



HAL
open science

Les sucres : entre nutrition et développement

Rozenn Le Hir

► **To cite this version:**

Rozenn Le Hir. Les sucres : entre nutrition et développement. Biologie végétale. Université Paris-Saclay, 2020. tel-02912071

HAL Id: tel-02912071

<https://hal.inrae.fr/tel-02912071>

Submitted on 5 Aug 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.

Université Paris-Saclay
Faculté des Sciences d'Orsay
Spécialité : Biologie végétale, écologie, évolution

Mémoire d'Habilitation à Diriger des Recherches

Présenté par

Rozenn LE HIR

Chargée de recherche à l'Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB, INRAE Versailles)

Sur le sujet :

Les sucres : entre nutrition et développement

Composition du jury :

Alain BOUCHEREAU	Professeur, Université de Rennes 1	Rapporteur
Marie-Pascale PRUDHOMME	Professeure, Université de Caen	Rapporteuse
Fabienne GUILLON	Directrice de recherche INRA, Nantes	Rapporteuse
Marianne DELARUE	Professeure, Université Paris-Saclay	Examinatrice
Rémi LEMOINE	Directeur de recherche CNRS, Poitiers	Examinateur

REMERCIEMENTS

Mettre la touche finale à ce mémoire en écrivant ces remerciements est un moment important car c'est l'occasion d'exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je commencerai par remercier l'ensemble des collègues que j'ai eu l'opportunité de rencontrer et avec qui j'ai eu la chance de travailler au cours de ces années et qui m'ont apporté tour à tour leurs conseils, leur soutien et leurs encouragements mais aussi leurs critiques car ce sont finalement elles qui nous permettent de progresser. C'est grâce à vous tou-te-s que j'ai pu construire ce parcours professionnel dans lequel je continue d'avancer tous les jours avec la même motivation et je vous en remercie.

J'ai ici une pensée toute particulière pour mon Directeur de thèse le Pr Jean-Daniel Viémont à qui je dois tant et qui nous a quitté trop tôt, ce mémoire lui est dédié.

Je pense également à Catherine Bellini qui m'a apporté son soutien sans faille et sa confiance lorsque ma vie personnelle a été ébranlée. C'est en grande partie grâce à toi que je passe cette HDR aujourd'hui et je t'en remercie. Je fais le souhait que notre collaboration continue à perdurer aussi longtemps que possible.

Merci également à Sylvie Dinant, qui m'a chaleureusement accueillie dans son équipe lors de mon recrutement. Nous avons une vision des choses parfois bien différente mais finalement très complémentaire. Tu apportes un grain de folie à mon côté trop « sage ».

Je n'oublie pas également les autres membres de l'équipe (Françoise, Beate, Laurence et Nelly), les 3 du Bât 3 (vous vous reconnaitrez 😊 !!!) et plus largement les collègues de l'IJPB. Merci pour votre aide au quotidien, votre soutien, pour les barbecues (vivement qu'ils reprennent !!!) et pour nos rigolades.

Merci aussi à l'ensemble des stagiaires et doctorants qui ont aussi contribué à faire progresser ces projets. J'espère avoir réussi à vous transmettre au moins un peu de ma passion pour ce métier.

Je voudrais également remercier Mesdames Marianne Delarue, Marie-Pascale Prud'homme et Fabienne Guillon ainsi que Messieurs Alain Bouchereau et Rémi Lemoine pour avoir accepté d'être rapporteur-e-s ou examinateur-ric-e-s de ce travail. J'espère que, malgré les conditions particulières que nous vivons, notre discussion autour de ce travail sera riche.

Finalement, merci à ma famille et mes ami-e-s qui ont œuvrés, œuvrent et continueront d'œuvrer dans les coulisses de cette aventure. Vous êtes la force dans laquelle je puise pour avancer malgré les difficultés. Merci pour votre soutien, votre patience, votre compréhension et votre amour. Je vous dois une éternelle reconnaissance.

Pr. Jean-Daniel Viémont *in tributum*

TABLE DES MATIERES

1. FICHE RECAPITULATIVE DE DEMANDE D'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES I	
2. PARCOURS ET REFERENCES	2
2.1 Etat civil	2
2.2 Diplômes	2
2.3 Expériences de recherche	2
2.4 Formations complémentaires	3
2.5 Activités d'enseignement	3
2.6 Activités liées à la recherche	4
2.6.1 Administration liée à la recherche	4
2.6.2 Participation à des jurys de concours, comités et jurys de thèse	4
2.7 Activités destinées à un large public	4
3. LISTE DES PUBLICATIONS	5
3.1 Articles et revues scientifiques	5
3.2 Articles en preparation ou soumis	6
3.2 chapitre d'ouvrage et rapports diplômants	7
3.3 Autres	7
3.3 Communications a des congres et des colloques	7
4. CONCEPTION ET COORDINATION DES ACTIVITES DE RECHERCHE	11
4.1 Recherche	11
4.2 Post-doc	12
4.3 These	13
4.4 Autre projet	13
5. ENCADREMENT	13
5.1 Encadrement de stagiaires	13
5.2 Encadrement de doctorants	14
6. ACTIVITES SCIENTIFIQUES	15
6.1. La gestion des sucres dans la plante	15
6.3. Etude de la croissance rythmique chez le chêne pour mieux comprendre les relations trophiques entre organes.	18
6.3.1 – Contexte de l'étude	18
6.3.2 – Manipulation du développement hétéroblastique	20
6.3.3 – Caractérisation morpho-histologique de l'hétéroblastie	20
6.3.4 – Le saccharose : un signal dans l'expression de l'hétéroblastie ?	21
6.3.5 – Rôle de l'ABA et de l'AIA dans l'hétéroblastie	21
6.3.6 – Conclusions	23

6.4. Utilisation de la génomique fonctionnelle pour mieux comprendre le développement des tissus vasculaires -----	24
6.4.1 – Contexte de l'étude-----	24
6.4.2 – Rôle des transporteurs ABCG dans le développement du système vasculaire-----	25
6.4.3 – Les facteurs de transcription de type DOFs-----	27
6.4.4 – Relation entre les facteurs de transcription de type bHLH et la signalisation par la lumière ou la voie de signalisation de l'ABA-----	27
6.4.5 – Les nodulines de type 3-----	28
6.4.6 – Conclusions-----	28
6.5. Implication des transporteurs SWEET dans le développement du système vasculaire. -----	29
6.5.1 – Contexte de l'étude-----	29
6.5.2 – Rôle des transporteurs SWEET11 et SWEET12-----	30
6.5.3 – Rôle des transporteurs SWEET16 et SWEET 17-----	33
6.5.4 – Action combinée des transporteurs SWEET11, SWEET12, SWEET16 et SWEET17 dans la croissance de la plante et le développement du xylème.-----	34
6.5.5 – Explorer les relations entre les différents types cellulaires du xylème-----	37
6.6. Projets complémentaires -----	37
6.6. Conclusion générale -----	38
7. PROJET DE RECHERCHE -----	40
7.1. Contexte de l'étude-----	40
7.2. Caractériser les connexions existantes entre les différents types cellulaires du système vasculaire-----	44
7.3. Caractériser le rôle des cellules de parenchyme dans le transport latéral des sucres-----	47
7.4. Compléter la caractérisation des transporteurs SWEET impliqués dans le transfert latéral des sucres-----	50
7.5. Mieux comprendre les interactions trophiques existantes entre les différents organes portés par la hampe principale.-----	53
7.6. Conclusion-----	54
8. BIBLIOGRAPHIE -----	55

1. FICHE RECAPITULATIVE DE DEMANDE D'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Nom : Le Hir	Prénom : Rozenn
Date de naissance : 10 septembre 1976	
Titre des travaux : Les sucres : entre nutrition et développement	
Diplômes de titres acquis 2000 : Doctorat en Sciences Agronomiques à l'Université d'Angers, France	
Situation professionnelle actuelle Chargée de Recherche	
Laboratoire de rattachement Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318, INRA Versailles	
Résumé du programme de recherche Mon projet de recherche vise à approfondir nos connaissances sur le transport latéral des sucres dans la hampe florale d' <i>Arabidopsis thaliana</i> .	
Sélection des quatre publications les plus significatives Dinant S, De Marco F, Wolff N, Vilaine F, Gissot L, Aubry E, Sandt C, Bellini C and <u>Le Hir R</u> (2019). Synchrotron FTIR and Raman spectroscopy provide unique spectral fingerprints for Arabidopsis floral stem vascular tissues. <i>Journal of Experimental Botany</i> , 70: 871-884. <u>Le Hir R</u> [#] , Spinner L [#] , Klemens, P, Chakraborti D, De Marco F, Vilaine F, Wolff N, Lemoine R, Porcheron B, Géry C, Téoulé E, Chabout S, Mouille G, Neuhaus E, Dinant S and Bellini C* (2015). Disruption of the sugar transporters <i>AtSWEET11</i> and <i>AtSWEET12</i> affects vascular development and freezing tolerance in Arabidopsis. <i>Molecular Plant</i> 8 (11): 1687-1690 [#] Contribution équivalente. <u>Le Hir R</u> , Sorin C, Chakraborti D, Moritz T, Schaller H, Tellier F, Robert S, Morin H, Bako L and Bellini C. (2013). ABCG9, ABCG11 and ABCG14 ABC transporters are required for vascular development in Arabidopsis. <i>The Plant Journal</i> 76:811-824. <u>Le Hir R</u> , Leduc N, Sotta B, Viéumont J-D, and Pelleschi-Travier S. (2006). Variations in sucrose and ABA concentrations are concomitant with the heteroblastic leaf shape changes in a rhythmically growing species (<i>Quercus robur</i> L.). <i>Tree Physiology</i> 26: 229-238.	

2. PARCOURS ET REFERENCES

2.1 ETAT CIVIL

LE HIR Rozenn, née le 10/09/1976 à Ploemeur (56), Chargée de Recherche, Institut Jean Pierre Bourgin (IJPB), INRAE Centre de Versailles AgroParisTech, UMR 1318, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles, tel : 01-30-83-30-57, rozenn.le-hir@inrae.fr, https://www-ijpb.versailles.inra.fr/fr/nap/equipements/Genomique_Phloeme/index.html, compte Twitter @CATSteam1.

2.2 DIPLOMES

- 2005 Doctorat en Sciences agronomiques, Université d'Angers
- 2001 DEA Altérations des système biologiques, Université d'Angers, mention B
- 2000 Maitrise des Sciences de l'Environnement, Université d'Angers, mention AB
- 1999 Maitrise de Biologie des populations et des écosystèmes, Université Rennes I, mention AB
- 1998 Licence de Biologie des organismes, Université Rennes I
- 1997 DEUG Sciences de la vie, Université d'Angers

2.3 EXPERIENCES DE RECHERCHE

- Depuis 2011** : Recrutement en tant que CR2 puis passage CR1 à l'Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB, UMR1318), Centre INRAE de Versailles dans l'équipe « Carbone, Allocation, Transport et Signalisation » animée par le Dr. Sylvie Dinant sur le sujet *Etude de protéines membranaires exprimées dans le système vasculaire : leur rôle dans le développement de la plante et son adaptation aux stress abiotiques.*
- 2005-2011** : Post-doc à l'Umeå Plant Science Centre (Suède), sous la direction du Dr./Pr. Catherine Bellini, sur le sujet *Caractérisation fonctionnelle de gènes spécifiquement exprimés dans le phloème.*
- 2001-2005** : Doctorat au laboratoire de Morphogenèse des ligneux, UMR SAGAH A-462, Université d'Angers (France), sous la direction du Pr. Jean-Daniel Viéumont, sur le sujet *Développement hétéroblastique et croissance rythmique chez le chêne pédonculé : Etude de l'implication du métabolisme glucidique et des régulateurs de croissance.*
- 2000-2001** : Stage de DEA au laboratoire de Morphogenèse des ligneux, UMR SAGAH A-462, Université d'Angers (France), sous la direction du Pr. Jean-Daniel Viéumont, sur le sujet *Déterminisme de la croissance rythmique chez le chêne pédonculé : Approches histologiques, biochimiques et moléculaires.*

1999-2000 : Stage de Maitrise au laboratoire de Phanérogamie (MNHN, Paris), sous la direction de Mr Marc Pignal, sur le sujet *Etude du genre Quercus à travers sa mise en synonymie et sa distribution dans l'Himalaya centre*.

1998 : Stage volontaire de Licence dans le bureau d'étude Ecosystèmes Bretagne (Larmor-Plage). Inventaire floristique et participation à la rédaction du dossier d'incidence pour la création d'un étang.

2.4 FORMATIONS COMPLEMENTAIRES

2017 : Ecole chercheur SPS « De l'expression des gènes aux réseaux » ; Ecole Doctorale SDV Orsay « Formation à l'encadrement des doctorants » ; MOOC Agreenium « Les bases de la chimométrie » et « Chimométrie avancée et validation de méthodes ».

2016 : MOOC Université Paris Sud « Introduction à la statistique avec R » ; Anastats « Formation en statistiques logiciel R avancé » ; MOOC AgroCampus Ouest « Analyse des données multidimensionnelles »

2014 : Ecole chercheur INRA « De l'image numérique à la donnée scientifique » ; Formation Synchrotron SOLEIL « Multivariate data analysis of infrared microspectroscopy data ».

2.5 ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT

2019-présent : Référente sur le site internet myjobglasses (<https://www.myjobglasses.com/>) qui vise à connecter les étudiants et les professionnels afin de les aider dans leur orientation professionnelle. J'ai ainsi eu deux entretiens en présentiel avec des étudiants en école d'ingénieur à AgroParisTech et trois entretiens téléphoniques avec des étudiants en école d'ingénieur à Bordeaux Sciences Agro et Lyon (ENSEEIHT). Au cours de ces entretiens j'ai répondu aux questions des étudiants par rapport à mon parcours professionnel et je leur ai fait partager les missions de mon métier.

2001-2004 : Poste de moniteur à l'Université d'Angers

2004-2005 : Poste d'ATER à l'Université d'Angers

Au cours des années de monitorat et d'ATER, j'ai effectué un total de 300 h équivalent TD sur les sujets suivants : Morphologie, anatomie, histologie, physiologie et écologie végétale, et adaptation des plantes au stress. J'ai également eu l'opportunité de monter un module de L3 sur l'histoire de la systématique végétale ainsi que des travaux pratiques de phytosociologie. Mes enseignements ont concerné tous les niveaux de la L1 au M1.

2.6 ACTIVITES LIEES A LA RECHERCHE

2.6.1 ADMINISTRATION LIEE A LA RECHERCHE

- 2019-présent** : Membre élue et Vice-Présidente du comité des utilisateurs du Synchrotron SOLEIL. Organisation d'un congrès annuel, interface utilisateurs/SOLEIL, promotion des besoins des utilisateurs. Représentante du comité des utilisateurs de SOLEIL auprès de l'ESUO (European Synchrotron and FEL User Organisation).
- 2018-présent** : Membre du Conseil des utilisateurs de la plateforme de Cytologie et d'Imagerie de l'IJPB.
- 2017-présent** : Membre du groupe des référents des thèses à l'IJPB. Organisation d'une assemblée générale annuelle pour les doctorants, organisation d'une table ronde sur l'emploi des docteurs hors du monde académique.
- 2015-présent** : Membre du Conseil Scientifique de l'Ecole Doctorale « Sciences du végétal ». Audition des doctorants hors concours, relecture des projets de thèse.
- 2015-présent** : Membre élue du Conseil de Service de l'IJPB. Organisation des réunions préparatoires au CS et des réunions du CS, rédaction de comptes-rendus, présentation des activités du CS lors des AG de l'IJPB.
- 2014-2018** : Co-organisatrice des séminaires scientifiques du pôle APE à l'IJPB. Mise en place d'un nouveau mode d'organisation des séminaires, programmation des séminaires et modération des séminaires.
- 2012-2014** : Représentante du personnel à la Commission Administrative Paritaire Nationale.
- 2000-2003** : Représentante des étudiants en DEA puis en Doctorat au Conseil de l'Ecole Doctorale de l'Université d'Angers.

