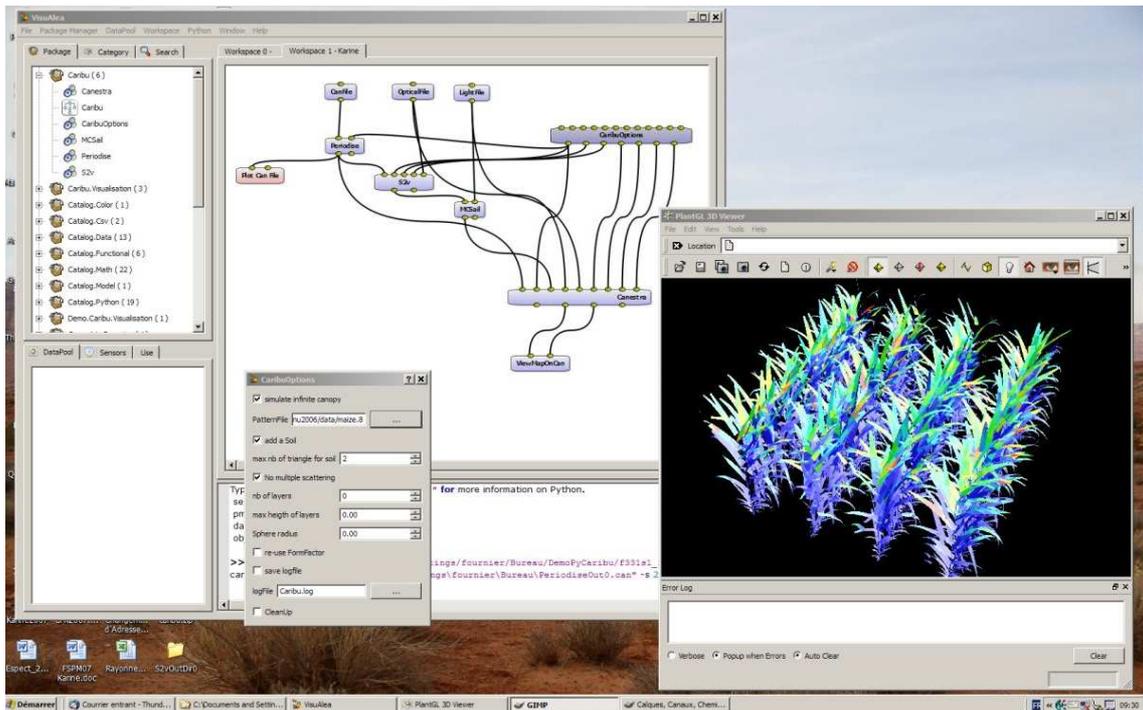


Figure 24. La plate-forme OpenAlea, projet collaboratif INRIA / INRA/ CIRAD de modélisation des plantes, offre une architecture modulaire et conviviale pour une approche de modélisation telle que je compte l'entreprendre dans mon projet.

6.3. Fil rouge : investir la plate-forme de modélisation des plantes OpenAlea

OpenAlea est une plate-forme focalisée sur la modélisation de l'architecture des plantes. Elle inclut des modules de représentation, d'analyse et de modélisation de la croissance et du développement dans l'espace à différentes échelles (du méristème à la plante entière). La plate-forme est conçue pour permettre l'intégration la plus intuitive possible de modèles existants (Fig 24). Elle offre ainsi une grande flexibilité pour la création de nouvelles applications. Je propose donc de m'y appuyer, en profitant de la présence au LEPSE d'un ingénieur (C Fournier) rattaché à cette plate-forme, pour répondre à plusieurs objectifs.

- **Capitaliser et assembler les éléments de modélisation issus de mes propres travaux.**

Je propose d'importer mon modèle de simulation dynamique des transferts d'eau dans la plante. Il sera évalué sur les plans mathématique et informatique face à des solutions plus génériques sur les modèles dynamiques de transferts à compartiments qui pourraient être importés dans la plate-forme de modélisation et face à des solutions existantes équivalentes (contacts avec A Tuzet , AgroParisTech, et A Lacoite UMR PIAF pour le modèle RATP). Ces dernières confrontations nourriront une réflexion sur la subdivision des modèles en composantes équivalentes.

Je propose de poursuivre par l'intégration d'un module de croissance fondé sur le formalisme de LOCKHART (1965). Ce formalisme simple me paraît adapté au couplage ultérieur avec d'autres processus de contrôle de la croissance (via l'extensibilité). Une difficulté mathématique est à prévoir, liée au caractère évolutif de la structure du système au fur et à mesure que les organes croissent. J'aurai besoin rapidement d'une solution pour mes collaborations avec C Maurel sur le rôle intégré des aquaporines (Axe 2 de mon projet).

Il s'agira enfin de coupler les modules hydraulique et de croissance avec le modèle de contrôle stomatique fondé sur le rôle de l'ABA. La principale difficulté à envisager ici est la gestion coordonnée des pas de temps qui n'ont pas les mêmes exigences suivant les modules (résolution d'équations différentielles par ex).

Cette action pourrait s'inscrire dans le cadre du prochain projet européen DROPS coordonné par F Tardieu et pourrait en grande partie être pris en charge par C Fournier (LEPSE).

- **Intégrer les modèles (sub)cellulaires sur les 3 premiers axes de mon projet.**

Axe 1 : il s'agira ici d'introduire les distinctions entre types cellulaires (cellules de garde, épidermes, mésophylle) et de formaliser leurs relations avec l'architecture hydraulique de la feuille. J'aurai besoin de ce support pour analyser l'origine des variations du contrôle hydraulique de la croissance chez la jeune feuille au cours de son développement (thèse en cours F Pantin, LEPSE).

L'intégration de modules décrivant la signalétique intracellulaire dans les cellules de garde me paraît prématurée. Les approches existantes sont trop qualitatives (LI *et al.* 2006). Un point pourra être fait en fonction de l'avancement des travaux de JB Thibaut (BPMP Montpellier) sur la modélisation du potentiel de membrane, élément central dans le contrôle des flux de solutés et d'eau dans les cellules de garde.

Axe 2 : L'analyse du rôle des aquaporines dans le contrôle de l'état hydrique des différents organes de la plante et dans l'approvisionnement en eau des zones en croissance pourrait nécessiter une description spatialisée des tissus impliqués. Des différences de structure histologique dans les racines (décrites pour certains écotypes d' *A. thaliana*) pourraient expliquer 1) des contributions différentes des aquaporines dans la résistance aux transferts d'eau et par conséquent 2) des sensibilités différentes aux facteurs d'inhibition (naturels ou artificiels) de l'activité de ces protéines.

Le couplage avec un modèle subcellulaire de régulation post-traductionnelle de l'activité des aquaporines (C Maurel, BPMP ; M Rossignol , LPF Montpellier) pourrait être envisagé pour prendre en compte certains acteurs moléculaires impliqués dans la perception des contraintes.

Axe 3 : Il s'agira ici d'adjoindre de nouvelles espèces chimiques (autres que l'eau) dans les modèles de transfert notamment au niveau des zones en croissance afin d'être en mesure d'y modéliser les variations de potentiel osmotique. Une première tentative pourra être faite en considérant les flux d'osmolytes globaux. Mais les travaux en cours en collaboration avec B Muller (thèse F Pantin) suggèrent que la diversité des espèces chimiques participant aux variations osmotiques (au minimum hexoses, saccharose, NO_3^- et K^+) devra être prise en compte. L'introduction de mutants sur des transporteurs de nitrates (thèse de C Taochi en co-direction avec H Sentenac) impliquera nécessairement d'autres espèces chimiques.

- **Evaluer les procédures d'optimisation dans OpenAlea sur le 4^{ème} axe de mon projet.**

Le recours à la modélisation sera indispensable pour tenir compte des multiples déterminants connus de l'EUE. Les techniques d'optimisation pourraient permettre de proposer des solutions théoriques par ex. sur le type de réponse stomatique idéal qui permettrait une croissance maximale dans un scénario pédo-climatique donné. De même, l'analyse de sensibilité devrait permettre de hiérarchiser les processus les plus

importants ; cela permettrait de concentrer les efforts de recherche d'une part, et d'alimenter de façon parcimonieuse (économique en processus) les modèles d'analyse de la variabilité génétique d'autre part.