2.6.2 PARTICIPATION A DES JURYS DE CONCOURS, COMITES ET JURYS DE THESE

- 2019** : Examinatrice dans le jury de thèse de Mr Antoine DESRUT en 2019. Thèse sous la direction du Dr. Cécile Vriet, Université de Poitiers.
- 2019** : Membre du comité de thèse de Mme Alice DESTAILLEUR en 2019. Thèse sous la direction du Dr. Martine Dieuaide-Noubhani, INRA Bordeaux.
- 2016 et 2017** : Membre du comité de thèse de Mme Jing LU en 2016 et 2017. Thèse sous la direction du Dr. Enrico Magniani, INRA Versailles.
- 2014** : Membre du jury du concours annuel pour l'attribution des bourses de thèse de l'Ecole Doctorale Sciences du Végétale en 2014.

2.7 ACTIVITES DESTINEES A UN LARGE PUBLIC

- 2020** : Trois conférences grand public dans les médiathèques de Courbevoie, Suresnes et Châtillon (Hauts-de-Seine) sur le thème : « *La contribution des sucres des plantes dans notre quotidien : pour nous nourrir, nous vêtir, nous loger et nous chauffer* ».
- 2019** : Conférence sur le thème : « *Les sucres : biosynthèse, transport et utilisation chez les végétaux* », lors de la journée Fascination of Plants Day (classes de lycée et de collège).

2018 : Conférence sur le thème : « *Les sucres et les plantes ou comment les sucres participent à la croissance des plantes et à leur adaptation à l'environnement* », lors de la finale du Concours C'Génial devant les collégiens ayant participé au concours.

3. LISTE DES PUBLICATIONS

Informations bibliométriques

Base de données ^o	Année de la première publication scientifique	H-index	Nombre total de citations	Nombre moyen de publication par article
Web of Science	2005	10	298	16.5
Google Scholar		10	447	26

3.1 ARTICLES ET REVUES SCIENTIFIQUES

Les citations sont indiquées comme suit : Web of Sciences WoS/ Google Scholar GS. L'impact facteur à 5 ans est celui fourni par Thomson Reuters 2018 citation report. Le nom des doctorants/étudiants encadrés ou co-encadrés figure en gras dans les références.

1. Lakehal A, Chaabouni S, Cavel E, Le Hir R, Rajan A, Raneshan Z, Novak O, Pacurar DI, Perrone I, Jobert F, Gutierrez L, Bako L and Bellini C (2019) Molecular framework for TIR1/AFB-Aux/IAA-dependent auxin sensing controlling adventitious rooting in *Arabidopsis*. Molecular Plant 12:1499-1514 (5-years IF: 10.682, citations 3/7).
2. Sellami S, Le Hir R, Thorpe MR, Vilaine F, Wolff N, Brini F and Dinant S (2019) Salinity effects on sugar homeostasis and vascular anatomy in the stem of the *Arabidopsis thaliana* inflorescence. International Journal of Molecular Sciences 20, 3167, doi:10.3390/ijms20133167 (5-years IF: 4.331, citations 0/0).
3. Sellami S, Le Hir R, Thorpe MR, **Aubry E**, Wolff N, Vilaine F, Brini F and Dinant S (2019) *Arabidopsis* natural accessions display adaptations in inflorescence growth and vascular anatomy to withstand high salinity during reproductive growth. Plants 8, 61, doi:10.3390/plants8030061 (2018 IF: 2.632, citations 2/2).
4. **Aubry E**, Dinant S, Vilaine F, Bellini C and Le Hir R (2019) Lateral transport of organic and inorganic solutes. Plants 8, 20, doi:10.3390/plants8010020 (5-years IF: 2.632, citations 3/6).
5. Dinant S, De Marco F, Wolff N, Vilaine F, Gissot L, **Aubry E**, Sandt C, Bellini C and Le Hir R (2019) Synchrotron FTIR and Raman spectroscopy provide unique spectral fingerprints for *Arabidopsis* floral stem vascular tissues. Journal of Experimental Botany 70:871-884 (5-years IF: 6.305, citations 0/1).
6. De Marco F, Le Hir R and Dinant S (2018) The rendez-vous of mobile sieve-element and abundant companion-cell proteins. Current Opinion in Plant Biology 43:108-112 (5-years IF: 7.889, citations 1/1).
7. Le Hir R, **Castelain M**, Chakraborti D, Moritz T, Dinant S and Bellini C (2017) AtbHLH68 transcription factor contributes to the regulation of ABA homeostasis and drought stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. Physiologia plantarum 160:312-327 (5-years IF: 3.315, citations 11/16).

8. De Marco F, Pagliari L, Degola F, Buxa SV, Loschi A, Dinant S, Le Hir R, Morin H and Musetti R (2016) Combined microscopy and molecular analyses show phloem occlusions and cell wall modifications in tomato leaves in response to ‘*Candidatus Phytoplasma solani*’. Journal of Microscopy 263:212-225 (5-years IF: 1.993, citations 6/7).
9. Le Hir R, Spinner L, Klemens PAW, Chakraborti D, De Marco F, Vilaine F, Wolff N, Lemoine R, Porcheron B, Géry C, Téoulé E, Chabout S, Mouille G, Neuhaus HE, Dinant S and Bellini C (2015) Disruption of the sugar transporters AtSWEET11 and AtSWEET12 affects vascular developments and freezing tolerance in Arabidopsis. Molecular Plant 8:1687-1690 (5-years IF: 10.682, citations 28/45).
10. Cayla T, Batailler B, Le Hir R, Revers F, Anstead JA, Thompson G, Grandjean O and Dinant S (2015) Live imaging of companion cells and sieve elements in Arabidopsis leaves. Plos One 10:e0118122 (5-years IF: 3.337, citations 18/29).
11. Klemens PAW, Patzke K, Detmer JW, Spinner L, Le Hir R, Bellini C, Bedu M, Chardon F, Krapp A and Neuhaus HE (2013) Overexpression of the vacuolar sugar carriers AtSWEET16 modifies germination, growth and stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology 163:1338-1352 (5-years IF: 7.024, citations 78/120).
12. Le Hir R, **Sorin C**, Chakraborti D, Moritz T, Schaller H, Tellier F, Robert S, Morin H, Bako L and Bellini C (2013) ABCG9, ABCG11 and ABCG14 ABC transporters are required for vascular development in Arabidopsis. The Plant Journal 76:811-824 (5-years IF: 6.467, citations 29/40).
13. Le Hir R and Bellini C (2013) The plant-specific Dof transcription factors family: new players involved in the vascular system developments and functioning in Arabidopsis. Frontiers in Plant Science 4:164 (5-years IF: 4.855, citations 39/61).
14. **Castelain M**, Le Hir R and Bellini C (2012) The non-DNA binding bHLH transcription factor *PRE3/bHLH135/ATBS1/TMO7* is involved in the regulation of light signaling pathway in Arabidopsis. Physiologia Plantarum 145:450-460 (5-years IF: 3.315, citations 31/40).
15. Le Hir R, Beneteau J, Bellini C, Vilaine F and Dinant S (2008) Gene expression profiling: New keys for investigating phloem function. Trends in Plant Science 13:273-280 (5-years IF: 14.017, citations 23/33).
16. Le Hir R, Leduc N, Sotta B, Viéumont J-D and Pelleschi-Travier S (2006) Variations in sucrose and ABA concentrations are concomitant with the heteroblastic leaf shape changes in a rhythmically growing species (*Quercus robur* L.). Tree Physiology 26:229-238 (5-years IF: 4.095, citations 14/18).
17. Le Hir R, Pelleschi-Travier S, Viéumont J-D and Leduc N (2005) Sucrose synthase expression pattern in the rhythmical growing shoot of common oak (*Quercus robur* L.). Annals of Forest Science 62:585-591 (5-years IF: 2.555, citations 12/15).

3.2 ARTICLES EN PREPARATION OU SOUMIS

1. De Marco F, Batailler B, Thorpe MR, Razan F, Le Hir R, Vilaine F, Bouchereau A, Martin-Magniette M-L, Eveillard S and Dinant S. Both sucrose loading and peroxisomal metabolism are impaired during early phloem responses to stolbur phytoplasma infection in tomato. En révision à New Phytologist (5-years IF: 8.344).

2. Desrut A, Moumen B, Thibault F, Le Hir R, Coutos-Thévenot P and Vriet C. Beneficial rhizobacteria *Pseudomonas simiae* WCS417 induces major transcriptional changes in plant sugar transport. En révision à Journal of Experimental Botany (5-years IF: 5.4).
3. Lu J, Coen O, Péchoux C, Le Hir R and Magnani E. The Arabidopsis nucellus, between cell elimination and sugar transport. En révision à Plant Cell (5-years IF: 9.848).

3.2 CHAPITRE D'OUVRAGE ET RAPPORTS DIPLOMANTS

1. Cayla T, Le Hir R and Dinant S (2019) Live-cell imaging of fluorescently-tagged phloem proteins with confocal microscopy. Phloem: Methods and Protocols. Methods in Molecular biology, Springer Nature, 2014:95-108 (citations 0/1).
2. Emilie Aubry (2019) Rôle des transporteurs SWEET dans le développement du système vasculaire d'*Arabidopsis thaliana*, la croissance et l'adaptation de la plante à son environnement. Thèse de Doctorat en Biologie, Université Paris-Saclay.
3. Emilie Aubry (2016) Impact d'une modification du transport des sucres sur le développement du système vasculaire chez *Arabidopsis thaliana*. Rapport de Master 2 Biologie et Ecologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement, Université de Nancy.
4. Fatoumata Gary (2015) Caractérisation fonctionnelle des gènes *SWEET16* et *SWEET17* : Analyse du développement du système vasculaire et de la composition de la paroi secondaire du xylème chez *Arabidopsis thaliana*. Rapport de Master 1 Sciences du végétal, Université Paris Sud.
5. Nabila Abderrahmani (2013) Caractérisation fonctionnelle de deux facteurs de transcription de type bHLH chez *Arabidopsis thaliana*. Rapport de Licence professionnelle de Biotechnologie, Université-Saint-Quentin.
6. Clément Sorin (2010) Caractérisation de la dimérisation des transporteurs de la sous famille des ABCG chez *Arabidopsis thaliana*. Rapport de Master 1 Biologie-Santé (parcours Physiologie Végétale), Université de Nantes.

3.3 AUTRES

1. Le Hir R (2018) Looking deep inside the phloem and xylem cell wall composition. Fil d'actualités du site Scoop.it! de l'Université Paris Saclay.
2. Le Hir R (2016) Découverte de nouveaux facteurs intervenant dans la mise en place des tissus vasculaires chez les végétaux. Actualités du Centre de Versailles-Grignon.

3.3 COMMUNICATIONS A DES CONGRES ET DES COLLOQUES

3.3.1 Communications orales (l'intervenant est souligné)

1. **Aubry E**, Wolff N, Dinant S, Bellini C and Le Hir R. (2019) Importance of sugar homeostasis within xylem parenchyma cells to sustain xylem development. Plant Vascular Biology 2019 (PVB2019), Asilomar, USA, 17-20 juin (Communication orale sélectionnée sur résumé).
2. Dinant S, Wolff N, De Marco F, Vilaine F, Gissot L, **Aubry E**, Sandt C, Bellini C and Le Hir R. (2019) Looking deep inside the phloem and xylem cell wall composition by synchrotron

- FTIR and Raman spectroscopy. Plant Vascular Biology 2019 (PVB2019), Asilomar, USA, 17-20 juin (Communication orale sélectionnée sur résumé).
3. Dinant S, Wolff N, De Marco F, Vilaine F, Gissot L, Aubry E, Sandt C, Bellini C and Le Hir R. (2019) Looking deep inside the phloem and xylem cell wall composition by synchrotron FTIR and Raman spectroscopy. SOLEIL Users Meeting, Paris, France, 17-18 janvier (Communication orale sélectionnée sur résumé).
 4. Lakehal A, Chaabouni S, Cavel E, Le Hir R, Păcurar DI, Gutierrez L, Perrone I, Brunoni F, Alallaq S, Ranjan A, Bako L, Ljung K, Bellini C. (2017) Complex hormone crosstalk controls adventitious root formation. 8th International Symposium on Root Development, Umeå, Sweden, 29 mai (Communication orale invitée).
 5. Le Hir R, De Marco F, Wolff N, Vilaine F, Gissot L, Sandt C, Bellini C, Jamme F and Dinant S. (2017) The vascular tissues in *Arabidopsis thaliana* floral stem: High spatial resolution using Synchrotron infrared, Raman and deep UV spectroscopy. 1st International Plant Spectroscopy Conference, Umea, Sweden, 29-30 août (Communication orale sélectionnée sur résumé).
 6. Chaabouni S, Lakehal A, Cavel E, Le Hir R, Păcurar DI, Gutierrez L, Perrone I, Brunoni F, Alallaq S, Ranjan A, Bako L, Ljung K, Bellini C (2016) Complex hormone crosstalk controls adventitious root formation. 8th international symposium on root development, Sanya, China, 20-25 octobre (Communication orale sélectionnée sur résumé).
 7. Le Hir R, Spinner L, Klemens P, Chakraborti D, Marco F, Vilaine F, Wolff N, Lemoine R, Porcheron B, Géry C, Téoulé E, Chabout S, Mouille G, Neuhaus E, Dinant S and Bellini C (2016) Disruption of the sugar transporters AtSWEET11 and AtSWEET12 affects vascular development and freezing tolerance in Arabidopsis. Annual meeting of the SEB, Brighton, UK, 4-7 juillet. (Communication orale invitée).
 8. Lakehal A, Chaabouni S, Cavel E, Pigozzo I, Pacurar DI, Perrone I, Le Hir R, Bellini C (2014) Specific Aux/IAA-ARF signaling modules regulate adventitious root initiation in Arabidopsis hypocotyl. International Symposium on Auxins and Cytokinins in Plant Development, Prague, Czech Republic, 30 juin-5 juillet. (Communication sélectionnée sur résumé).
 9. Bellini C, Chaabouni S, Lakehal A, Cavel E, Pigozzo I, Pacurar DI, Perrone I, Le Hir R (2014) Adventitious rooting is controlled by a complex interaction between auxin and jasmonate signaling pathways. 7th International Symposium on Root Development, Weimar, Germany, 15-19 septembre (communication orale invitée).
 10. Le Hir R, **Sorin C**, Chakraborti D, Moritz T, Schaller H, Tellier F, Robert S, Morin H, Bakó L, Bellini C (2014) ABCG9, ABCG11 and ABCG14 ABC transporters are required for vascular development in Arabidopsis. 2d international workshop of the DFG funded research group 1061. "Plant Primary Metabolism. Synthesis-, Storage- and Degradation Processes", Heidelberg, Germany, 7-9 mai (Communication orale invitée).
 11. Vilaine F, Le Hir R, De Marco F, Bellini C, Dinant S (2013) Carbon partitioning: more and more players acting on phloem loading. Workshop Franco-Taiwanais en Biologie Végétale appliquée à l'amélioration des plantes, Font Romeu, France, 23-24 octobre. (Communication orale invitée).
 12. Le Hir R. (2012) Overview of the mechanisms underlying patterning of plant vascular tissues. Le phloème dans tous les états-2^{ndes} journées de Poitiers, Poitiers, France, 2-3 avril (Communication orale invitée).

13. Castelain M, Le Hir R, Lindgren O, Helariutta Y, Sandberg G, Dinant S and Bellini C (2006) Functional characterization of orphan genes expressed in the phloem. XV Congress FESPB, Lyon, France, 17-21 juillet (Communication orale sélectionnée sur résumé).
14. Le Hir R, Pelleschi-Travier S, Sotta B, Viéumont J-D and Leduc N. (2004) Study of a determinism of a particular case of dormancy: the rhythmical growth of the shoot axis. 3rd international symposium on Plant dormancy, from molecular level to the whole plant, Wageningen, Netherlands, 24-28 mai (Communication orale sélectionnée sur résumé).
15. Le Hir R, Leduc N, Pelleschi-Travier S, Sotta B and Viéumont J-D. (2003) Study of carbohydrates metabolism and hormonal status of apex in the determinism of heteroblasty in common oak. 2^{ème} rencontres d'Ecophysiologie de l'Arbre, La Rochelle, France, 8-12 décembre (Communication orale sélectionnée sur résumé).
16. Le Hir R, Leduc N, Pelleschi-Travier S, Sotta B and Viéumont J-D. (2003) Étude du métabolisme glucidique et du statut hormonal de l'apex dans le déterminisme de l'hétéroblastie chez le Chêne pédonculé (*Quercus robur* L.). 6^e séminaire des étudiants en Biologie, Angers, France, 19 juin (Communication orale sélectionnée sur résumé).
17. Le Hir R, Leduc N, Pelleschi-Travier S, Sotta B, and Viéumont J-D. (2002) Approches glucidique et hormonal du déterminisme de la croissance rythmique chez le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.). Séminaire du Groupe d'Etude de l'Arbre, S^t Flour, France, 21-22 mars (Communication orale sélectionnée sur résumé).

3.3.2 Posters

1. Dinant S, De Marco F, Le Hir R, Vilaine F, Batailler B, Eveillard S. (2019). Early phloem responses to stolbur phytoplasma infections in tomato reveal changes in the peroxisomal metabolism. In: *SFBV 2019*. 12^{ème} Congrès de la Société Française de Biologie Végétale, Strasbourg, France, 16-18 juillet (poster+résumé).
2. Dinant S, De Marco F, Wolff N, Le Hir R, Bellini C, Vilaine F, Montfalet P, Marmagne A, Chardon F, Magniette M.-L. (2018). Deciphering variations of phloem and xylem sap metabolite profiles in response to N availability in Arabidopsis accessions. Symposium Plant Signaling and Development, Daegu, Korea, 17-18 décembre (poster+résumé).
3. Dinant S, Martin-Magniette ML, Chardon F, Bellini C, Marmagne A, Monfalet P, Vilaine F and Le Hir R. (2016) How does natural variation impact the metabolite profile of phloem and xylem saps in *Arabidopsis thaliana*? Colloque de la SFBV, Angers, France, 6-7 juillet (poster+résumé).
4. Le Hir R, De Marco F, Wolff N, Vilaine F, Gissot L, Sandt C, Dinant S and Bellini C. (2016) Xylem and phloem cell wall composition in Arabidopsis thaliana floral stem: High spatial resolution using Synchrotron infrared microspectroscopy and Raman spectroscopy. Multiscale Plant Vascular Biology - Gordon Research Conference Sunday river, USA, 26 juin-1er juillet (poster+résumé).
5. De Marco F, Yesbergenova Z, Martin-Magniette M-L, Girard F, Monfalet P, Vilaine F, Le Hir R, Hirel B, Dinant S. (2015) Comparative metabolite profiling of the phloem saps of Maize, Tomato and Arabidopsis plants. 9^{ème} journée scientifique du Réseau Français de Métabolomique et Fluxomique, Lille, France, 9-11 juin (poster+résumé).
6. Lakehal A, Chaabouni S, Cavel E, Pigozzo I, Pacurar DI, Peronne I, Le Hir R and Bellini C. (2015) Specific Aux/IAA-ARF signaling modules regulate adventitious root initiation in

- Arabidopsis hypocotyl. EMBO Conference Signalling in Plant Development. Brno, Czech Republic, 20-24 septembre (poster+résumé).
7. Chaabouni S, Lakehal A, Cavel E, Pigozzo I, Pacurar DI, Perrone I, Le Hir R and Bellini C. (2014) Specific Aux/IAA-ARF signaling modules regulate adventitious root initiation in Arabidopsis hypocotyl. SWEDBO – The Swedish Developmental Biology Organization 2nd Conference. Umea, Sweden, 14 octobre (poster+résumé).
 8. Le Hir R and Dinant S (2014) Allocation carbonée chez les plantes. Saclay Plant' Innov' : les rendez-vous de l'innovation végétale, Versailles, France, 15 mai (poster).
 9. Vilaine F, Spinner L, Cayla T, Le Hir R, Bellini C and Dinant S (2012) Carbon partitioning: more and more players acting on phloem loading. Plant Biology 2012 FESPB and EPSO, Freiburg, Allemagne, 27 juillet-3 août (poster).
 10. Le Hir R, Cayla T, Thompson G and Dinant S (2012) *In vivo* subcellular phloem mapping in *Arabidopsis thaliana*. Plant Vascular Development and International Conference on Arabidopsis Research, Vienne, Autriche, 1-7 juillet (poster).
 11. Cayla T, Le Hir R, Thompson G and Dinant S. *In vivo* subcellular phloem mapping in *Arabidopsis thaliana*. Plant Biology 2012 FESPB and EPSO, Freiburg, Allemagne, 27 juillet-3 août (poster).
 12. Le Hir R, **Castelain M**, Lindgren O, Helariutta Y, Dinant S, Sandberg G and Catherine Bellini. (2007) Functional characterization of phloem genes. International conference on Plant Vascular Biology, Taipei, Taiwan, 7-11 mai (poster).
 13. Le Hir R, Pelleschi-Travier S, Leduc N, Sotta B, and Viéumont J-D. (2006) Heteroblastic development and rhythmic growth in common oak (*Quercus robur* L.): study of carbohydrate metabolism and growth regulators involvement. XVe Congress FESPB, Lyon, France, 17-21 juillet (poster).
 14. **Castelain M**, Le Hir R, Lindgren O, Helariutta Y, Dinant S, Sandberg G and Bellini C. (2005 and 2006) Functional characterization of phloem genes. IUFRO Tree Biotech (2005), Pretoria, Afrique du Sud, November 6-11 and XVe Congress FESPB (2006), Lyon, France, 17-21 juillet (poster).
 15. Le Hir R, Leduc N, Pelleschi-Travier S, Sotta B and Viéumont J-D. (2003) Study of carbohydrates metabolism and hormonal status in the determinism of heteroblasty in common oak. 5^e rencontres de la SFBV, Orsay, France, 9-11 juillet (poster).
 16. Brunel N, Le Hir R, Pelleschi-Travier S, Leduc N, Maugenest S and Viéumont J.D. (2003) Approches biochimique et moléculaire du fonctionnement des bourgeons chez les espèces ligneuses. 1^{ères} rencontres d'Ecophysiologie de l'Arbre, France, 16-19 janvier (poster).

3.3.3 Séminaires invités dans divers instituts/universités

1. 2020 : Université de Poitiers. Invitée par le Dr. Cécile Vriet (reporté).
2. 2018 : Umeå Plant Science Centre, Umeå (Suède). Invitée par le Pr. Catherine Bellini.
3. 2012 : Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, Strasbourg (France). Invitée par le Dr. Hubert Schaller.

4. CONCEPTION ET COORDINATION DES ACTIVITES DE RECHERCHE

4.1 RECHERCHE

N°	Acronyme	Durée (mois)	Budget demandé (€)	Année de soumission	Statut	Appel d'offre	Coordination	Objectifs
1	PiXiE	48	228 120	2013	Non financé	ANR JCJC	Coordinatrice	Rôle des transporteurs SWEET dans les échanges de sucres entre le phloème et le xylème ainsi que dans l'adaptation d' <i>Arabidopsis thaliana</i> à un environnement contraignant.
2	VASCULODROME	24	20 000	2013	Financé	Département BV INRA	Participante	Relations fonctionnelles entre les pools métaboliques transportés à longue distance, le rendement et l'adaptation aux stress abiotiques.
3	PiXiE	48	250 000	2014	Non financé (1 ^{ère} phase)	ANR JCJC	Coordinatrice	Rôle des transporteurs SWEET dans les échanges de sucres entre le phloème et le xylème chez <i>Arabidopsis thaliana</i> et le peuplier.
4	PHLOXY.COM	24	24 000	2014	Refusé	Département BAP INRA	Coordinatrice	Transfert latéral des sucres entre les cellules vasculaires chez <i>Arabidopsis thaliana</i> : implications des transporteurs SWEET.
5	PiXiE	48	240 000	2015	Non financé (1 ^{ère} phase)	ANR JCJC	Coordinatrice	Rôle des protéines SWEET dans le transfert latéral et la formation de la paroi secondaire du xylème.
6	CARACAS	48	555 000	2015	Non financé (2 ^{ème} phase)	ANR Blanc	Responsable de work package	Facteurs clés de l'allocation du carbone dans le cadre l'adaptation à un environnement contraignant.
7	CARBONATOM	36	60 000	2015	Non financé	Département BAP INRA	Participante	Changements dans l'allocation des sucres et du métabolisme carboné en réponse aux phytoplasmes dans l'interaction Stolbur-tomate.

N°	Acronyme	Durée (mois)	Budget demandé (€)	Année de soumission	Statut	Appel d'offre	Coordination	Objectifs
8	CARACAS	48	255 000	2016	Non financé (2 ^{ème} phase)	ANR Blanc	Participante	Facteurs clés de l'allocation du carbone dans le cadre l'adaptation à un environnement contraignant.
9	PiXiE	48	238 000	2016	Non financé (2 ^{ème} phase)	ANR JCJC	Coordinatrice	Processus contrôlant la distribution des squelettes carbonés au xylème au cours de la formation de la paroi secondaire et d'approfondir le rôle des protéines SWEET dans le transfert latéral des sucres.
10	XylemTRAP	24	24 000	2016	Financé	Département BAP INRA	Coordinatrice	Traductome des différents types cellulaires du xylème en utilisant la technique TRAP combinée à un profilage transcriptomique par RNA-seq.
11	COLOMBO	48	493 000	2017	Non financé (1 ^{ère} phase)	ANR Blanc	Participante	Mécanismes régulant l'allocation du carbone au cours de la phase reproductive chez <i>Arabidopsis thaliana</i> .
13	NOSINESS	48	490 000	2018	Non financé (1 ^{ère} phase)	ANR Blanc	Participante	Rôle du péricarpe dans le rendement et la qualité de graines chez le colza.
14	METAGRAPE	48	481 000	2020	Non financé (1 ^{ère} phase)	ANR Blanc	Participante	Impact du statut métabolique de la vigne dans la tolérance aux maladies du bois afin d'identifier de nouvelles stratégies de contrôle.

4.2 POST-DOC

N°	Acronyme	Durée (mois)	Budget demandé (€)	Année	Statut	Appel d'offre	Coordination	Objectifs
1	CARAMELOME	36	30 000	2012	Non financé	Département BV INRA	Participante	Métabolome de sève phloémienne chez <i>Arabidopsis</i> .
2	SPICEA	24	126 000	2016	Non financé	LabEx SPS	Participante	Imagerie spectrale du système vasculaire de la hampe florale chez <i>Arabidopsis thaliana</i> .
3	PlantBioTools	12	45 000	2016	Financé	LabEx SPS	Participante	Outils pour monitorer les effets d'une modification nutritionnelle sur l'allocation carbonée chez la tomate : application sur une interaction plante/insecte.
4	Pas d'acronyme	24	Salaire pour 2 ans	2018	Non financé	Bourse Kempe-INUPRA	Co-responsable	Rôle des SWEETs au cours de la formation de la paroi secondaire chez <i>Arabidopsis</i> et le peuplier

4.3 THESE

N°	Acronyme	Durée (mois)	Budget demandé (€)	Année	Statut	Appel d'offre	Coordination	Objectifs
1	SWEELEM	36	3 ans salaire et 15 000 €/an	2016	Financé	LaBex SPS	Coordinatrice	Impact d'une modification du transport des sucres sur le développement du xylème de la hampe florale d' <i>Arabidopsis thaliana</i> .
2	Pas d'acronyme	4	1 500 € par mois	2017	Non financé	Bourse Raman-Charpak	Coordinatrice	Conséquences de l'infection du pois d'Angole par le <i>Fusarium udum</i> sur l'expression des gènes associés au développement vasculaire ainsi que sur la composition de la paroi de la racine.

4.4 AUTRE PROJET

N°	Acronyme	Durée	Budget demandé (€)	Année	Statut	Appel d'offre	Coordination	Objectifs
1	SUMMER SCHOOL	1 sem	Le LaBex prend en charge la totalité des frais	2021	Financé	LaBex SPS	Coordinatrice	Cette école d'été sera centrée sur le métabolisme, le transport et la signalisation des sucres dans un environnement contraignant.

5. ENCADREMENT

5.1 ENCADREMENT DE STAGIAIRES

1. Fanny Pinoteau (Avril-Mai 2018) Analyse phénotypique des mutants d'*Arabidopsis thaliana* complémentés par SWEET11-GFP ou SWEET12-GFP. L2 Université d'Orsay. Co-encadrement avec Emilie Aubry.
2. Emilie Aubry (Février-Août 2016) Impact d'une modification du transport des sucres sur le développement du système vasculaire chez *Arabidopsis thaliana*. Master 2 FAGE, Université de Nancy.
3. Fatoumata Gary (Avril-Août 2015) Caractérisation fonctionnelle des gènes SWEET16 et SWEET17 : Analyse du développement du système vasculaire et de la composition de la paroi secondaire du xylème chez *Arabidopsis thaliana*. Master 1 Sciences du végétal, Université Paris Sud.
4. Nabila Abderrahmani (Janvier-Juin 2013) Caractérisation fonctionnelle de deux facteurs de transcription de type bHLH chez *Arabidopsis thaliana*. Licence Professionnelle de Biotechnologie, Université de Saint-Quentin.

5. Tiffany Delormel (Juin-Août 2012) Génotypage des lignées *sweet* et mise en place du protocole de BiFC sur des protoplastes d'*Arabidopsis thaliana*. Licence L3 Université d'Orsay.
6. Clément Sorin (Avril-Août 2010) Caractérisation de la dimérisation des transporteurs de la sous famille des ABCG chez *Arabidopsis*. Master 1 Biologie-Santé (parcours Physiologie Végétale), Université de Nantes. Co-encadrement avec Catherine Bellini.
7. Clémentine Le Roux (Février-Juin 2008) Anatomie et développement des tissus vasculaires chez les spermaphytes. Master 1 Génomique et Productivité végétale, Université de Paris 7. Co-encadrement avec Catherine Bellini.
8. Marie Fortin (Juin-Août 2007) Analyse des profils d'expression des facteurs de transcription de la famille Dof chez *Arabidopsis*. Rapport de BTSA. Lycée LEGTA-ANABIOTEC de Fontenay le Comte. Co-encadrement avec Catherine Bellini.
9. Marion Sellier (Juin-Août 2006) Caractérisation fonctionnelle de gènes fortement exprimés dans le phloème. Rapport de BTSA. Lycée LEGTA-ANABIOTEC de Castanet-Tolosan, France. Co-encadrement avec Catherine Bellini.