- **Confronter les alternatives de modélisation au sein d'une communauté élargie.**

Cet objectif pourrait faire l'objet d'un appel à propositions pour recenser les initiatives envisageables et les partenaires favorables. Les actions ci-dessous ne sont que des exemples.

Axe 1 : je souhaiterais impliquer les collègues concernés par la thématique du contrôle stomatique pour qu'ils intègrent différents modèles dans OpenAlea. Cette activité pourrait faire l'objet de projets communs (je pense par ex à confronter les approches hormonale et hydraulique de la signalétique du stress hydrique dans des expérimentations communes avec A Tuzet, AgroParisTech).

Axe 2 : une collaboration avec l'unité Climat Sol et Environnement d'Avignon (C. Doussan) pourrait permettre d'aller plus loin sur le rôle limitant des résistances au transfert d'eau grâce au couplage de nos modèles avec les modèles de transfert d'eau sol-racine.

Axe 3 : les modèles d' A Lacoïnte (UMR PIAF Clermont-Ferrand) ou de G Vercambre sur ligneux (UMR PSH Avignon) et de M Génard sur fruit (UMR PSH Avignon) pourraient être rapprochés ici.

7. CONCLUSION

Je pense proposer un projet ambitieux, avec une certaine prise de risques, mais réaliste au regard de mes acquis et de mon contexte de travail actuel. Il répond aux attentes de mon institut dans le domaine de la biologie intégrative verticale avec des objectifs prédictifs. Il s'appuie sur des relais et des compétences proches en modélisation, en biologie cellulaire et moléculaire. Certaines pistes de travail que j'ai brièvement décrites sont engagées (en général via des co-encadrements). Les autres pistes citées dans mon projet constituent les fondements de sujets d'étude pour l'accueil d'étudiants désireux d'acquérir des compétences recherchées par nos partenaires publics et privés. La capacité à faire communiquer les disciplines constitue une de ces compétences que j'ai progressivement intégrée dans mes activités. Les deux évolutions majeures que je propose tiennent dans le rôle central que doit jouer la modélisation (j'envisage éventuellement un séjour sabbatique pour renforcer mes compétences) et dans l'extension de mes objectifs vers l'optimisation conjointe de l'utilisation de l'eau et de la production. Ce dernier aspect, qui n'a de sens que dans un contexte agronomique (voire écologique), devra certainement s'appuyer sur de nouvelles collaborations. L'avancée de mon projet serait facilitée par la consolidation d'un réseau qui pourrait communiquer à travers la plate-forme de modélisation OpenAlea.

ANNEXE : Références citées

- Amigues JP, Debaeke P., Itier B., Lemaire G., Seguin B., Tardieu F., Thomas A. (éditeurs) (2006) Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport. In INRA, ed, Paris (France). p 72 p.
- Ball JT, Woodrow IE, Berry JA (1987) A model predicting stomatal conductance and its contribution to the control of photosynthesis under different environmental conditions. *Progress in photosynthesis research* IV, 221-224.
- Boyer JS, Silk WK (2004) Hydraulics of plant growth. *Functional Plant Biology* 31: 761-773
- Breshears DD, Cobb NS, Rich PM, Price KP, Allen CD, *et al.* (2005) Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 15144–15148.
- Burghardt M, Riederer M (2007) Cuticular Transpiration. In *Biology of the Plant Cuticle*, Markus Riederer, Caroline Müller (Eds). 292-311.
- Calvet JC, Rivalland V, Picon-Cochard C, Guehl JM (2004) Modelling forest transpiration and CO₂ fluxes - response to soil moisture stress. *Agricultural and Forest Meteorology* 124: 143-156
- Cattivelli L, Rizza F, Badeck FW, Mazzucotelli E, Mastrangelo AM, Francia E, Mare C, Tondelli A, Stanca AM (2008) Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research* 105: 1-14
- Chrispeels MJ, Maurel C (1994) Aquaporins: The Molecular Basis of Facilitated Water Movement Through Living Plant Cells? *Plant Physiology* 105: 9-13
- Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E (2007) A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *Plant Journal* 52: 167-174
- Cochard H, Coll L, Le Roux X, Ameglio T (2002) Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* 128: 282-290
- de Dorlodot S, Forster B, Pages L, Price A, Tuberosa R, Draye X (2007) Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. *Trends in Plant Science* 12: 474-481
- Delmer DP (2005) Agriculture in the developing world: Connecting innovations in plant research to downstream applications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 15739–15746.
- Dewar RC (1995) Interpretation of an empirical model for stomatal conductance in terms of guard cell function. *Plant, Cell and Environment* 18:365-372. .
- Dewar RC (2002) The Ball-Berry-Leuning and Tardieu-Davies stomatal models: synthesis and extension within a spatially aggregated picture of guard cell function. *Plant Cell and Environment* 25: 1383-1398
- Doussan C, Pierret A, Garrigues E, Pages L (2006) Water uptake by plant roots: II - Modelling of water transfer in the soil root-system with explicit account of flow within the root system - Comparison with experiments. *Plant and Soil* 283: 99-117
- Egerton-Warburton LM, Querejeta JI, Allen MF (2007) Common mycorrhizal networks provide a potential pathway for the transfer of hydraulically lifted water between plants. *Journal of Experimental Botany* 58: 1473-1483
- Franks PJ et Farquhar GD (2001) The effect of exogenous abscisic acid on stomatal development, stomatal mechanics, and leaf gas exchange in *Tradescantia virginiana*. *Plant Physiology* 125: 935-942
- Frensch J (1997) Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *Journal of Experimental Botany* 48: 985-999
- Fricke W, Peters WS (2002) The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology* 129: 374-388
- Hachez C, Heinen RB, Draye X, Chaumont F (2008) The expression pattern of plasma membrane aquaporins in maize leaf highlights their role in hydraulic regulation. *Plant Molecular Biology* 68: 337-353
- Hawkins HJ, Hettasch H, West AG, Cramer MD (2009) Hydraulic redistribution by *Protea 'Sylvia'* (Proteaceae) facilitates soil water replenishment and water acquisition by an understorey grass and shrub. *Functional Plant Biology* 36: 752-760
- Hetherington AM, Woodward FI (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424: 901-908
- Jarvis PG (1976) The interpretation of leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. *Philosophical Transactions of the Royal Society (London)* B 273, 593-610.

- Johnson WC, Jackson LE, Ochoa O, van Wijk R, Peleman J, St Clair DA, Michelmore RW (2000) Lettuce, a shallow-rooted crop, and *Lactuca serriola*, its wild progenitor, differ at QTL determining root architecture and deep soil water exploitation. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 1066-1073
- Kerstiens G: Stomatal Response to leaf-to-air humidity gradient: a comparison of models. *Phys Chem Earth* 23:439-442.
- Lawlor DW, Cornic G (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment* 25: 275-294
- Lee KH, Piao HL, Kim H-Y, Choi SM, Jiang F, Hartung W, Hwang I, Kwak JM, Lee I-J, Hwang I (2006) Activation of Glucosidase via Stress-Induced Polymerization Rapidly Increases Active Pools of Abscisic Acid. *Cell* 126: 1109-1120
- Leuning R. (1995) A critical appraisal of a combined stomatal-photosynthesis model for C3 plants. *Plant, Cell and Environment* 18, 339-355.
- Li S, Assmann SM, Albert Rk (2006) Predicting Essential Components of Signal Transduction Networks: A Dynamic Model of Guard Cell Abscisic Acid Signaling. *PLoS Biol* 4: e312
- Lockhart JA (1965) An analysis of irreversible plant cell elongation. *Journal of Theoretical Biology* 8: 264-275
- Lu ZJ, Neumann PM (1999) Water stress inhibits hydraulic conductance and leaf growth in rice seedlings but not the transport of water via mercury-sensitive water channels in the root. *Plant Physiology* 120: 143-151
- Martinez-Ballesta MC, Aparicio F, Pallas V, Martinez V, Carvajal M (2003) Influence of saline stress on root hydraulic conductance and PIP expression in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Physiology* 160: 689-697
- Moffat AS (2002) Plant genetics. Finding new ways to protect drought stricken plants. *Science* 296: 1226-1229.
- Morgan JM (1984) Osmoregulation and Water-Stress in Higher-Plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 35: 299-319
- Morizet J, Falcimagne R, Martignac M (1987) Dispositif expérimental permettant de mesurer simultanément l'absorption hydrique et la transpiration d'une jeune plante cultivée sur sol. *Premiers résultats obtenus. Agronomie* 7, 541-546
- Ober ES, Clark CJA, Le Bloa M, Royal A, Jaggard KW, Pidgeon JD (2004) Assessing the genetic resources to improve drought tolerance in sugar beet: agronomic traits of diverse genotypes under droughted and irrigated conditions. *Field Crops Research* 90: 213-234
- Outlaw WH, De Vlieghere-He X (2001) Transpiration rate. An important factor controlling the sucrose content of the guard cell apoplast of broad bean. *Plant Physiology* 126: 1716-1724
- Pierret A, Doussan C, Capowiez Y, Bastardie F, Pages L (2007) Root functional architecture: A framework for modeling the interplay between roots and soil. *Vadose Zone Journal* 6: 269-281
- Popova LP, Outlaw WH Jr, Aghoram K, Hite DRC (2000) Abscisic acid - and intraleaf water-stress signal. *Physiologia Plantarum* 108, 376-381.
- Pritchard J, Jones RGW, Tomos AD (1991) Turgor, growth and rheological gradients of wheat roots following osmotic stress. *Journal of Experimental Botany* 42
- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202
- Reymond M., Muller B., Leonardi A., Charcosset A., Tardieu F (2003). Combining quantitative trait loci analysis and an ecophysiological model to analyse the genetic variability of the responses of leaf growth to temperature and water deficit. *Plant Physiology*. 131, 664-675
- Rizza F, Badeck FW, Cattivelli L, Lidestri O, Di Fonzo N, Stanca AM (2004) Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions. *Crop Science* 44: 2127-2137
- Schroter D, Cramer W, Leemans R, Prentice IC, Araujo MB, *et al.* (2005) Ecosystem service supply and vulnerability to global change in Europe. *Science* 310: 1333-1337.
- Serraj R, Sinclair TR (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environment* 25 : 333-341.
- Shackel KA, Matthews MA, Morrison JC (1987) Dynamic relation between expansion and cellular turgor in growing grape (*vitis-vinifera* L) leaves. *Plant Physikogy* 84: 1166-1171
- Slafer GA, Araus JL, Royo C, Del Moral LFG (2005) Promising eco-physiological traits for genetic improvement of cereal yields in Mediterranean environments. *Annals of Applied Biology* 146: 61-70
- Steudle E, Frensch J (1996) Water transport in plants: Role of the apoplast. *Plant and Soil* 187: 67-79

- Talbott LD, Zeiger E (1998) The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *Journal of Experimental Botany* 49: 329-337
- Tardieu F, Davies WJ (1992) Stomatal Response to Abscisic-Acid Is a Function of Current Plant Water Status. *Plant Physiology* 98: 540-545
- Tardieu F, Davies WJ (1993) Integration of Hydraulic and Chemical Signaling in the Control of Stomatal Conductance and Water Status of Droughted Plants. *Plant Cell and Environment* 16: 341-349
- Tardieu F, Manichon H (1986a) Characterization of the Maize Root-System under Field Conditions as a Water Sink .1. Criteria for Study. *Agronomie* 6: 345-353
- Tardieu F, Manichon H (1986b) Characterization as a Water Sink of the Maize Root-System in Cultivated Fields .2. A Method for Studying Vertical and Horizontal Distribution of Roots. *Agronomie* 6: 415-425
- Tournaire-Roux C, Sutka M, Javot H, Gout E, Gerbeau P, Luu DT, Bligny R, Maurel C (2003) Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature* 425: 393-397
- Tuzet A, Perrier A, Leuning R (2003) A coupled model of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration. *Plant Cell and Environment* 26: 1097-1116
- van Genuchten MT (1980) A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. *Soil Science Society of America Journal* 44: 892-898
- Van Volkenburgh E (1999) Leaf expansion - an integrating plant behaviour. *Plant Cell and Environment* 22: 1463-1473
- Van Volkenburgh E, Boyer JS (1985) Inhibitory effects of water deficit on maize leaf elongation. *Plant Physiol.*: 190-194
- Volkov V, Hachez C, Moshelion M, Draye X, Chaumont F, Fricke W (2007) Water permeability differs between growing and non-growing barley leaf tissues. *Journal of Experimental Botany* 58: 377-390
- Wasilewska A, Vlad F, Sirichandra C, Redko Y, Jammes F, Valon C, Frey NFD, Leung J (2008) An update on abscisic acid signaling in plants and more. *Molecular Plant* 1: 198-217
- Wilkinson S, Davies WJ (1997) Xylem sap pH increase: A drought signal received at the apoplastic face of the guard cell that involves the suppression of saturable abscisic acid uptake by the epidermal symplast. *Plant Physiology* 113: 559-573
- Wilkinson S, Davies WJ (2002) ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant Cell and Environment* 25: 195-210
- Wilkinson S, Davies WJ (2008) Manipulation of the apoplastic pH of intact plants mimics stomatal and growth responses to water availability and microclimatic variation. *Journal of Experimental Botany* 59: 619-631
- Zhu GL, Boyer JS (1992) Enlargement in Chara Studied with a Turgor Clamp - Growth-Rate Is Not Determined by Turgor. *Plant Physiology* 100: 2071-2080

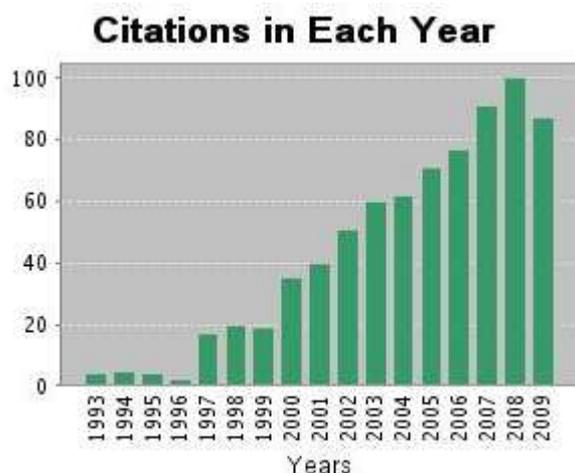


Figure 25. Niveau de citation de mes publications à comité de lecture (26 prises en compte au moment de l'analyse), Le nombre de citations total s'élève à 744. Le facteur h est de 14. D'après Web of Science®, sept. 2009

Revue	IF 2008	Notoriété	nb total	rôle pilote ⁽¹⁾	associé
Plant, Cell and Environment	4,49	Exceptionnelle	8	6	2
Journal of Experimental Botany	3,92	Excellente	5	4	1
Plant Physiology	6,37	Exceptionnelle	3	1	2
Functional Plant Biology (ex Australian Journal of Plant Physiology)	2,38	Excellente	2	1	1
Proceedings of National Academy of Sciences USA	9,60	Exceptionnelle	2		2
EMBO Journal	8,66	Exceptionnelle	1		1
The Plant Journal	6,75	Exceptionnelle	1		1
New Phytologist	5,25	Exceptionnelle	1		1
Australian Journal of Grape and Wine Research	2,13	Correcte	1		1
Agronomie	1,00	Correcte	1		1
Australian Journal of Agricultural Research	1,35	Correcte	1		1
Soil Science	0,98	Acceptable	1		1
			27	12	15

Table 3. Répartition de mes publications à comité de lecture par revue, avec l'impact de la revue et sa notoriété (donnée par le Journal Citation Reports ®). (1) Cette colonne donne le nombre de publications dans lesquelles j'ai eu un rôle pilote dans la conduite et l'interprétation de l'expérience, ou dans l'encadrement direct du travail et dans la rédaction (premier ou dernier auteur et *corresponding author*).