5.2 ENCADREMENT DE DOCTORANTS

1. Emilie Aubry, 2016-2019, encadrement 100 %
2. Mathieu Castelain 2005-2009, encadrement 30 %

6. ACTIVITES SCIENTIFIQUES

J'ai effectué mes études universitaires à l'Université d'Angers et de Rennes où j'ai suivi un cursus en botanique et biologie des populations et des écosystèmes. En parallèle, de la licence à la 1^{ère} année de thèse, j'ai également travaillé en freelance (3 à 4 fois dans l'année) dans différents bureaux d'études pour faire des relevés floristiques pour des études d'impacts. Bien que la systématique végétale fût passionnante, ce sont les réponses à la question naïve « les plantes, comment ça marche ? », qui ont motivé mon orientation vers la recherche scientifique et mon choix de devenir chercheur en physiologie végétale. Ainsi, le travail effectué au cours du stage de DEA et de ma thèse de doctorat m'a permis de développer une approche de physiologie moléculaire pour mieux comprendre le rôle du métabolisme glucidique et des régulateurs de croissance sur l'architecture et la morphogenèse foliaire chez le chêne, une espèce pérenne. Lors de mon stage post-doctoral à l'Umeå Plant Science Centre (UPSC, Suède), j'ai développé une approche de génomique fonctionnelle pour étudier la fonction de gènes exprimés dans le phloème chez l'espèce annuelle modèle *Arabidopsis thaliana*. Finalement, lors de mon recrutement à l'Institut Jean Pierre Bourgin (IJPB, Centre INRAE de Versailles), j'ai choisi de développer un projet centré sur le rôle des transporteurs de sucres SWEET dans le développement du système vasculaire, la croissance et l'adaptation des plantes à leur environnement.

6.1. LA GESTION DES SUCRES DANS LA PLANTE

La photosynthèse est le processus fondamental permettant la biosynthèse des sucres chez les végétaux. Ainsi, l'action combinée de la lumière, de l'eau et du dioxyde de carbone au sein du cycle de Calvin-Benson, conduit à la production de di-oxygène et de trioses-phosphates (dont le 3-phosphoglycérate). Les trioses-phosphates sont ensuite, soit transportés dans le cytosol pour la synthèse de sucres sous forme d'hexoses phosphates (i.e. fructose-6-phosphate, glucose-6-phosphate et glucose-1-phosphate), soit restent dans le stroma du chloroplaste pour la synthèse d'amidon. Finalement, les hexoses-phosphates servent de base pour la synthèse cytosolique du fructose, du glucose puis du saccharose qui constitue la principale forme de sucres transportée chez les plantes. En fonction de la cellule dans laquelle ils ont été synthétisés, les sucres simples (i.e. glucose, fructose et saccharose) vont être distribués entre les différents compartiments subcellulaires où ils seront utilisés pour : la glycolyse, la synthèse des sucres complexes (polysaccharides pariétaux), le stockage (amidon), la signalisation et/ou l'export vers les cellules et les tissus adjacents puis pour le transport à longue distance (*via* le phloème).

Toutes les parties vertes de la plante sont capables de réaliser la photosynthèse. Pourtant, en fonction de leur stade de développement, les différents organes photosynthétiques vont avoir un statut différent vis-à-vis du saccharose.

Lorsque la capacité photosynthétique d'un organe excède ses besoins alors cet organe devient exportateur vis-à-vis du saccharose, il est donc qualifié d'organe source. C'est le cas des feuilles matures (Figure 1). Au contraire, un organe est qualifié de puits soit parce qu'il n'est pas photosynthétique soit parce que sa capacité photosynthétique ne permet pas d'assurer sa croissance (ex : les racines, les graines) (Figure 1). Ce dernier doit donc importer des sucres à partir des autres organes avec une force de puits plus ou moins importante. En fonction de la force de puits développée par chacun de ces organes, une compétition entre les organes puits peut s'établir (Ho, 1988).

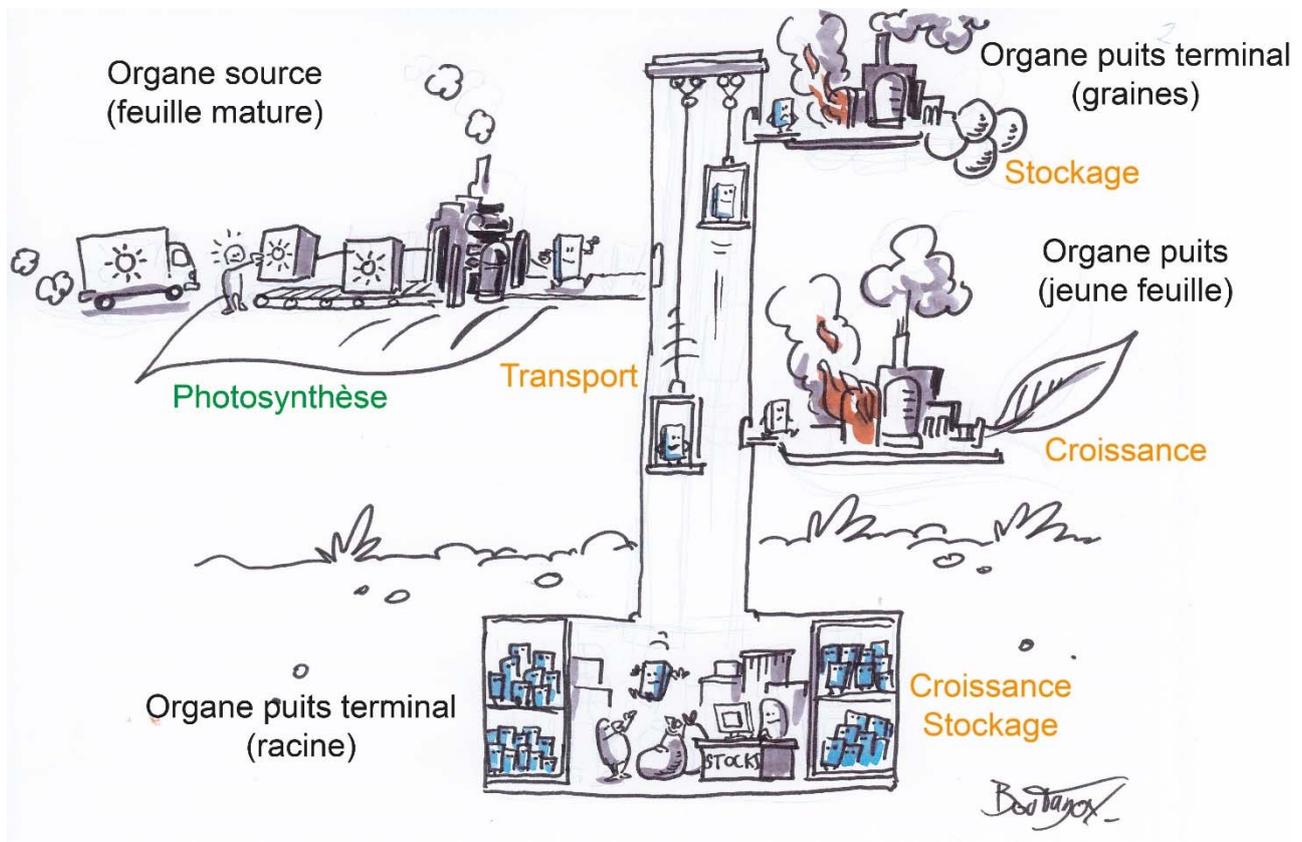


Figure 1. Vision humoristique de la synthèse et de l'utilisation des sucres dans les organes sources et puits d'une plante schématisée.

Version modifiée du dessin réalisé par Guillaume Boutanox (<https://www.boutanox.com/>) lors de la conférence dessinée que j'ai donnée à la Médiathèque de Suresnes sur le thème : la contribution des sucres des plantes dans notre quotidien. Ce dessin considère les différents organes de la plante comme des usines à produire (i.e. organes sources) ou à utiliser les sucres (i.e. organes puits) et illustre également le transport des sucres sous la forme d'ascenseur faisant « monter » et « descendre » les sucres dans la tige *via* le phloème. Au sein des organes puits, les sucres sont utilisés pour la croissance et/ou le stockage. Cette représentation focalisée sur les sucres ne tient pas compte de la complexité des échanges d'eau, des autres nutriments (acides aminés, acides organiques) et des phytohormones qui jouent également un rôle important dans le développement et la croissance de la plante.

Cette notion de relations sources-puits est souvent utilisée pour décrire le statut carboné des feuilles mais est également applicable à d'autres organes. C'est le cas de la hampe florale chez *Arabidopsis thaliana* qui est considérée tour à tour comme un puits ou comme une source (Ohmae *et al.*, 2013; Sugita *et al.*, 2016; Durand *et al.*, 2018). Ainsi, avant l'apparition de la première silique, la hampe florale présente les caractéristiques d'un organe puits alors qu'après ce stade, elle est considérée comme un organe source (Sugita *et al.*, 2016). Au sein des organes puits on distinguera également les organes puits « d'utilisation » c'est-à-dire les organes ayant une forte activité métabolique et une forte croissance (ex : méristèmes, jeunes feuilles) et les organes puits « de stockage » (ex : tubercule, racines, graines) qui stockent les sucres importés sous forme de réserves (amidon, protéines, lipides) (Sonnewald and Willmitzer, 1992) (Figure 1).

Certains tissus sont plus ou moins autotrophes pour les sucres et peuvent dépendre de la photosynthèse réalisée dans les tissus adjacents. Cette notion de source-puits est donc également applicable à l'échelle tissulaire. Ainsi, le cambium et le xylème sont considérés comme des tissus puits (Sibout *et al.*, 2008; Spicer, 2014) et sont qualifiés de puits axiaux par rapport aux organes puits terminaux comme les racines et les graines (Figure 1). De même, au niveau cellulaire, certaines cellules dont les cellules de parenchyme chez les arbres sont considérées comme des sources de nutriments pour les cellules adjacentes (Spicer, 2014). A l'échelle de la cellule, c'est le maintien de l'homéostasie des sucres c'est-à-dire de la régulation conjuguée du métabolisme, de la signalisation et du transport des sucres (inter ou intracellulaire) qui constitue la base des interactions source/puits (Griffiths *et al.*, 2016).

Au cours de ces 15 années de recherche, mes choix thématiques ont donc eu en commun d'aborder la gestion des sucres dans la plante, à travers les relations sources-puits et puits-puits à l'échelle de l'organe, du tissu et/ou de la cellule dans un contexte de biologie du développement, chez une espèce pérenne à croissance rythmique (chêne) ou non (peuplier) ou chez une espèce annuelle (*Arabidopsis thaliana*). Plus précisément, je me suis intéressée au rôle des stimuli externes (froid, sécheresse) ou internes (sucres, hormones) au niveau morphogénétique (hétéroblastie et croissance rythmique), tissulaire (développement du phloème et du xylème) et/ou cellulaires (homéostasie des sucres et des lipides, régulation de la transcription).

Mes activités scientifiques se sont donc articulées autour de 3 thématiques que je vais détailler dans la suite de ce mémoire :

- La caractérisation des relations puits-puits, par l'étude des compétitions trophiques entre les organes aériens, dans le cadre de la croissance rythmique et de la mise en place de l'hétéroblastie chez le chêne,
- L'identification de nouveaux acteurs impliqués dans la formation du phloème (voie du transport à longue distance des sucres),

- La description des relations sources-puits, à l'échelle tissulaire et cellulaire, en explorant le rôle des transporteurs SWEET dans le développement du système vasculaire, la croissance de la plante et son adaptation à un environnement changeant.

6.3. ÉTUDE DE LA CROISSANCE RYTHMIQUE CHEZ LE CHENE POUR MIEUX COMPRENDRE LES RELATIONS TROPHIQUES ENTRE ORGANES.

6.3.1 – CONTEXTE DE L'ÉTUDE

Après de nombreuses heures de systématique végétale passées sur le terrain, c'est la possibilité de pénétrer dans le monde de la physiologie végétale tout en conservant une approche "plante entière" sur une espèce d'intérêt économique qui a motivé mon choix pour ce sujet de thèse. J'ai effectué ma thèse dans le Laboratoire de Morphogenèse des Ligneux appartenant à l'UMR Université-INRA-INH SAGAH (Sciences Agronomiques Appliquées à l'Horticulture) à l'Université d'Angers. A mon arrivée, cette équipe universitaire était composée uniquement de 3 enseignants-chercheurs : le Professeur Jean-Daniel Viémont et les maîtres de conférences Nathalie Leduc et Sandrine Pelleschi-Travier, qui m'ont encadrée. La thématique de l'équipe était l'étude de la morphogenèse des végétaux ligneux en relation avec leur environnement. Un des objectifs était notamment d'identifier les acteurs métaboliques et/ou moléculaires impliqués dans la formation des bourgeons.

Certains arbres (ex : le cacaoyer, l'hévéa, le manguier ou le chêne) présentent la particularité d'avoir une croissance dite rythmique, qui leur permet de croître tout en maximisant l'acquisition de matière et en minimisant les contraintes résultant de déficiences du milieu ou de compétitions internes (Crabbé, 1993). Parmi ces espèces, le chêne pédonculé réalise ainsi 2 à 3 cycles de croissance (de bourgeon à bourgeon) pendant le temps favorable à la végétation (Champagnat *et al.*, 1986a). En serre, ce rythme est aisément reproductible et conduit à la production d'une nouvelle vague de croissance tous les 25 jours environ. Elle se découpe en une phase d'allongement d'une durée d'environ 14 jours (Figure 2A) et une phase de repos apparent d'environ 11 jours (Figure 2B). Le chêne est donc une espèce de choix pour l'étude des mécanismes contrôlant le rythme de croissance.

Des travaux antérieurs avaient montré que l'étude du développement hétéroblastique, c'est-à-dire la production par le méristème de trois types foliaires : les feuilles assimilatrices, les feuilles à limbe avorté et les écailles, permettait d'aborder le déterminisme de la croissance rythmique de l'axe aérien chez le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.). En effet, chez cette espèce, le changement de morphologie foliaire entre les feuilles assimilatrices et les feuilles à limbe avorté est considéré comme un des événements conduisant à l'arrêt de croissance de la tige et donc à la croissance rythmique (Lavarenne-Allary, 1966; Payan, 1982).