LISTE DES PUBLICATIONS

I - PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

I.1 - Articles (ou communications) primaires (résultats originaux)

I.1.1. Dans périodique à comité de lecture.

- [ACL1] SIMONNEAU T., HABIB R. (1991) The use of tree root suckers to estimate the root water potential. *Plant, Cell and Environment*, **14**, 585-591.
- [ACL2] HABIB R., PAGES L., JORDAN M.-O., SIMONNEAU T., SEBILLOTTE M. (1991) Approche à l'échelle du système racinaire de l'absorption hydro-minérale. Conséquences en matière de modélisation de l'absorption racinaire. *Agronomie*, **11**, 623-643.
- [ACL3] SIMONNEAU T., HABIB R., GOUTOULY J.-P., HUGUET J.-G. (1993) Diurnal changes in stem diameter depend upon variations in water content: direct evidence in peach trees. *Journal of Experimental Botany*, **44**, 615-621.
- [ACL4] TAMARI S., GAUDU J.-C., SIMONNEAU T. (1993) Tensiometric measurement and metastable state of water under tension. *Soil Science*, **156**(3), 149-155.
- [ACL5] SIMONNEAU T., HABIB R. (1994) Water uptake regulation in peach trees with split root systems. *Plant, Cell and Environment*, **17**, 379-388.
- [ACL6] TARDIEU F., LAFARGE T., SIMONNEAU T. (1996) Stomatal control by fed or endogenous xylem ABA in sunflower : interpretation of observed correlations between leaf water potential and stomatal conductance. *Plant, Cell and Environment*, **19**, 75-84.
- [ACL7] BOREL C., SIMONNEAU T., THIS D., TARDIEU F. (1997) Controls of stomatal conductance and ABA concentration in the xylem sap of barley lines of contrasting genetic origins. *Australian Journal of Plant Physiology*, **24**, 607-615.
- [ACL8] AUDRAN C., BOREL C., FREY A., SOTTA B., MEYER C., SIMONNEAU T., MARION-POLL A. (1998) Expression studies of the zeaxanthin epoxidase gene in *Nicotiana plumbaginifolia*. *Plant Physiology*, **118**, 1021-1028.
- [ACL9] SIMONNEAU T., BARRIEU P., TARDIEU F. (1998) Accumulation rates of ABA in detached roots of maize correlates with their water potential regardless of root age and branching order. *Plant, Cell and Environment* **21**, 1113-1122.
- [ACL10] TARDIEU F., SIMONNEAU T. (1998) Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand. Modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany*, **49**, 419-432.
- [ACL11] BARRIEU P., SIMONNEAU T. (2000) The monoclonal antibody MAC252 does not react with the (-) enantiomer of ABA. *Journal of Experimental Botany*, **51**, 305-307.
- [ACL12] BOREL C., AUDRAN C., FREY A., MARION-POLL A., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2001) *N. plumbaginifolia* zeaxanthin epoxidase transgenic lines have unaltered baseline ABA accumulations in roots and xylem sap, but contrasting sensitivities of ABA accumulation to water deficit. *Journal of Experimental Botany*, **52**, 427-434.
- [ACL13] BOREL C., FREY A., MARION-POLL A., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2001) Does engineering ABA synthesis in *N. plumbaginifolia* modify stomatal response to drought ? *Plant, Cell and Environment*, **24**, 477-489.
- [ACL14] BOREL C., SIMONNEAU T. (2002) Is the ABA concentration in the sap collected by pressurising leaves relevant for analysing drought effects on stomata ? Evidence from ABA-fed leaves of transgenic plants with modified capacities to synthesise ABA. *Journal of Experimental Botany*, **53**, 287-296.
- [ACL15] GUTSCHICK V., SIMONNEAU T. (2002) Modeling stomatal conductance of field-grown sunflower under varying soil water content and leaf environment : comparison of three models of stomatal response to leaf environment and coupling with an ABA-based model of stomatal response to soil drying. *Plant, Cell and Environment*, **25**, 1423-1434.

- [ACL16] HOSY E., MOULINE K., VAVASSEUR A., DREYER I., GAYMARD F., PORÉE F., BOUCHEREZ J., BOUCHEZ D., VÉRY A.-A., SIMONNEAU T., THIBAUD J.-B., SENTENAC H. (2003) The *Arabidopsis* shaker gene *GORK* encodes the major guard cell outward K⁺ channel and is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, **100**,5549-5554.
- [ACL17] BERTHOMIEU P., CONÉJÉRO G., NUBLAT A., BRACKENBURY W. J., LAMBERT C., SAVIO C., UOZUMI N., OIKI S., YAMADA K., CELLIER F., GOSTI F., SIMONNEAU T., ESSAH P.A., TESTER M., VÉRY A.-A., SENTENAC H., CASSE F. (2003) Functional analysis of AtHKT1 in *Arabidopsis* shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *EMBO Journal*, **22**, 2004-2014.
- [ACL18] MAUREL M., ROBIN C., SIMONNEAU T., LOUSTAU D., DREYER E., DESPREZ-LOUSTAU M.-L. (2004) Stomatal conductance and root-to-shoot signalling in chestnut saplings exposed to *Phytophthora cinnamomi* or partial soil drying. *Functional Plant Biology*, **31**, 41-51.
- [ACL19] PELLEGRINO A., LEBON E., SIMONNEAU T., WÉRY J. (2005) Towards a simple indicator for early diagnosis of water stress in grapevine (*Vitis vinifera* L.) based on the differential sensitivities of vegetative growth components. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **11**, 306-315.
- [ACL20] TARDIEU F., REYMOND M., MULLER B., GRANIER C., SIMONNEAU T., SADOK W., WELCKER C. (2005) Linking physiological and genetic analyses of the control of leaf growth under changing environmental conditions *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**, 1–10.
- [ACL21] GRANIER C., CHENU K., AGUIRREZABAL L., COOKSON S., DAUZAT M., HAMARD P., THIOUX J.J., ROLLAND G., BOUCHIER-COMBAUD S., LEBAUDY A., MULLER B., SIMONNEAU T., TARDIEU F. (2006) PHENOPSIS, an automated platform for reproducible phenotyping of plant responses to water deficit in *Arabidopsis thaliana* allows identification of an accession with low sensitivity to water deficit. *New Phytologist*, **169**, 623-635.
- [ACL22] BOUCHABKÉ O., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2006) Leaf growth and turgor in growing cells of maize (*Zea mays* L.) respond to evaporative demand in well-watered but not in water saturated soil. *Plant Cell and Environment*, **29**, 1138-1148.
- [ACL23] LEBAUDY A., VAVASSEUR A., HOSY E., DREYER I., LEONHARDT N., THIBAUD J.-B., VÉRY A.-A., SIMONNEAU T., SENTENAC H. (2008) Plant adaptation to fluctuating environment and biomass production are strongly dependent on guard cell potassium channels. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, **105**, 5271-5276.
- [ACL24] LEBAUDY A., HOSY E., SIMONNEAU T., SENTENAC H., THIBAUD J.-B., DREYER I. (2008) Heteromeric K⁺ channels in plants. *The Plant Journal* **54**, 1076-1082.
- [ACL25] PARENT B., HACHEZ C., REDONDO E., SIMONNEAU T., CHAUMONT F., TARDIEU F. (2009) Drought and ABA effects on aquaporin content translate into changes in hydraulic conductivity and leaf growth rate : a trans-scale approach *Plant Physiology* **149**, 2000-2012.
- [ACL26] EHLERT C., MAUREL C., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2009) Aquaporin-mediated reductions in maize root hydraulic conductivity impacts cell turgor and leaf elongation even without changing transpiration. *Plant Physiology*. **150**, 1093-1104

En soumission :

- [ACL27] BOUCHABKÉ O., SADOK W., TARDIEU F., SIMONNEAU T. () Which role for turgor of growing cells in mediating leaf growth response to soil water deficit ? A quantitative examination in five maize lines with contrasted sensitivities to water stress (*Plant Cell and Environment*).

I.1.3. Rapports diplômants (D.E.A., thèse...)

- SIMONNEAU T. (1986) Mise en place du système racinaire du maïs au champ. *Diplôme d'Agronomie Approfondie, I.N.A. Paris-Grignon, Paris*, 85 pp.
- SIMONNEAU T. (1992) Absorption d'eau en conditions de disponibilité hydrique non uniforme. Etude sur pêchers en solution nutritive. *Thèse, I.N.A. Paris-Grignon, Paris*, 240 pp.

I.1.4. Communications courtes dans congrès, symposiums (poster, résumé ou texte intégral).

- SIMONNEAU T., HABIB R. (1992) Water uptake regulation under non-uniform water availability. In Root ecology and its practical Application, 3rd International Society of Root Research Symposium, Vienne, 2-6/9/1991 (L.Kutschera, E. Höbl, E. Lichtenegger, H. Persson, Eds.), 81-84.
- SIMONNEAU T., HABIB R., GOUTOULY J.-P., HUGUET J.-G., LECOMTE A. (1993) Diurnal changes in stem diameter and plant water content in peach trees. International Symposium on irrigation of horticultural crops, 23-27/11/1992, Almeria, Espagne. *Acta Horticulturae*, **335**, 191-196. (Présentation orale + Texte intégral).
- GOUTOULY J.P., BARIAC T., SIMONNEAU T., HABIB R. (1993) Etude des transferts hydriques chez le pêcher. Apport du marquage isotopique. Les isotopes stables en recherche agronomique végétale, 16-17 Décembre 1993, Paris (Présentation orale + Texte intégral).
- GOUTOULY J.P., BARIAC T., HABIB R., SIMONNEAU T. (1994) Connexions hydrauliques entre parties aériennes et souterraines. I. Résultats obtenus par marquage isotopique de l'eau. Groupe d'étude de l'arbre, 14-15 Avril 1994, Clermont-Ferrand. (Présentation orale + Résumé).
- SIMONNEAU T., BARIAC T., HABIB R., GOUTOULY J.P. (1994) Connexions hydrauliques entre parties aériennes et souterraine. II ; Flexibilité des connexions suivant les hétérogénéités d'offre ou de demande en eau. Groupe d'étude de l'arbre, 14-15 Avril 1994, Clermont-Ferrand. (Présentation orale + Résumé).
- TARDIEU F., SIMONNEAU T. (1995) An interpretation of isohydric and anisohydric behaviour of droughted plants, based on the respective weights of hydraulic and chemical signalings in the control of stomatal conductance. Proceedings of the Second Stressnet Meeting, Salsomaggiore, 20-24 Septembre 1995, 201-206. (Poster + Texte intégral).
- SIMONNEAU T., TARDIEU F., BARRIEU P. (1995) Accumulation of ABA in detached roots of maize. Proceedings of the Second Stressnet Meeting, Salsomaggiore, Italie, 20-24 Septembre 1995, 207-212. (Poster + Texte intégral).
- THIS D., ARNAU G., TEULAT B., BOREL C., SIMONNEAU T., BORRIES C., SOUYRIS I., MONNEVEUX P. (1996) Which genes could be targets for drought tolerance improvement in barley ? Vème Congrès international sur l'amélioration génétique de l'orge, Juillet 96, Saskatoon, Saskatchewan Canada (Présentation orale + Résumé).
- BOREL C., SIMONNEAU T., THIS D., TARDIEU F. (1997) Controls of stomatal conductance and ABA concentration in the xylem sap of barley lines of contrasting genetic origins. SEB annual meeting, University of Canterbury, 7-11 April 1997 (Poster + Résumé).
- THIS D., TEULAT B., ARNAU G., BORRIES C., SOUYRIS I., BOREL C., SIMONNEAU T., RAGOT C., LEROY P., KHAIRALLAH M., MONNEVEUX P., CHARRIER A. (1997) QTLs for drought tolerance in barley. Proceedings of Plant and Animal Genome V (SR Heller Org.), 12-16 Jan 1997, San Diego CA, W4 p. 25 (Résumé).
- SIMONNEAU T., BARRIEU P., TARDIEU F. (1997) Kinetics of ABA accumulation in detached roots of maize. SEB annual meeting, University of Canterbury, 7-11 April 1997 (Poster + Résumé).
- BOREL C., AUDRAN C., SIMONNEAU T., MARION-POLL A., TARDIEU F., (1998) Analyse du contrôle stomatique chez une gamme de plantes transgéniques affectées dans la synthèse d'ABA. 5^{ème} Forum des Jeunes Chercheurs de la SFPV, Montpellier, 15-17 Juillet 1998 (Présentation orale + résumé).
- SIMONNEAU T., TARDIEU F. (1999) Drought-induced changes in the delivery rate of ABA by whole root systems of maize. XVI International Botanical Congress, St Louis, USA (Poster + résumé).
- SIMONNEAU T., BOREL C., TARDIEU F. (2000) Can changes in ABA synthesis by roots account quantitatively for stomatal control in maize and genetically transformed plants of *Nicotiana glauca* subjected to water deficits. SEB annual meeting, University of Exeter, April 2000 (Présentation orale + Résumé).
- GUTSCHICK V.P., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2000) Combining the Ball-Berry and ABA models of stomatal control : Experiments, computational models, and some implications for mechanisms. The Ecological Society of America Annual Meeting. 6-10 août 2000 (Poster + résumé).

- PELLEGRINO A., LEBON E., SIMONNEAU T., RIOU C., WERY J. (2001) Could the relationships between plant water status and gas exchanges of vine (*Vitis vinifera* L.) be used to diagnose drought stress in farmers fields ? 12^{ème} journées du GESCO, Montpellier, 37-42. (Présentation orale + Texte intégral).
- MOULINE K., GAYMARD F., SENTENAC H., SIMONNEAU T. (2001) A role for the SKOR channel in building root pressure at low evaporative demand ? Madison USA (Poster + résumé).
- BERTHOMIEU P., CONÉJÉRO G., NUBLAT A., BRACKENBURY W. J., SAVIO C., CELLIER F., GOSTI F., SIMONNEAU T., VÉRY A.-A., AND CASSE F. (2003) Genetic and functional analyses of AtHKT1 in *Arabidopsis* shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. congrès ISPMB, Espagne.
- MULLER B, ZIVY M, CONSOLI L, VINCENT D, TARDIEU F, REIDY B, VOISIN A-S, SIMONNEAU T, SADOK W, BOUCHABKE O, BENCIVENNI C, GRISON R, TOPPAN A. (2003) Response of maïs to soil water deficit. Genes, proteins, processes and model parameters. Séminaire général Génoplante. Poitiers, mars 2003 (Poster).
- GRANIER C., HAMARD P., DAUZAT M., CHENU K., AGUIRREZABAL L., THIOUX J.J., MULLER B., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2004) Imposing rigorously identical water deficits to different *Arabidopsis thaliana* accessions. An automated system for high throughput analyses of plant responses to soil water deficit. 15th international conference on *Arabidopsis* Research, 11-14 Juillet 2004, Berlin, Allemagne (Poster + Résumé)
- C. GRANIER, L. AGUIRREZABAL, K. CHENU, G. ROLLAND, T. SIMONNEAU AND F. TARDIEU (2004) Genetic variability of leaf expansion responses to water deficit in *Arabidopsis thaliana*. Plant Genomics European meeting, 2004, 22-25 September 2004 Lyon (France) (poster + résumé).
- SIMONNEAU T., LEBAUDY A., HOSY E., GRANIER C., AGUIRREZABAL L., DAUZAT M., ROLLAND G., SENTENAC H., TARDIEU F. (2004) Using *Arabidopsis thaliana* to progress in the modelling of plant transpiration under fluctuating environments. Plant Genomics European meeting, 2004, 22-25 September 2004 Lyon (France) (poster + résumé).
- BOUCHABKÉ O., ROLLAND G., HAMARD P., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2004) Do genetic differences in the control of cell turgor among maize lines account for differences in leaf growth response to water deficit ? Workshop “Phenotyping and water deficit” du Challenge Program Generation, 5-9 juillet 2004, Montpellier (Poster + Résumé).
- TURC O., SIMONNEAU T. (2004) Plateau de phénotypage analytique de la réponse des plantes aux conditions environnementales. Montpellier RIO Imaging Journée des Equipes Associées, 1er Juillet 2004, Montpellier (présentation orale).
- TARDIEU F., REYMOND M., MULLER B., GRANIER C., SIMONNEAU T., SADOK W., WELCKER C (2004). Linking physiological and genetic analyses of the control of leaf growth under changing environmental conditions. In Fischer T. *et al.*. (Eds) New directions for a diverse planet. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 Sep – 1 Oct 2004.
- EHLERT C., SIMONNEAU T. , POSTAIRE O., MAUREL C. (2005) Impact of aquaporin gating on root hydraulic conductance and plant water relations: a study in intact plants. International Conference on Aquaporins. 10-13 september 2005, Brussels. (poster).
- GRANIER C, CHENU K, SIMONNEAU T, TARDIEU F (2005) PHENOPSIS, une plateforme automatisée pour du phénotypage reproductible chez *Arabidopsis thaliana*. Ecole thématique Biologie Intégrative(3-7 oct, Batz-sur-mer) (conférence orale).
- GRANIER C, COOKSON S, AGUIRREZABAL L, CHENU K, SIMONNEAU T, TARDIEU F (2005) A decrease in growth rates can partly or totally be compensated for by an increase in duration of development in *Arabidopsis thaliana* plants subjected to various environmental conditions. Plant Frontier Meeting, mars 2005, Sheffield, UK.
- TARDIEU F., SADOK W., BOUCHABKÉ O., VOISIN A.S., PARENT B., BOUSSUGE B., WELCKER C., MULLER B., SIMONNEAU T. (2005) Control of maize leaf growth under water deficit and evaporative demand: Genetic and physiological dissections of involved mechanisms. Society for Experimental