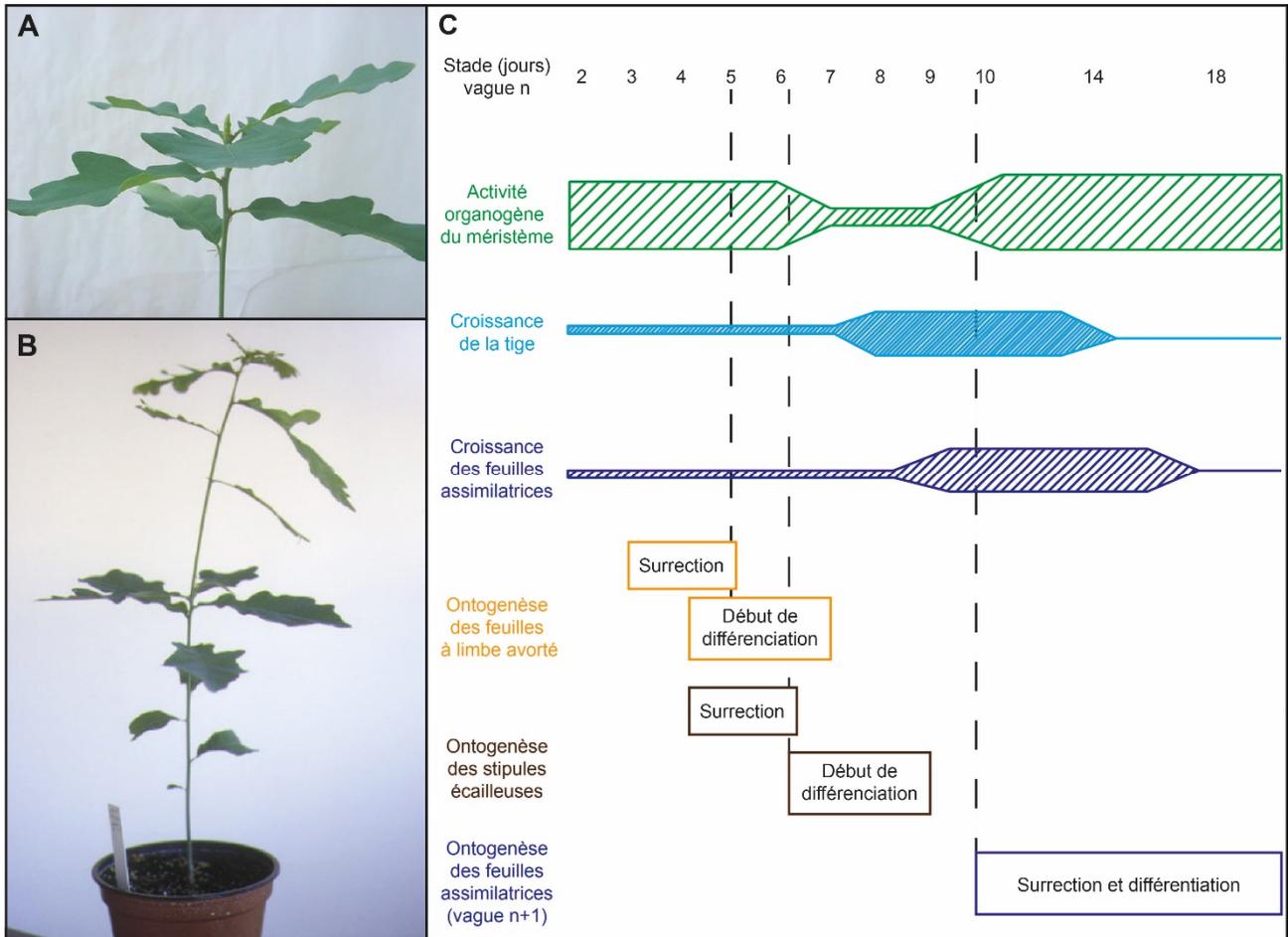


Figure 2. La croissance rythmique chez le chêne pédonculé cultivé en conditions de serre (d’après Le Hir, 2005).

(A) Début de la phase d’allongement du bourgeon apical soit 3 jours après le débournement du bourgeon de la deuxième vague de croissance. La première vague de croissance correspond à l’ensemble des organes présents sous le bourgeon.

(B) Début de la phase de repos apparent de la deuxième vague de croissance c’est-à-dire 14 jours après le débournement du bourgeon. Toutes les feuilles assimilatrices sont développées et le bourgeon apical se reforme. Les feuilles de la deuxième vague de croissance apparaissent en vert clair alors que les feuilles de la première vague de croissance sont vert foncé.

(C) Schéma des différents « sous rythmes » observés lors d’une vague de croissance chez le chêne pédonculé. Du haut vers le bas du schéma sont figurés les jours de la vague de croissance (en noir), l’activité organogène du méristème apical (en vert), la croissance de la tige (en bleu clair), la croissance des feuilles assimilatrices (en violet) et les différentes étapes de l’organogenèse des feuilles à limbe avorté (en orange), des stipules écailleuses (en marron) et celles des feuilles assimilatrices de la vague de croissance suivante (en violet). La hauteur de la zone hachurée est proportionnelle à l’intensité du paramètre mesuré.

De nombreuses hypothèses, dont l'implication des métabolismes glucidique et hormonal, ont été proposées pour expliquer le déterminisme de ce programme morphogénétique complexe (Abo-Hamed *et al.*, 1981; Parmentier, 1993). Toutefois, les mécanismes restaient encore à détailler. L'objectif de mon travail de thèse, était donc de répondre aux questions suivantes :

- Quand le signal déclencheur responsable du développement hétéroblastique et donc de l'expression du rythme de croissance se met-il en place ?
- Quelle est la nature du/des signal(aux) en cause ?

Afin de répondre à ces questions, j'ai suivi 3 approches méthodologiques :

- 1- L'établissement d'un système expérimental stable pour manipuler le développement hétéroblastique et donc le rythme de croissance.
- 2- La caractérisation de la mise en place de l'hétéroblastie au niveau morphologique et histologique.
- 3- L'étude du rôle des sucres et des hormones dans ce processus.

6.3.2 – MANIPULATION DU DEVELOPPEMENT HETEROBLASTIQUE

Dans les conditions de culture établies au laboratoire, j'ai montré que l'apport exogène de gibbérelline A₃ (GA₃) permettait d'augmenter la durée totale d'une vague de croissance alors que les apports d'auxine (acide indole acétique ou AIA) ou de cytokinine (6-BAP) agissaient uniquement sur le développement hétéroblastique. Ces résultats ont permis de mettre en évidence le rôle déterminant des hormones dans ce processus morphogénétique complexe.

En parallèle, j'ai montré que l'ablation régulière des jeunes feuilles puits (donc consommatrices de sucres) dès que leur taille atteignait 5 mm de long avait pour conséquence une production continue de feuilles assimilatrices, conduisant à une suppression de l'hétéroblastie et donc à une croissance continue. Cette réponse illustre le rôle central des jeunes feuilles dans l'expression du rythme de croissance et soulevait la question de l'existence d'une compétition trophique avec le méristème.

Cette étude a également montré la meilleure fiabilité des résultats obtenus par ablations foliaires par rapport à ceux obtenus lors d'applications exogènes d'hormones. J'avais ainsi défini un système expérimental stable et reproductible pour étudier les mécanismes de régulation.

6.3.3 – CARACTERISATION MORPHO-HISTOLOGIQUE DE L'HETEROBLASTIE

Disposer d'un système stable m'a permis de décrire finement la chronologie du développement hétéroblastique aux niveaux morphologique et anatomique. En accord avec les travaux précédents, j'ai montré l'existence de différents "sous rythmes" décalés dans le temps en fonction des organes (méristème, tige, feuilles) (Figure 2C).

De plus, pour la première fois chez cette espèce, j'ai montré que le développement hétéroblastique (à travers la différenciation des feuilles à limbe avorté et des stipules écailleuses) débute très précocement au cours de la vague de croissance (au stade 5 jours et 6 jours respectivement) (Figure 2C). Ces résultats constituaient une avancée d'importance puisqu'ils permettaient d'engager des études extrêmement précises au niveau biochimique et moléculaire afin de mieux comprendre les signaux impliqués dans ce processus morphogénétique complexe.

De plus, au stade 5 jours, l'activité du méristème est forte alors que celle de la tige et des feuilles assimilatrices est faible (Figure 2C). Ceci conduit à une accumulation de primordia et d'ébauches foliaires à proximité du méristème qui pourraient exercer un fort pouvoir inhibiteur sur la croissance des autres organes, comme cela a été suggéré chez d'autres espèces (Neville, 1970; Nozeran *et al.*, 1971; Nozeran and Neville, 1974). Ainsi, le développement hétéroblastique pourrait être dû à une compétition entre les différents organes en croissance. Les jeunes feuilles, consommatrices d'une grande quantité de nutriments, seraient en compétition avec l'apex responsable de l'entrée en phase de repos du bourgeon (Barnola *et al.*, 1990). La nature des composés mis en jeu dans ces compétitions peut être variée (eau, acides aminés, nucléotides, sucres et hormones) cependant, lors de cette étude, j'ai privilégié la piste des sucres et des hormones.

6.3.4 – LE SACCHAROSE : UN SIGNAL DANS L'EXPRESSION DE L'HETEROBLASTIE ?

Parmi les hypothèses proposées dans la littérature, j'ai privilégié celle d'une compétition pour les sucres entre les différents organes. Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse, j'ai utilisé des approches de biologie moléculaire et de biochimie. L'intégration des résultats obtenus m'a permis d'établir un modèle pour le rôle du métabolisme glucidique dans le développement hétéroblastique et, par extension, dans l'expression du rythme de croissance. J'ai ainsi pu montrer qu'au moment du développement hétéroblastique un détournement du saccharose s'effectuait au profit des jeunes feuilles importatrices et, qu'au sein même de l'apex, une forte activité invertase acide vacuolaire fournissait l'énergie nécessaire au maintien de l'activité organogène du méristème. J'apportais ainsi pour la première fois des preuves physiologiques à l'hypothèse trophique formulée dans la littérature (Le Hir *et al.*, 2005, 2006).

6.3.5 – ROLE DE L'ABA ET DE L'AIA DANS L'HETEROBLASTIE

L'apport exogène d'hormones nous a permis de confirmer le rôle de ces dernières dans le déterminisme de la croissance rythmique chez le chêne pédonculé (Champagnat *et al.*, 1986b; Parmentier, 1993).

J'ai poursuivi ces études par une analyse plus fine au niveau métabolique en quantifiant, les contenus endogènes d'ABA, d'AIA libre et conjugué et de cytokinines. A l'époque, ces dosages ont été réalisés par la technique ELISA en collaboration avec Bruno Sotta (DR CNRS, Université Paris

VI). J'ai également utilisé les anticorps pour analyser les niveaux d'AIA et de d'ABA dans les différents tissus au cours du développement hétéroblastique. J'ai ainsi montré qu'une chute brutale d'AIA a lieu dans l'apex au moment de la formation des feuilles à limbe avorté. Ensuite, la concentration d'ABA augmente fortement dans l'apex, après le début du changement de morphologie foliaire. Ces deux hormones agiraient donc de façon séquentielle.

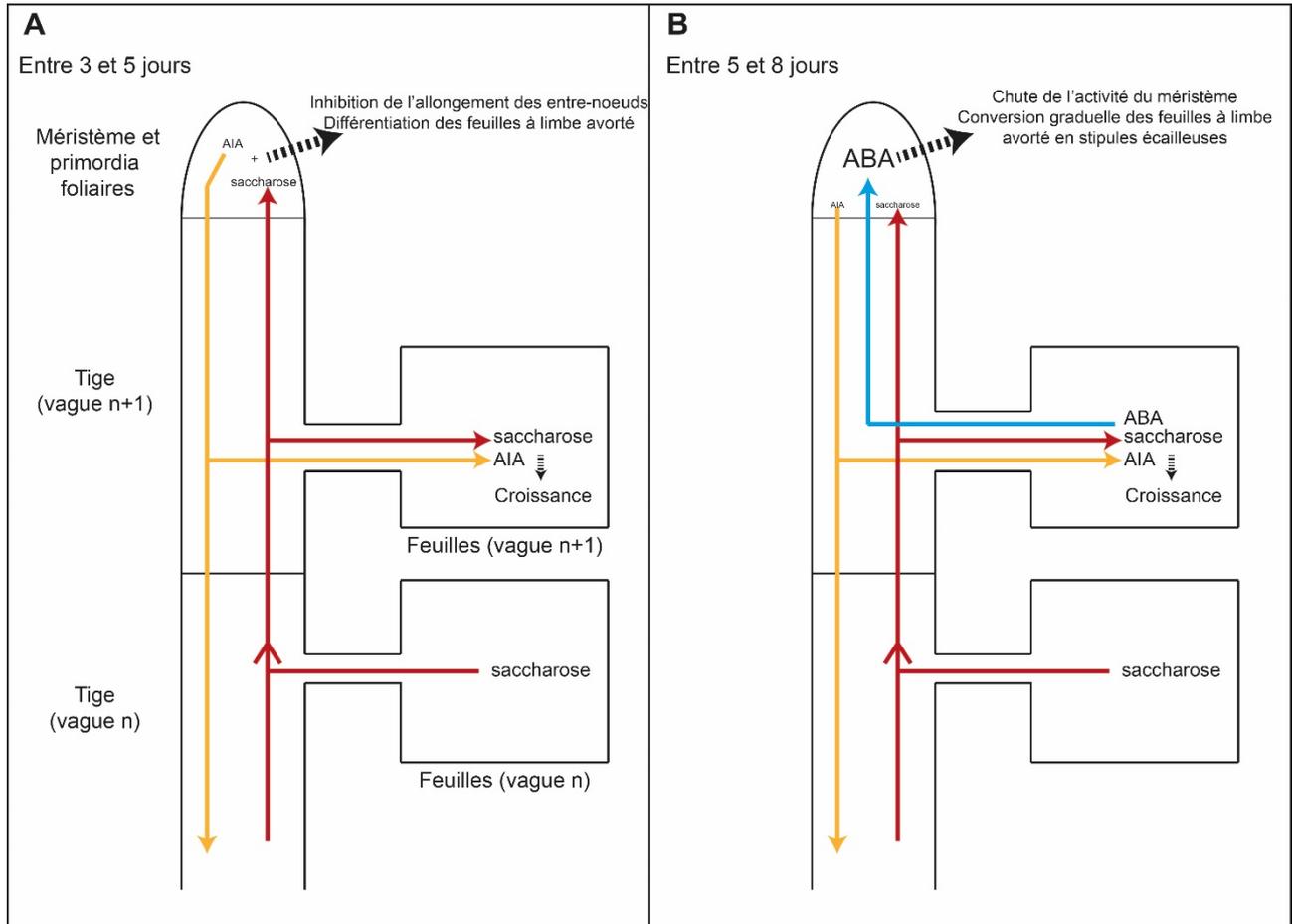


Figure 3. Modèle des processus physiologiques ayant lieu pendant le développement hétéroblastique au cours de la croissance rythmique chez le chêne pédonculé (d'après Le Hir, 2005).

Evènements ayant lieu entre les stades 3 et 5 jours (A) et les stades 5 et 8 jours (B) d'une vague de croissance n+1. La taille des caractères est proportionnelle à la concentration du saccharose et des régulateurs de croissance et les flèches indiquent la direction des flux. ABA : acide abscissique ; AIA : acide-indole-3-acétique.

6.3.6 – CONCLUSIONS

Les résultats, obtenus lors de ma thèse, ont permis de proposer un modèle spatio-temporel des évènements physiologiques ayant lieu pendant le développement hétéroblastique. Ils suggèrent que l'expression du rythme de croissance est sous le contrôle d'une compétition pour les sucres entre organes puits (i.e. méristème apical et jeunes feuilles) d'une part, et des régulateurs de croissance, d'autre part (Figure 3). Mes travaux de thèse ont également soulevé la question du rôle du saccharose comme molécule signal dans le développement hétéroblastique et donc dans l'expression du rythme de croissance. Plus récemment, l'utilisation de techniques de co-marquage avec du $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ et la réalisation d'un profilage transcriptomique par RNA-seq, ont permis de confirmer le rôle de la disponibilité des ressources dans l'expression du rythme de croissance chez le chêne pédonculé (Herrmann *et al.*, 2015). Par ailleurs, ces mêmes travaux proposent que les voies de signalisation hormonales ou liées à l'horloge circadienne soient impliquées dans la régulation du rythme de croissance. Cependant, cette étude n'a pas permis de conclure quant au rôle des sucres en tant que molécule signal dans ce processus (Herrmann *et al.*, 2015). Répondre à cette question est donc un des prochains défis à relever pour mieux comprendre la mise en place du rythme de croissance chez le chêne pédonculé.