- Biology Annual Main Meeting, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain 11th–15th July 2005 (Présentation orale + résumé)
- SIMONNEAU T., BOUCHABKÉ O. (2006) A role for xylem-delivered abscisic acid in mediating stomatal response to vapor pressure deficit in well watered soil. ASPB meeting The Biology of Transpiration : from Guard cells to globe, Snowbird Mountain Resort, USA, 10-14 Oct (Poster + résumé).
- SIMONNEAU T. (2006) Réponse de la croissance foliaire au déficit hydrique : quelle place pour la turgescence cellulaire ? Séminaires de Biologie Intégrative des Plantes, Montpellier, 14 Sept 2006 (Présentation orale)
- EHLERT C., TARDIEU F. & SIMONNEAU T. (2007) Aquaporin gating in maize roots has large impacts on integrated physiological processes. Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology. Abstracts of the Annual Main Meeting of the Society for Experimental Biology, Glasgow, Scotland, 31st March - 4th April, 2007, **146**, S258.
- EHLERT C., SIMONNEAU T. (2007). Integrative Plant Biology: aquaporin gating and its impacts on physiological processes. SEB annual meeting Glasgow, UK, 30 march-4 april. (Présentation orale + Résumé).
- LEBAUDY A, VAVASSEUR A, HOSY E, DREYER I, LEONHARDT N, THIBAUD J-B, VÉRY A-A, SIMONNEAU T, SENTENAC H (2007) Inward guard cell K⁺ channel activity strongly contributes to plant adaptation to fluctuating and stressing environment and to biomass production. XIV international workshop on plant membrane biology. Valencia, Spain, 26-30 juin (Poster + résumé p81).
- MAHDID M., KAMELI A., EHLERT C., SIMONNEAU T. (2007) short-term adaptation of leaf elongation in wheat plants in response to water stress imposed by PEG. Workshop on growth phenotyping and imaging in plants. Montpellier, France 17-19 july. (Poster + résumé).
- EHLERT C., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2007) Using tools from molecular biology to test a biophysical model for leaf growth responses to water deficit. Workshop on growth phenotyping and imaging in plants. Montpellier, France 17-19 july. (Poster + résumé).
- SIMONNEAU T., GRANIER C., VILE D., EHLERT C., HUMMEL I., TISNE S. BOUTEILLÉ M., MASSONNET C., FABRE J., PERVENT M., PANTIN F., AGUIRREZABAL L., COOKSON S., ROLLAND G., DAUZAT M., MULLER B (2008) Plant growth control by water deficit : which process(es) to lead the game ? 4th EPSO CONFERENCE “Plants for Life” 22-26 June 2008, Toulon (Côte d'Azur), France (Communication + Poster + résumé).
- MAUREL C., SIMONNEAU T. (2008) Function and regulation of aquaporins in plants under water deprivation. Séminaire AgroBI-INRA. « Biologie Intégrative Animale, Végétale et Microbienne », 15-17 décembre 2008, Bordeaux (Communication + résumé).
- HUMMEL I., PANTIN F., SULPICE R., PIQUES M., GRANIER C., SIMONNEAU T., STITT M., GIBON Y., MULLER B (2009) A role for Carbon metabolism in leaf growth response to soil water deficit ? An integrated perspective. 20th International Conference on Arabidopsis Research, Edinburgh, Scotland, UK, 30th june-4th july (Poster + résumé).
- VILE D., PERVENT M., BELLUAU M., THIOUX J.J., ROLLAND G., DAUZAT M., JOUBÈS J., GRANIER C., MULLER B., SIMONNEAU T. (2009) Disentangling Arabidopsis thaliana responses to combined drought and thermal stresses. 20th International Conference on Arabidopsis Research, Edinburgh, Scotland, UK, 30th june-4th july (Poster + résumé).
- TARDIEU F, PARENT B, HACHEZ C, SIMONNEAU T, CHAUMONT F (2009) Drought and ABA effects on aquaporin content translate into changes in hydraulic conductivity and leaf growth rate: A trans-scale approach. Annual Meeting of the Society-for-Experimental-Biology Glasgow, Scotland, UK, 28th june-1st July (Poster + résumé)

I.2 - Synthèses scientifiques (en tant qu'auteur)

I.2.1. Dans périodique à comité de lecture.

[ACL28] TARDIEU F., PARENT B., SIMONNEAU T. () Control of leaf growth by abscissic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? (*Plant Cell and Environment*).

I.2.3. Chapitre d'ouvrage.

TARDIEU F.; MULLER B., BOREL C., REYMOND M., GRANIER C.; SIMONNEAU T. (2001) Un exemple d'analyse de l'interaction génotype X environnement : modélisation de la variabilité génétique des réponses au déficit hydrique – Barbier-Brigoo H.; Joyard J; Morot-Gaudry JF; Gaymard F.; *Génomique fonctionnelle chez les végétaux du gène à la fonction* – 185- 191.

I.2.6. Conférences dans congrès ou symposium (résumé ou texte intégral).

TARDIEU F., MULLER B., SIMONNEAU T. (1996) Root system and water deficits : examining control loops. Arc et Senans Plant Workshops, 28 Mai – 1 Juin 1996 (Présentation orale + Résumé).

TARDIEU F., SIMONNEAU T. (1997) Stomatal control in naturally fluctuating conditions involving evaporative demand and soil water status : variability among species and lines. SEB annual meeting, University of Canterbury, 7-11 April 1997 (Présentation orale + Résumé).

SIMONNEAU T., BOREL C., MARION-POLL A., TARDIEU F. (2000) Drought tolerance in plants : an example of manipulation via an altered ABA synthesis. The Rank Prize Funds, Mini-symposium on Water, 27th – 30th March, Grasmere, U.K. (Présentation orale + Résumé).