Au cours de cette période, j'ai également assuré un poste de moniteur et un demi-poste d'ATER qui m'ont permis d'acquérir des compétences en enseignement dans les domaines suivants : morphologie, écologie, systématique et physiologie végétale. Dans la droite ligne de mon cursus universitaire, j'ai mis en place des heures de TP et de TD sur l'histoire de la botanique et sur la phytosociologie au niveau M1. J'ai également participé à des tâches collectives puisque je me suis impliquée dans le cadre de l'Ecole Doctorale d'Angers dès sa création, d'abord en tant que représentante des étudiants en DEA puis en tant que représentante des étudiants en thèse.

Mon travail de thèse illustre, à l'époque, la possibilité d'étudier des processus de développement complexes, chez une espèce d'intérêt pour laquelle les outils de génomique n'existaient pas encore. Cependant, les difficultés et les lenteurs rencontrées pour développer des outils permettant d'approfondir les mécanismes fondamentaux au niveau moléculaire, sur une espèce comme le chêne, m'ont amenée à réfléchir et ont orienté mon choix de stage post-doctoral. J'ai donc fait le choix de travailler, par la suite, sur l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana* mais toujours avec le souci de valider les résultats obtenus sur des espèces d'intérêt. C'est pourquoi j'ai choisi de rejoindre l'équipe de Catherine Bellini (DR INRAE et Professeure à l'Université d'Umeå) à l'Umeå Plant Science Centre (Suède), où les recherches étaient menées en parallèle sur *Arabidopsis thaliana* et le peuplier, qui est un des modèles pour les espèces pérennes.

6.4. UTILISATION DE LA GENOMIQUE FONCTIONNELLE POUR MIEUX COMPRENDRE LE DEVELOPPEMENT DES TISSUS VASCULAIRES

6.4.1 – CONTEXTE DE L'ETUDE

Chez les plantes supérieures, le phloème joue un rôle prépondérant dans le développement et la croissance puisqu'il permet la distribution d'une variété importante de signaux, de métabolites et de macromolécules que cela soit dans des conditions normales de croissance ou lors de stress biotiques et/ou abiotiques. Il constitue donc un acteur central des relations sources-puits puisqu'il permet le transport à longue distance du saccharose. Son organisation anatomique est très particulière : des tubes criblés constitués de cellules vivantes anucléées sont en étroite association avec des cellules compagnes leur permettant de survivre et de fonctionner. Une connaissance approfondie des mécanismes de signalisation et de différenciation du phloème doit donc permettre de mieux appréhender et *de facto* de mieux maîtriser la nutrition et le développement des plantes. Par ailleurs, l'adaptation de la plante à des contraintes environnementales variées, ainsi que ses interactions avec de nombreux pathogènes tels que les virus et les pucerons, constituent également un enjeu important en vue d'applications biotechnologiques.

Les bases moléculaires du développement du phloème et de son fonctionnement commençaient tout juste à émerger au début de mon stage post-doctoral grâce notamment à l'utilisation d'analyses de transcriptomes à l'échelle des tissus (pour revue Le Hir *et al.*, 2008). L'objectif de mon projet était d'étudier la fonction de nouveaux gènes exprimés dans le phloème et susceptibles d'être impliqués dans son développement et/ou son fonctionnement. Les données transcriptomiques produites dans la région de formation du bois chez le peuplier et publiées par l'équipe de Göran Sandberg à l'UPSC (Schrader *et al.*, 2004) ont constitué la base de ce projet. A son arrivée à l'UPSC, Catherine Bellini (DR INRAE et Professeure à l'Université d'Umeå, Suède) avait commencé à extraire de ces données celles concernant les gènes principalement exprimés dans les initiales du phloème et dans le phloème (Figure 4).

Lorsque je suis arrivée dans son équipe, mon travail a été de comparer cette liste de 300 gènes à d'autres bases de données disponibles chez *Arabidopsis thaliana* ou le céleri (Figure 4). Ce recoupement a permis d'identifier 45 gènes candidats communs à l'ensemble des bases de données.

Pour l'ensemble de ces gènes, les patrons d'expression ont été vérifiés grâce à l'utilisation de constructions prom:GUS et une analyse fonctionnelle des lignées mutées dans ces gènes a été entreprise. Mon attention s'est ensuite portée plus précisément sur plusieurs familles de gènes pour lesquelles il existait peu d'information dans la littérature (Figure 4) : deux familles de transporteurs : familles des ABCG et des nodulines de type 3 (plus tard nommées transporteurs SWEET « Sugar Will Eventually be Exported Transporters ») et une famille de facteurs de transcription de type Dofs. J'ai également co-encadré un doctorant, Mathieu Castelain, sur la caractérisation fonctionnelle d'une autre famille de facteur de transcription de type bHLH.

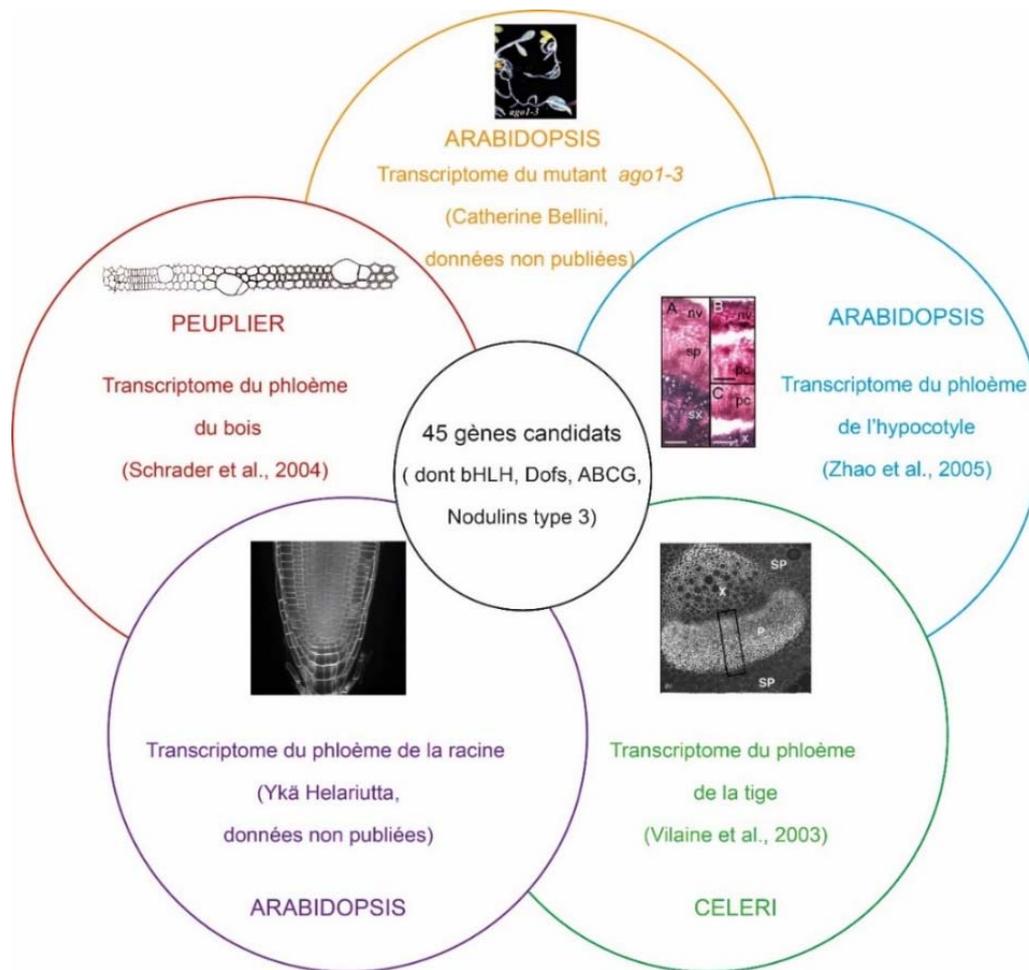


Figure 4. Schéma synthétisant les bases de données utilisées pour la sélection des gènes candidats potentiellement impliqués dans le développement/fonctionnement du phloème.

Les données transcriptomiques obtenues à partir du phloème d'organes et d'espèces différents ont été comparées.

6.4.2 – RÔLE DES TRANSPORTEURS ABCG DANS LE DÉVELOPPEMENT DU SYSTÈME VASCULAIRE

Chez les plantes, la famille des transporteurs de type ABC est divisée en 9 sous-familles (nommée ABCA à H) (Verrier *et al.*, 2008). Chez *Arabidopsis thaliana* il y a environ 120 transporteurs ABC dont 43 appartiennent à la sous-famille ABCG (Verrier *et al.*, 2008). La singularité de certains membres de cette sous-famille (ABCG1-ABCG28) réside dans le fait qu'un gène ABCG code pour une demi-protéine. L'assemblage de deux demi-protéines (homo et/ou hétérodimère) est donc indispensable pour former un transporteur fonctionnel (Verrier *et al.*, 2008). Au moment où j'ai commencé à étudier ces gènes, seul le gène *CER5* (*ABCG12*) avait été décrit dans la littérature pour son rôle dans l'export des lipides de la cuticule (Pighin *et al.*, 2004).

De façon intéressante, la liste de gènes candidats, que nous avons sélectionnés, comprenait 8 gènes codant des demi-transporteurs ABCG. La vérification de leur patron d'expression a confirmé une expression dans les tissus vasculaires pour 6 d'entre eux (*ABCG3*, *9*, *11*, *12*, *13* et *14*) et l'analyse phénotypique des lignées d'insertion mutées dans ces gènes a rapidement mis en évidence un phénotype très pléiotrope chez le mutant *abcg11*. J'ai donc décidé de me concentrer sur la caractérisation fonctionnelle du gène *ABCG11*. Malheureusement, alors que je rédigeais l'article, trois équipes ont publié la caractérisation de ce gène (Bird *et al.*, 2007; Luo *et al.*, 2007; Panikashvili *et al.*, 2007). Au-delà de la phase de découragement, les discussions avec Catherine Bellini m'ont permis de rebondir et d'avancer grâce à la caractérisation fonctionnelle de deux autres gènes candidats *ABCG9* et *ABCG14*. J'ai notamment affiné le domaine d'expression du gène rapporteur GUS sous le contrôle de leurs promoteurs dans le phloème de la hampe florale. Par la suite, l'analyse phénotypique des lignées simples, doubles et triples mutants, affectées dans l'expression d'*ABCG9*, *ABCG11* et *ABCG14*, m'a permis de montrer que ces gènes avaient un rôle important dans le développement du système vasculaire.

Les travaux publiés sur le transporteur *ABCG11* suggéraient son implication dans le transport des lipides à très longue chaîne requis pour la formation de la cuticule (Bird *et al.*, 2007; Luo *et al.*, 2007; Panikashvili *et al.*, 2007). J'ai également exploré cette piste pour les transporteurs *ABCG9* et *ABCG14*. Cependant l'analyse de composition des lipides à très longue chaîne chez les mutants *abcg9* et *abcg14* n'a pas permis de montrer de modifications significatives par rapport au type sauvage. Afin d'avoir une vision plus globale du phénotype métabolique des mutants *abcg9* et *abcg14* j'ai réalisé, en collaboration avec Thomas Moritz (UPSC, Suède), une analyse métabolomique des différents mutants.

Les résultats obtenus, ainsi que les travaux réalisés chez l'homme montrant que les transporteurs *ABCG1* (homodimère), *ABCG5-ABCG8* (hétérodimère) sont impliqués dans le transport de stérols (Graf *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004; Kobayashi *et al.*, 2006), m'ont permis d'émettre l'hypothèse d'une modification de la composition en stérols dans ces mutants. Bien que nous n'ayons pas pu apporter de preuve directe de ce transport chez les plantes, les différences des contenus en conjugués de stérols mesurés entre le double mutant *abcg9abcg14* et le type sauvage sont en faveur de cette hypothèse. Ces dosages ont pu être réalisés grâce à la collaboration, que j'ai initiée, avec Hubert Schaller (DR CNRS, IBMP, Strasbourg).

Dans la littérature, il avait par ailleurs été suggéré que le fonctionnement des transporteurs ABCG était conditionné à la formation de dimères (homo ou hétérodimères) (Bird *et al.*, 2007) et une preuve fonctionnelle de cette hypothèse avait été apportée pour les transporteurs *ABCG11* et *ABCG12* (McFarlane *et al.*, 2010). Afin d'explorer la possibilité de formation de dimères entre les protéines *ABCG9*, *11* et *14*, j'ai encadré un étudiant de M1, Clément Sorin, qui a mis au point le protocole d'extraction de ces protéines membranaires et réalisé les premiers essais de co-immunoprécipitation (en collaboration avec Laszlo Bako, UPSC). Ainsi grâce à l'utilisation de cette technique et après confirmation par BiFC (complémentation bimoléculaire de fluorescence) avec

l'aide d'une étudiante de L3, Tiffany Delormel, nous avons pu confirmer que le transporteur ABCG11 formait un homodimère comme précédemment décrit (McFarlane *et al.*, 2010). Nous avons également montré que la protéine ABCG9 forme un homodimère et un hétérodimère avec la protéine ABCG11 et que la protéine ABCG14 forme un hétérodimère strict avec ABCG11.

L'ensemble des résultats a été publié dans un article, dont je suis premier auteur et auteur de correspondance, qui suggère que les transporteurs ABCG9 et ABCG14 seraient impliqués dans le transport de certains conjugués de stérols en association ou non avec ABCG11 (Le Hir *et al.*, 2013). Si l'on considère que les stérols peuvent agir comme molécules signal dans le contrôle de processus développementaux comme l'architecture du système vasculaire (Carland *et al.*, 2002; Pullen *et al.*, 2010), les défauts de développement du système vasculaire observés chez les mutant *abcg* (Le Hir *et al.*, 2013) pourraient être dus à des modifications de l'homéostasie des stérols.

6.4.3 – LES FACTEURS DE TRANSCRIPTION DE TYPE DOFS

Les protéines de type Dofs (DNA-binding One Finger) constituent une famille de facteurs de transcription spécifique des plantes qui compte 36 membres chez *Arabidopsis thaliana*. Parmi les gènes candidats issus de l'analyse transcriptomique, 12 gènes appartenant à cette famille ont été identifiés. Avec l'aide d'une étudiante de BTSA, Marie Fortin, j'ai confirmé l'expression dans le système vasculaire de la majorité d'entre eux et identifié des lignées d'insertion pour chacun d'entre eux. Ne pouvant assurer l'intégralité des projets développés durant mon post-doc, j'ai dû faire un choix et je n'ai pas poursuivi la caractérisation fonctionnelle de ces gènes.

Cependant, la confrontation de ces résultats avec ce qui était connu à l'époque, dans la littérature, sur cette famille de gènes m'a conduit à penser que ces facteurs de transcription pouvaient avoir un rôle clé dans le développement et le fonctionnement du système vasculaire. J'ai donc réalisé, en complément, une analyse bio-informatique des séquences régulatrices des promoteurs mettant en évidence un rôle important de cette famille dans la formation du système vasculaire. J'ai intégré les résultats de cette analyse dans une revue, pour laquelle je suis auteur de correspondance (Le Hir and Bellini, 2013). Depuis que cette revue a été publiée, certains de ces gènes ont effectivement été décrits comme étant impliqués dans la formation du système vasculaire, notamment au niveau du cambium (Miyashima *et al.*, 2019; Smet *et al.*, 2019).