TARDIEU F., MULLER B., BOREL C., REYMOND M., GRANIER C., SIMONNEAU T. (2000) What ecophysiological modelling can bring to functional genomics ? A dissection of the genetic variability of plant responses to water deficit. Congrès annuel de la Soc. Fr. de Physiologie Végétale, Besançon, Décembre 2000 (Présentation orale + résumé).

TARDIEU F., MULLER B., BOREL C., REYMOND M., GRANIER C., SIMONNEAU T. (2001) Combining modelling, transgenesis and QTL approaches for a dissection of the genetic variability of plant responses to water deficit. SEB annual meeting, University of Kent, 2nd - 6th April, Canterbury, U.K. (présentation orale + résumé).

TARDIEU F., SIMONNEAU T., MULLER B. (2001). Modelling the contribution of root signalling to the controls of stomatal conductance and leaf growth ; Water deficit and soil compaction. ASA annual meeting, Charlotte USA, Octobre 2001. (présentation orale + résumé).

TARDIEU F., REYMOND M., MULLER B., GRANIER C., SIMONNEAU T., SADOK W., WELCKER C (2004). Linking physiological and genetic analyses of the control of leaf growth under changing environmental conditions. In Fischer T. *et al.* (Eds) New directions for a diverse planet. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 Sep – 1 Oct 2004.

TARDIEU F., SADOK W., BOUCHABKÉ O., VOISIN A.S., PARENT B., BOUSSUGE B., WELCKER C., MULLER B., SIMONNEAU T. (2005) Control of leaf growth under water deficit and evaporative demand : genetic and physiological dissections of involved mechanisms. SEB meeting, 11-14 July, barcelona, Spain. (présentation orale + Résumé).

SIMONNEAU T., BOREL C., BOUCHABKÉ O., TARDIEU F. (2005) Réponse de la transpiration des plantes au déficit hydrique ; apports et limites de la modélisation de la variabilité génétique à l'échelle de la plante entière. 7^{èmes} journées d'écologie fonctionnelle. 8-10 mars 2005 Super-Besse. (présentation orale + Résumé).

GRANIER C., CHENU K., AGUIRREZABAL L., COOKSON S., DAUZAT M., MULLER B., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2005) Phénotypage haut-débit chez *Arabidopsis thaliana*. Comment analyser la réponse des plantes aux conditions environnementales de façon reproductible? Rencontres de virologie végétale. Aussois, France, Mars.

SIMONNEAU T., BOUCHABKÉ O., EHLERT C., TARDIEU F. (2006) Water transfer in whole plants under water deficit : impact on leaf growth, and putative roles of root aquaporins. SEB annual meeting, Canterbury, 2-7 April 2006 (présentation orale + Résumé).

II - DOCUMENTS À VOCATION DE TRANSFERT ou relatifs à l'animation.

II.1 - Travaux personnels

II.1.7. Rapports écrits.

Rapports de fin de contrats

- SIMONNEAU T. (1993) Devenir de l'eau dans la plante en provenance de plusieurs parties du système racinaire. Compte-rendu de l'A.I.P. "Economie de l'eau : fonctionnement et conduite du couvert végétal cultivé" INRA, *Montfavet Agronomie, document interne*, 7 pp + Figs.
- SIMONNEAU T., BOUCHABKE O., HAMARD P., ROLLAND G. (2006). Banc de mesures hydriques intracellulaires pour l'analyse de la tolérance des plantes à la sécheresse. Compte-rendu final de projet. INRA, *Montpellier, LEPSE, document interne*, 21 pp + annexes.
- GRANIER C., SIMONNEAU T. (2005) Plant responses to soil water deficit. *Rapport final de la contribution du LEPSE au projet Génoplante GABI*. INRA, *document interne*, 2p.
- Collectif LEPSE (2006) Rapport d'activité 2002-2005 et projet d'unité du Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux. INRA LEPSE Montpellier, *document interne*, 83 p + annexes.

Rapports de missions

- SIMONNEAU T., BOULARD T. (1993) Rapport de mission au colloque de l'ISHS à Almeria.
- SIMONNEAU T. (1993) Rapport de mission au John Innes Center à Norwich : apprentissage d'un protocole de dosage de l'ABA par RIA et application à des échantillons de sève de pois soumis à différents régimes hydriques. INRA, *Montpellier, LEPSE, document interne*, 5 pp + annexes.

Enseignement, formation continue

- SIMONNEAU T. (1999) Comportement des plantes cultivées sous contrainte hydrique. Comparaison de génotypes. Journées de sensibilisation à la modélisation. INRA, Directions Scientifiques 'Environnement-Forêt-Agronomie' et 'Plante et produits du végétal'. 4 pp + Figs.
- SIMONNEAU T. (2001-2007) Régulation du flux d'eau et de CO₂ par les stomates ; effets hydrauliques et messages chimiques d'origine racinaire. INRA, Montpellier, LEPSE, *document interne* (cours de DEA-M2), 14 pp.

Prospective

- SIMONNEAU T. et coll. LEPSE (2003) Projet d'unité du Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux pour 2003-2006. INRA LEPSE Montpellier, *document interne*, 6 p.
- GRIGNON C., SIMONNEAU T. et coll. LEPSE et B&PMP (2005) Institut de Biologie Intégrative des Plantes ; projet scientifique fondateur. *IBIP Montpellier, document interne* 11 p.
- SIMONNEAU T. (2006) Nouvelles modalités de pilotage de la recherche. Impact sur la vie de l'unité et l'évolution des métiers. *Diaporama présenté pour la formation permanente nationale INRA, octobre 2006 Paris*.
- JOYARD J. *et al.* (2007) La biologie végétale au CNRS. CNRS, *document interne*, 46 p + annexes.

Evaluation d'unités de recherches

- ANDRIEU B., ANGULO-JARAMILLO R., ATANASSOVA R., LE DILY F., SIMONNEAU T. (2006) Rapport de la commission d'évaluation intermédiaire de l'UMRE A462 SAGAH "Sciences Agronomiques appliquées à l'Horticulture". INRA, *département EA, Avignon, Document interne*, 13 p.
- BRIAT J.-F., (Président), CAUSSE M., LEPINIEC L., SIMONNEAU T. (2006) Rapport du Comité d'évaluation sur le projet d'UMR Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne (EGFV) INRA, Universités Bordeaux 1 et 2, ENITA Bordeaux. INRA, *document interne*, 10 p.
- CABOCHE M., CRESPI M. GUÉGEN J., JOB D. (président), PUGIN A. SIMONNEAU T. (2006) Rapport de la commission d'évaluation de l'UMR 1191 (INRA / INH / Université d'Angers) "Physiologie Moléculaire des Semences" du département de Biologie Végétale de l'INRA, Angers. INRA, *Document interne*, 13 p.

II.2. Travaux encadrés ou coordonnés par l'auteur

II.2.2. Mémoires de stages.

Thèses (encadrant direct) :

- BOREL C. (1999) Modélisation de la synthèse d'ABA et du contrôle stomatique en cas de déficit hydrique chez des plantes transgéniques affectées dans la synthèse d'ABA. *Thèse de docteur. ENSA-Montpellier*, 122pp.
- BOUCHABKE O. (2003) Rôle de la pression de turgescence dans la réponse de la croissance foliaire du maïs aux déficits hydriques édaphiques et atmosphériques. Analyse comparée chez cinq géotypes. *Thèse de docteur. ENSA-Montpellier*, 100 pp
- EHLERT C. (2008) Importance de la conductivité hydraulique racinaire pour le contrôle de la croissance foliaire chez le maïs (*Zea mays* L.). *Thèse de docteur. Montpellier Sup.Agro*, 118 pp.

Thèses (co-encadrant) :

- PELLEGRINO A. (2003) Elaboration d'un outil de diagnostic du stress hydrique utilisable sur la vigne en parcelle agricole par couplage d'un modèle de bilan hydrique et d'indicateurs de fonctionnement de la plante. *Thèse de docteur ENSA-Montpellier*. 138 pp + annexes.
- LEBAUDY A. (2008) Biologie intégrative des canaux potassiques de la cellule de garde : activité électrophysiologique et rôle dans l'adaptation de la plante à son environnement Thèse de docteur Montpellier SupAgro.