6.4.4 – RELATION ENTRE LES FACTEURS DE TRANSCRIPTION DE TYPE BHLH ET LA SIGNALISATION PAR LA LUMIERE OU LA VOIE DE SIGNALISATION DE L'ABA

Les protéines de type bHLH (basic helix-loop-helix) constituent la deuxième plus grande famille de facteurs de transcription chez les Angiospermes. Chez *Arabidopsis*, 162 bHLH ont été identifiés et sont organisés en 21 sous-familles (Bailey *et al.*, 2003; Toledo-Ortiz *et al.*, 2003).

Dans le cadre de la thèse de Mathieu Castelain que j'ai co-encadré avec Catherine Bellini, plusieurs membres de la famille de facteurs de transcription de type bHLH (bHLH135, 68 et 112) ont été caractérisés. Bien que Mathieu Castelain n'ait pas soutenu sa thèse, 2 articles ont été publiés sur la base de ses résultats. Grâce à l'analyse des lignées sur-exprimant et/ou sous-exprimant ces gènes, nous avons montré que le facteur de transcription bHLH135 est impliqué dans la régulation de la voie de signalisation par la lumière (Castelain *et al.*, 2012). J'ai poursuivi, après mon recrutement à l'IJPB, les travaux initiés par Mathieu Castelain, sur la caractérisation fonctionnelle des gènes *bHLH68* et *bHLH112* et j'ai bénéficié, pour ce faire, de l'aide d'une étudiante de L3 pro, Nabila Abderrahmani, que j'ai encadrée. Nos travaux montrent que les facteurs de transcription bHLH68 et 112, qui sont exprimés dans le phloème, sont impliqués dans le développement des racines latérales, la germination des graines et à la résistance à la sécheresse *via* une ou plusieurs voies de signalisation de l'ABA (Le Hir *et al.*, 2017).

6.4.5 – LES NODULINES DE TYPE 3

Les travaux initiés lors de mon post-doc concernaient également l'analyse de trois membres de la famille des nodulines de type MtN3 (At1g21460, At3g48740 et At5g23660). A cette époque, très peu de données étaient disponibles sur les membres de cette famille ce qui la rendait particulièrement intéressante. J'ai produit des lignées exprimant les constructions prom:GUS pour les trois promoteurs et identifié et génotypé des lignées d'insertion dans ces trois gènes. Ce matériel a été repris successivement par deux post-doc, Dipankar Chakraborti et Lara Spinner, qui ont poursuivi la caractérisation fonctionnelle de ces gènes. Les résultats qu'ils ont obtenus sont à la base du projet que j'ai proposé lors de mon recrutement dans l'équipe animée par Sylvie Dinant à l'INRAE de Versailles et que je développerai plus précisément dans le paragraphe 6.5.

6.4.6 – CONCLUSIONS

Mon expérience post-doctorale a été riche à bien des égards. J'ai ainsi eu l'opportunité de co-encadrer, avec Catherine Bellini, mes 1^{ers} stagiaires, d'abord au niveau BTS puis jusqu'au niveau M1 et également d'assurer un co-encadrement de thèse à la fin de mon post-doc. Ces encadrements m'ont appris à m'adapter à différents types de personnalités qui avaient une façon de travailler différente de la mienne. J'ai également pu mesurer la responsabilité que constitue la formation par la recherche de ces jeunes chercheurs. C'est cet ensemble d'expériences qui m'a préparée à assurer de façon complètement autonome l'encadrement des étudiants que j'ai ensuite eu sous ma responsabilité.

Je me suis également formée à travailler sur une nouvelle espèce végétale, avec de nombreuses nouvelles techniques, et sur des familles de gènes variées. La gestion de ces multiples projets aurait pu constituer un handicap mais, au contraire, je pense que cela a été une force.

J'ai ainsi approché la complexité des mécanismes moléculaires sous-jacents au développement/fonctionnement du phloème et pu dégager une nouvelle thématique de recherche en cohérence avec celle abordée pendant ma thèse. Ainsi, pour mon recrutement en tant que CR2 à l'IJPB, j'ai choisi de me focaliser sur le rôle des transporteurs de sucres SWEET dans le développement du système vasculaire.

6.5. IMPLICATION DES TRANSPORTEURS SWEET DANS LE DEVELOPPEMENT DU SYSTEME VASCULAIRE.

6.5.1 – CONTEXTE DE L'ETUDE

En 2011, mon recrutement dans l'équipe PATS « Phloème, Allocation, Transport et Signalisation » animée par Sylvie Dinant (DR INRAE) s'est inscrit dans le cadre d'un soutien à l'équipe pour le retour à mi-temps à l'IJPB de Catherine Bellini, en mission de longue durée à l'UPSC. J'ai donc progressivement transféré les travaux que je menais à l'UPSC sur la génomique fonctionnelle du phloème à Versailles. En effet, avant mon arrivée, l'équipe s'intéressait depuis de nombreuses années à cette thématique. Au début de mon recrutement, j'ai intégré l'équipe avec la double tâche, d'une part de valoriser mes travaux de génomique fonctionnelle sur le phloème initiés à Umeå et poursuivis à Versailles, et d'autre part de développer des recherches sur les protéines membranaires exprimées dans le phloème et leur rôle dans le développement de la plante et son adaptation aux stress abiotiques.

Au cours du temps l'équipe, qui a modifié son nom pour devenir l'équipe CATS « Carbone, Allocation, Transport et Signalisation », s'est réorientée sur les mécanismes d'allocation des sucres entre organes et au sein des tissus vasculaires (Figure 5). L'équipe aborde notamment l'impact d'une perturbation de cette distribution des sucres sur les métabolismes azoté et carboné, sur la production de biomasse, sur le rendement ou la tolérance aux stress abiotiques. Une telle perturbation est générée par la dérégulation de différentes voies de transport des sucres : 1) le transport actif via le transporteur SUC2 ; 2) le transport facilité via les transporteurs SWEET ou 3) le transport symplasmique *via* la protéine NHL26 localisée dans les plasmodesmes (Figure 5).

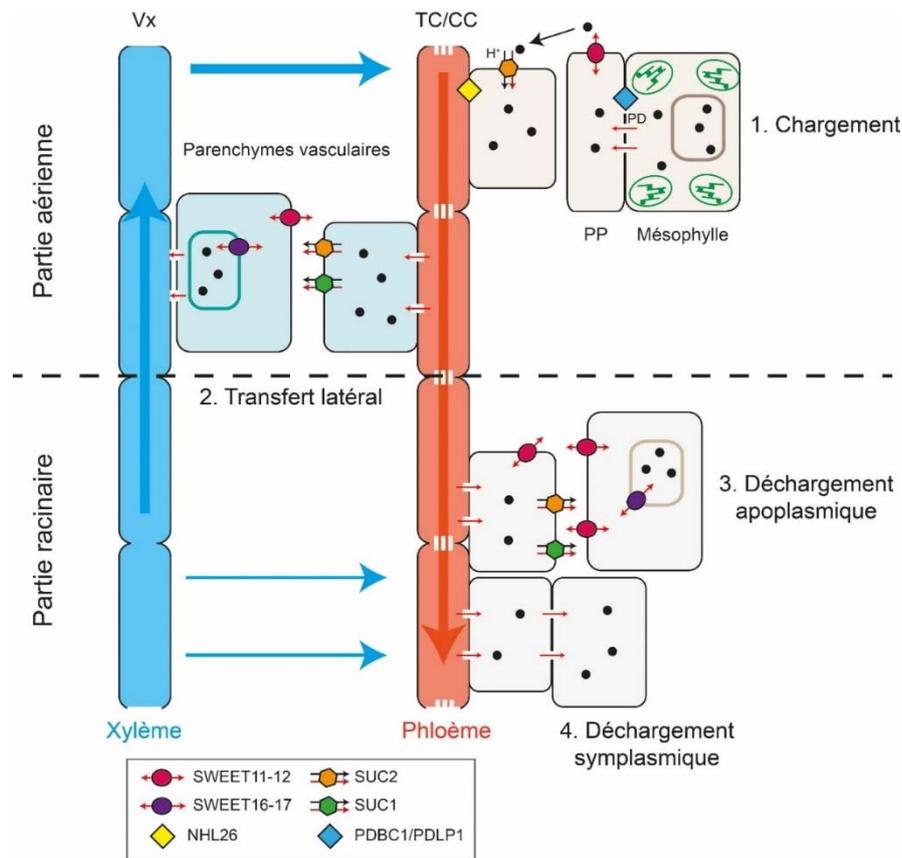


Figure 5. Représentation schématique des différentes voies de transport des sucres au sein du système vasculaire dans la partie aérienne et racinaire (d'après Hennion *et al.*, 2019).

Ce schéma intègre les différents aspects du transport des sucres étudiés dans l'équipe ainsi que certains des acteurs moléculaires qui y sont associés (NHL26, SUC2, PDL1, PDCB1, SWEET11, SWEET12, SWEET16, SWEET17). Les cercles noirs représentent les sucres et les flèches bleues et rouges représentent respectivement le transport de l'eau et des sucres. CC : cellule compagne ; TC : tube criblé ; Vx : vaisseau du xylème ; PP : parenchyme phloémien, PD : plasmodesme.

6.5.2 – ROLE DES TRANSPORTEURS SWEET11 ET SWEET12

En 2009, au cours de mon post-doc dans l'équipe de Catherine Bellini j'ai démarré l'étude de deux protéines, SWEET11 et SWEET12, car les gènes codant pour ces protéines étaient exprimés dans le phloème ainsi que dans le xylème de la hampe florale d'*Arabidopsis*. Par la suite, Lara Spinner, post-doc dans l'équipe de 2010 à 2012, a montré, notamment, que les lignées mutées dans l'expression de ces gènes suraccumulaient des sucres. En collaboration avec Rémi Lemoine (DR CNRS, Université de Poitiers), et Ekkehard Neuhaus (Professeur, Université de Kaiserslautern, Allemagne) nous avons également montré que ces deux protéines transportaient du saccharose, du glucose et du fructose. Un manuscrit rassemblant ces résultats était en cours de rédaction lorsque l'article de Chen *et al.* (2012) portant sur la caractérisation fonctionnelle de ces gènes a été publié. Cet article faisait suite à l'article fondateur de la description des transporteurs SWEET publié par la même équipe en 2010 (Chen *et al.*, 2010).

Dans cet article, les auteurs concluaient que les transporteurs SWEET11 et SWEET12, localisés dans les cellules de parenchyme phloèmien, transportaient du saccharose et étaient impliqués dans le transport à longue distance du saccharose (Chen *et al.*, 2012). Le transport facilité du saccharose (selon le gradient de concentration), par SWEET11 et SWEET12, entre les cellules de parenchyme phloèmien et les cellules compagnes, constituait ainsi l'étape manquante dans le schéma global du chargement du phloème (Braun, 2012). Cependant, l'analyse approfondie de cet article a fait ressortir un certain nombre de différences par rapport à nos résultats, ce qui nous a encouragées à poursuivre la caractérisation de ces protéines sous une autre perspective. Ainsi, en 2014, j'ai effectué un séjour de 15 jours dans le laboratoire d'Ekkehard Neuhaus afin d'approfondir les résultats obtenus à l'IJPB, notamment ceux concernant le rôle de SWEET11 et 12 dans la résistance des plantes au gel, et analyser le phénotype des mutants *sweet11* et *sweet12* en conditions de jours courts.

Par ailleurs, parce que les protéines SWEET11 et 12 sont exprimées dans le système vasculaire de la hampe florale, j'ai observé plus précisément le développement et la croissance de cet organe. J'ai constaté que le diamètre de la hampe florale était réduit d'environ 30% chez le double mutant *sweet11sweet12* par rapport au type sauvage. Ces résultats sont à l'origine de l'analyse plus détaillée qui a suivi et qui nous a permis de publier un article, pour lequel je suis co-auteur de correspondance, qui montre l'implication des protéines SWEET11 et SWEET12 dans le développement du système vasculaire et dans la composition de la paroi secondaire des cellules du xylème de la hampe florale (Figure 6) (Le Hir *et al.*, 2015).

Par la suite, j'ai initié un projet en collaboration avec Christophe Sandt (scientifique sur la ligne infrarouge SMIS, Synchrotron SOLEIL) afin d'utiliser les radiations du synchrotron et la microscopie Raman pour améliorer la résolution spatiale, nous permettant ainsi d'avoir accès à la composition des parois du phloème et d'analyser la composition de la paroi du xylème à l'échelle cellulaire (Figure 7). Cette analyse a représenté un challenge puisque j'ai dû me former pendant plusieurs mois à des techniques de chimométrie et de statistiques multivariées. Les résultats obtenus montrent que la composition de la paroi des cellules de phloème était également modifiée chez le double mutant *sweet11sweet12* par rapport au type sauvage et qu'un effet cellule-spécifique était observé au niveau du xylème. Ces résultats ont été publiés dans un article pour lequel je suis dernier auteur et auteur de correspondance (Dinant *et al.*, 2019). Compte tenu du fait que ces deux gènes sont exprimés dans les cellules de parenchyme vasculaire (i.e. parenchyme phloèmien et parenchyme xylémien) (Chen *et al.*, 2012; Le Hir *et al.*, 2015), ces résultats mettent en avant l'importance d'un transport facilité de sucres entre les cellules de parenchyme et les cellules conductrices en cours de formation afin d'assurer un développement normal de la hampe florale et une composition correcte de la paroi de ces cellules.

A présent, je garde un lien privilégié avec le Synchrotron SOLEIL puisque j'ai été élue au comité des utilisateurs en 2019 et j'envisage, dans un avenir proche, de poursuivre ma collaboration avec Christophe Sandt (scientifique sur la ligne SMIS) afin d'approfondir le rôle des transporteurs SWEET dans la formation de la paroi cellulaires des tissus vasculaires.