DEA, M2

- BOREL C. (1995) Contrôle stomatique de la transpiration en relation avec l'accumulation d'acide abscissique dans la sève, chez cinq lignées d'orge (*Hordeum vulgare* L.) de tolérances à la sécheresse contrastées. *DEA, Univ. Montpellier II - ENSA Montpellier*, 14 pp.
- BOUCHABKE O. (1999) Rôle de la conductivité hydraulique du sol et de la synthèse d'acide abscissique par les racines dans la réponse de la conductance stomatique au déficit de saturation de l'air chez le tournesol (*Helianthus annuus* L.). *DEA, Univ. Montpellier II - ENSA Montpellier*, 17 pp.
- LEBAUDY A. (2004) Analyse moléculaire, génétique et écophysiological du rôle des canaux potassiques entrants de la cellule de garde d'*Arabidopsis thaliana*. *DEA, Univ. Montpellier II - ENSA Montpellier*, 21 pp.
- PANTIN F. (2008) Utilisation d'une série de mutants d'*Arabidopsis* pour analyser les contrôles hydrauliques et métaboliques de la croissance des plantes sous déficit hydrique. *M2, Univ. Montpellier II -15 pp*
- BELLUAU M. (2009) Effets du stress hydrique et des hautes températures sur la croissance, le développement et la physiologie d'*Arabidopsis thaliana*. Rapport de Master 2 Sciences et Technologies ; Mention Biologie, Géosciences, Agroressources, Environnement ; Spécialité : écologie fonctionnelle et développement durable ; parcours : fonctionnement des écosystèmes Naturels et Cultivés, Université Montpellier II. 18 p. + annexes.

Autres (Second cycle universitaire)

- CIBRARIO M. (1990) Détermination du potentiel hydrique racinaire sur pêcher : application à la modélisation des transferts d'eau dans la plante. Mémoire IUT Biologie Appliquée, Perpignan, 24pp.
- GOUTOULY J.P. (1991) Répartition des flux d'eau chez le pêcher, en relation avec les conditions d'absorption. Apports des données micromorphométriques et du marquage isotopique. Mémoire DEA, ENSAIA, Nancy, 38 pp + annexes.
- VÉRON R. (1994) Contribution à l'étude de la synthèse d'acide abscissique dans les racines de maïs.
- MARCHIORO O. (1999) Variabilité de réponse de la conductance stomatique au déficit de saturation de l'air chez le maïs et le tournesol. Rapport de Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie, Université Montpellier II, 21 pp + annexes.
- FINIELS A. (2001) Explication de l'effet du déficit de saturation de l'air sur la croissance foliaire du maïs. Rapport de Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie, Université Montpellier II, 12 pp + annexes.

- RIBES F. (2002) Croissance de la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana*. Analyse spatiale et réponse au déficit de saturation de l'air. Rapport de Licence de Biologie Cellulaire et Physiologie, Université Montpellier II, 27 pp + annexes.
- PERRIER B. (2002) Mise en place d'un dispositif de mesure de potentiel osmotique dans la zone en croissance du maïs et premiers résultats. Rapport de DUT d'Agronomie, IUT d'Avignon, 26 pp + annexes.
- CHÉRON M. (2002) Etude du rôle de la turgescence et du potentiel osmotique dans la réponse de la croissance foliaire du maïs (*Zea mays* L.) à un déficit hydrique édaphique. Rapport de Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie, Université Blaise Pascal Clermont Ferrand II, 15 pp + annexes.
- LEBAUDY A. (2003) Réponse de la transpiration des plantes aux conditions environnementales. Mise en oeuvre de 2 stratégies pour la recherche de déterminants génétiques. Rapport de Maîtrise de Physiologie Végétale Appliquée, Université Montpellier II, 25 pp.
- BLANCHET A. (2004) Etude méthodologique de pots céramique à double-paroi pour appréhender l'impact du stress hydrique sur le maïs (*Zea mays* L.). Stage méthodologique de 2^{ème} année, ENSH-INH, Angers, 23 pp.
- DELOGE F (2007) Rôle de l'ajustement osmotique dans la réponse de la croissance foliaire au déficit hydrique : une approche cellulaire. Master 1, Biologie, Géosciences, Agroressources et Environnement. Mention Biologie Fonctionnelle des Plantes. Université Montpellier II, 32 p.
- GAYRIN E (2007) Impact des variations d'activité des aquaporines racinaires sur les transferts d'eau dans la plante entière. Licence 3, Biologie Fonctionnelle des Plantes. Université Montpellier II, 19 p.
- PALPACUER S (2007) La conductance hydraulique racinaire du maïs : rôle et régulation des aquaporines et de l'acide abscissique. Master 1, Biologie, Géosciences, Agroressources et Environnement. Mention Biologie Fonctionnelle des Plantes. Université Montpellier II, 15p.

II.2.3. Publications techniques.

- LECOMTE A., GROSS P., DREYER E., SIMONNEAU T., HABIB R. (1989) SMART : système multifonction d'acquisition, de régulation et de traitement. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 22, 13-24.
- DAUZAT M., SIMON E., GRANIER C., HAMARD P., MULLER B., CHRISTOPHE A., COMBES D., SIMONNEAU T. (2004). Un automate de phénotypage pour cultiver des plantes à des états hydriques du sol contrôlés : Un outil d'aide à la caractérisation de la réponse de la croissance et de la transpiration à la sécheresse. *Cahiers Techniques de l'INRA*, 53, 21-33.

1. SIMONNEAU T., HABIB R. (1994) Water uptake regulation in peach trees with split root systems. *Plant, Cell and Environment*, **17**, 379-388.

Ce travail s'appuie sur mes travaux de thèse, et illustre une démarche de test d'hypothèse sur les mécanismes de régulation de l'absorption, assistée par la modélisation.

2. TARDIEU F., SIMONNEAU T. (1998) Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand. Modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany*, **49**, 419-432.

Cet article de synthèse regroupe un grand nombre d'expérimentations qui ont permis de faire évoluer un modèle de contrôle des flux d'eau à travers la plante par les stomates, basé sur le rôle de l'acide abscissique.

3. GUTSCHICK V., SIMONNEAU T. (2002) Modeling stomatal conductance of field-grown sunflower under varying soil water content and leaf environment : comparison of three models of stomatal response to leaf environment and coupling with an ABA-based model of stomatal response to soil drying. *Plant, Cell and Environment*, **25**, 1423-1434.

Cette approche de modélisation, réalisée en partenariat avec un professeur en visite au LEPSE, s'appuie sur des expérimentations au champ sur plusieurs années, et mobilise des techniques statistiques dans un but prédictif.

4. LEBAUDY A., VAVASSEUR A., HOSY E., DREYER I., LEONHARDT N., THIBAUD J.-B., VÉRY A.-A., SIMONNEAU T., SENTENAC H. (2008) Plant adaptation to fluctuating environment and biomass production are strongly dependent on guard cell potassium channels. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, **105**, 5271-5276.

Dans ce travail de biologie intégrative, j'ai mobilisé mes compétences en écophysiologie sur les déterminants environnementaux de la transpiration pour éclaircir le rôle d'un gène, identifié par mes collègues moléculaires, impliqué *a priori* dans les mouvements des stomates. (Co-encadrement de la thèse d'A. Lebaudy).

5. EHLERT C., MAUREL C., TARDIEU F., SIMONNEAU T. (2009) Aquaporin-mediated reductions in maize root hydraulic conductivity impacts cell turgor and leaf elongation even without changing transpiration. *Plant Physiology*. **150**, 1093-1104

Cet autre exemple de travail en biologie intégrative illustre comment il est possible de transférer les connaissances acquises chez une espèce modèle (*Arabidopsis thaliana*) pour questionner le rôle d'une famille de gènes qui contrôlent les flux d'eau transmembranaires vers une plante (le maïs) et une cible (la croissance foliaire) d'intérêts agronomiques. (Encadrement de la thèse de C. Ehlert)