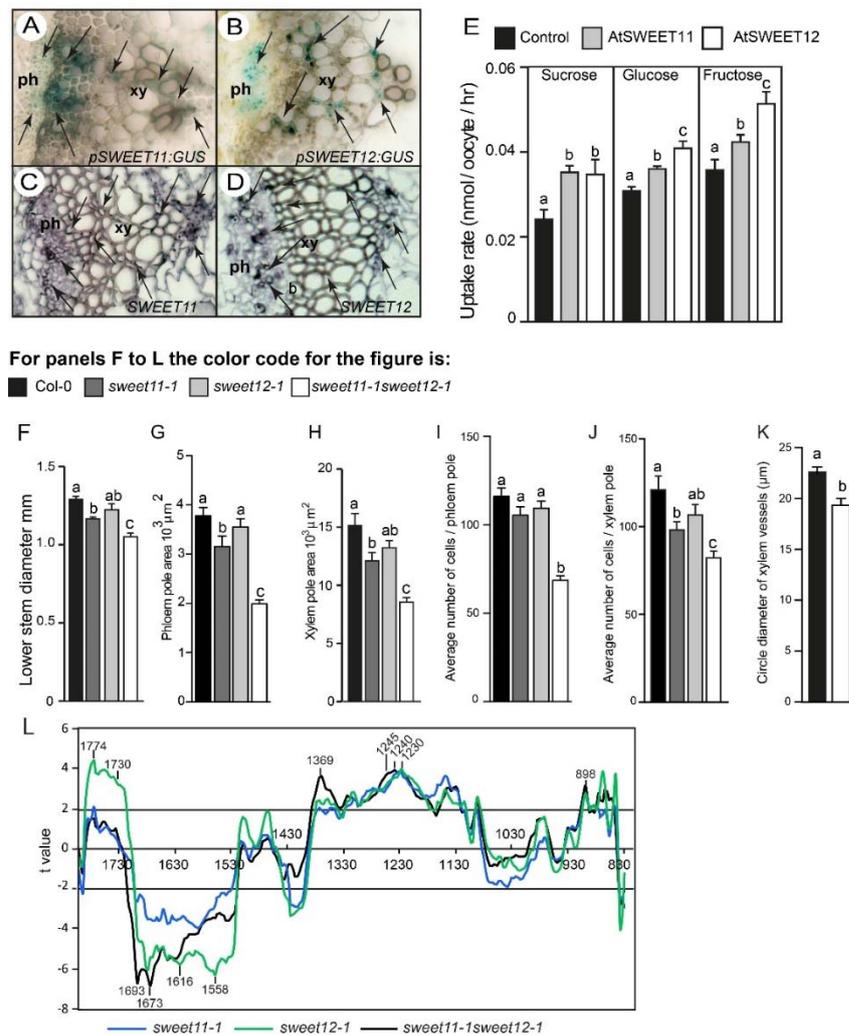


Figure 6. Implication des gènes *SWEET11* et *SWEET12* dans le développement du système vasculaire et la composition de la paroi secondaire (d’après Le Hir *et al.*, 2015).

(A-D) Localisation de l’expression *SWEET11* et *SWEET12* dans la hampe florale par coloration histochimique GUS (A et B) et hybridation *in situ* (C et D). Ph : phloème ; xy : xylème.

(E) Transport du [¹⁴C]saccharose, [¹⁴C]glucose et [¹⁴C]fructose par les transporteurs *SWEET11* et *SWEET12* après expression hétérologue dans des ovocytes de Xénope. Moyenne ± SE (n=9).

(F-K) Phénotype de la hampe florale chez le sauvage (Col-0) et les mutants *sweet11*, *sweet12* et *sweet11sweet12*. Un minimum de 5 plantes a été analysé. (F) Diamètre de la hampe florale (n ≥ 15 sections) ; (G) Aire d’un pôle de phloème (n ≥ 13 pôles) ; (H) Aire d’un pôle de xylème (n ≥ 15 pôles) ; (I) Nombre moyen de cellules dans un pôle de phloème (n ≥ 13 pôles) ; (J) Nombre moyen de cellules dans un pôle de xylème (n ≥ 15 pôles) ; (K) Diamètre moyen d’un vaisseau de xylème (n = 44 pour Col-0 et n = 81 pour *sweet11sweet12*). Test statistique par analyse de la variance à un facteur (ANOVA) et post-test de Tukey. Les génotypes portant des lettres différentes sont significativement différents (P < 0.05).

(L) Comparaison statistique des spectres FTIR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier) obtenus sur la paroi des cellules de xylème de la hampe florale du type sauvage et des différents mutants. Un test t de Student a été utilisé pour comparer les absorbances des mutants et du type sauvage et les résultats du test sont présentés pour chaque nombre d’onde. Les nombres d’onde présentant des valeurs de t supérieures à +2 et inférieures à -2 sont significativement différents dans le spectre des mutants par rapport au type sauvage.

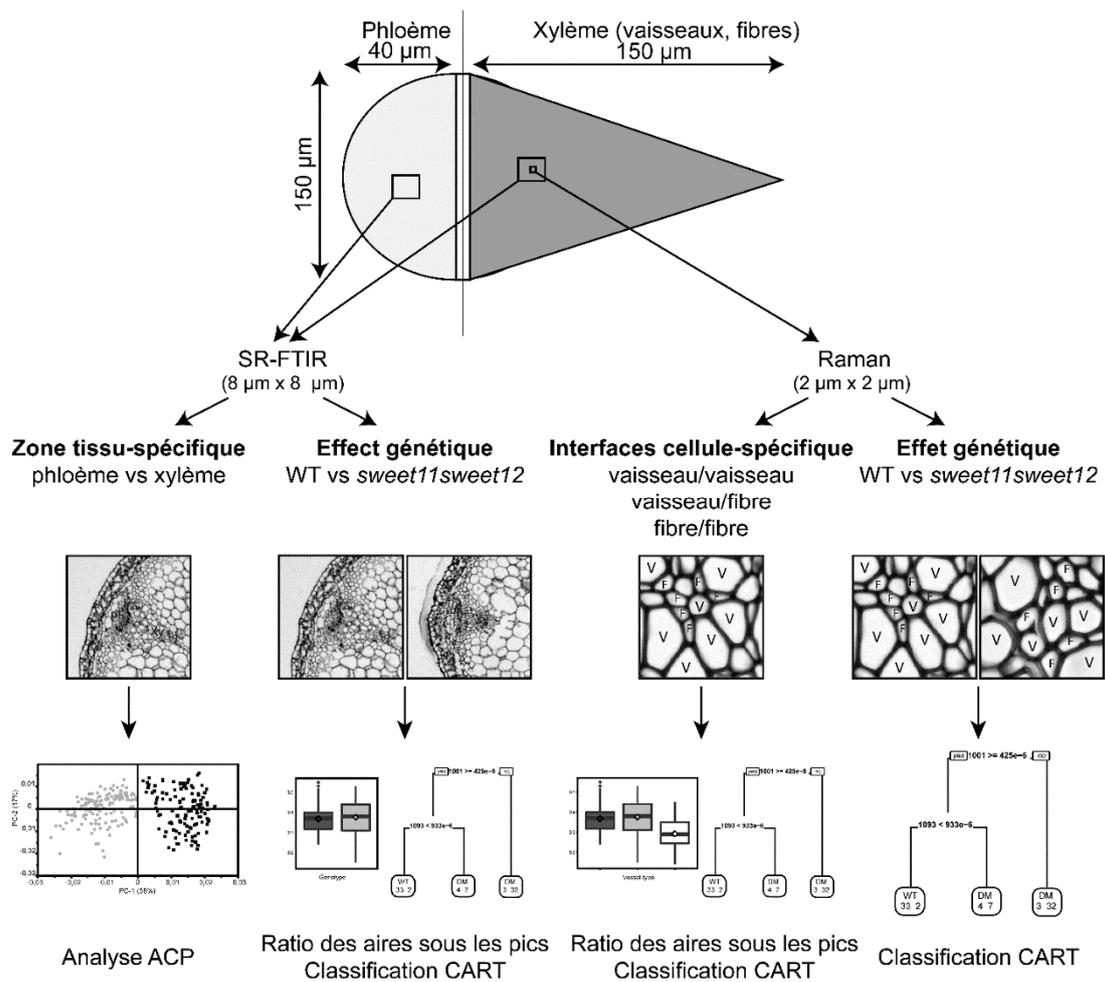


Figure 7. Démarche utilisée pour l’analyse des spectres acquis sur la hampe florale d’Arabidopsis par spectroscopies vibrationnelles (SR-FTIR et Raman) (d’après Dinant *et al.*, 2019).

Représentation schématique d’un faisceau cribro-vasculaire de la hampe florale montrant le phloème et le xylème ainsi que la taille de la zone d’acquisition. La combinaison de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier avec une source synchrotron (SR-FTIR) et de l’analyse en composante principale (PCA) a été utilisée pour obtenir la signature tissu-spécifique de la paroi de phloème et du xylème chez le type sauvage (WT). La composition de la paroi du phloème et du xylème du double mutant *sweet11sweet12* a également été analysée par SR-FTIR et l’utilisation d’une analyse discriminante par arbre de décision (CART). Finalement la spectroscopie Raman a été utilisée afin d’obtenir la signature cellule-spécifique des parois entre les différents types cellulaires du xylème chez le type sauvage et le double mutant. F : fibre ; Ph : phloème ; V : vaisseau de xylème ; Xy : xylème.

6.5.3 – ROLE DES TRANSPORTEURS SWEET16 ET SWEET 17

Dans le cadre d’une collaboration avec deux autres équipes, Lara Spinner avait également produit et caractérisé les plantes exprimant le gène rapporteur GUS sous le contrôle du promoteur de *SWEET16* ou de *SWEET17* (Chardon *et al.*, 2013; Klemens *et al.*, 2013).

De façon intéressante les patrons d'expression de ces gènes montraient également une expression dans les cellules du xylème de la hampe florale.

Fabien Chardon (CR INRAE, IJPB) ne poursuivant plus le projet sur le transporteur SWEET17, j'ai repris les lignées produites et j'ai reçu, de la part de notre collaborateur Ekkehard Neuhaus, les mutants affectés l'expression de *SWEET16* (non publiés). Grâce à l'aide de Fatoumata Gary (M1) et d'Emilie Aubry (M2), que j'ai encadrées, le double mutant *sweet16sweet17* a été produit et caractérisé. Ainsi, son analyse a permis de montrer que les gènes *SWEET16* et *SWEET17* sont également requis pour le développement des tissus vasculaires de la hampe florale et la formation de la paroi secondaire. En parallèle, les triples mutants (*sweet11sweet12sweet16*, *sweet11sweet12sweet17*) ainsi que le quadruple mutant (*sweet11sweet12sweet16sweet17*) ont été produits au cours du M2 d'Emilie Aubry et au début sa thèse.

6.5.4 – ACTION COMBINÉE DES TRANSPORTEURS SWEET11, SWEET12, SWEET16 ET SWEET17 DANS LA CROISSANCE DE LA PLANTE ET LE DÉVELOPPEMENT DU XYLÈME.

En réponse à un appel à projet au sein du LabEx SPS, j'ai obtenu un financement qui a couvert le salaire d'Emilie Aubry pendant 3 ans ainsi que 15 000 euros de fonctionnement par an. Cela a permis à Emilie Aubry, dans le cadre d'une thèse de doctorat que j'ai encadrée, de poursuivre la caractérisation phénotypique de la série de lignées mutées dans l'expression des gènes *SWEET11*, *SWEET12*, *SWEET16* et/ou *SWEET17* par une approche combinée de génétique, d'histologie, de cytologie et de physiologie.

Parmi les résultats majeurs obtenus dans le cadre de cette thèse (soutenue le 13 décembre 2019), Emilie Aubry a proposé un modèle sur le rôle des quatre transporteurs SWEET au cours de la différenciation du xylème. C'est ce modèle qu'elle a exposé lors d'une présentation orale au congrès Plant Vascular Biology en 2019 (Asilomar, Etats-Unis).

Le transporteur SWEET16, localisé sur le tonoplaste, contribuerait à l'export de saccharose, de glucose et/ou de fructose de la vacuole vers le cytosol, dans les cellules procambiales et les initiales du xylème, afin de produire l'énergie nécessaire aux processus de division cellulaire et au début de l'expansion cellulaire (Figure 8). Afin d'assurer la poursuite de l'expansion cellulaire, qui est particulièrement importante dans les vaisseaux de xylème, puisque ce sont les cellules les plus grandes chez les végétaux (Cosgrove, 2005), une augmentation du volume des cellules via l'augmentation du volume de la vacuole, est nécessaire. Dans la littérature, il a été décrit que cette augmentation du volume de la vacuole est dépendante du transport d'eau et de sucres (Arend and Fromm, 2003; Beauvoit *et al.*, 2014).

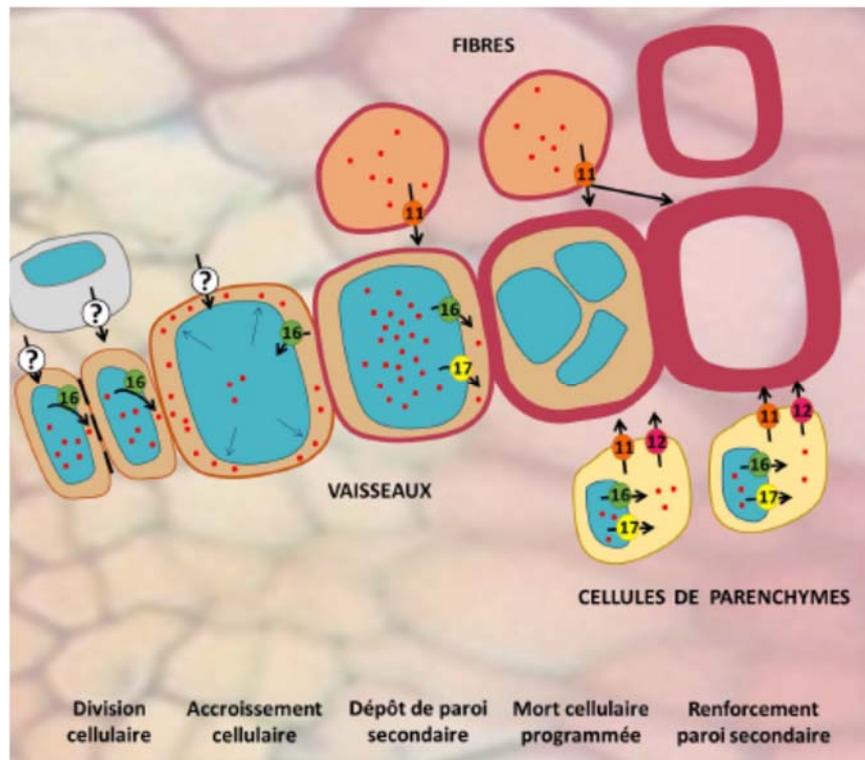


Figure 8 : Modèle proposé pour le rôle des transporteurs SWEET au cours de la différenciation du xylème de la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana* (d'après Aubry, 2019).

Les différents stades de développement d'un vaisseau de xylème sont représentés avec la division cellulaire d'une cellule souche procambiale donnant naissance à une cellule précurseur de xylème. Cette cellule s'accroît et la paroi secondaire se dépose. La mort cellulaire programmée entraîne la destruction de tous les organites. Enfin, la paroi secondaire s'épaissit fortement pour donner naissance à un vaisseau mature capable de transporter l'eau à longue distance. Les transporteurs de sucres sont représentés sous forme de ronds (orange, rose, vert, jaune ou blanc), les sucres sont présentés sous forme de petits ronds rouges, la vacuole est en bleue.

Nos résultats ont permis de proposer qu'au cours des premières étapes d'expansion cellulaire des cellules de xylème, SWEET16 participerait à l'import de sucres dans la vacuole afin d'assurer l'expansion des vaisseaux de xylème (Figure 8), le dépôt de la paroi secondaire débutant à la fin de l'expansion cellulaire (Schuetz *et al.*, 2012). Dans ce contexte nos résultats suggèrent que les sucres précédemment accumulés dans la vacuole seraient remobilisés vers le cytosol par l'action des transporteurs SWEET16 et SWEET17. Les sucres ainsi libérés dans le cytosol seraient utilisés comme précurseurs pour la synthèse des polysaccharides de parois. La spécificité de transport de SWEET17 pour le fructose, conduit à suggérer un rôle central de ce sucre dans la formation de la paroi secondaire du xylème. Bien que le lien entre le métabolisme du fructose et la formation de la paroi secondaire n'ait pas été jusqu'à présent spécifiquement étudié, un rôle important des fructokinases, qui permettent la phosphorylation du fructose avant sa métabolisation par la cellule a été proposé (Granot

et al., 2014; Stein *et al.*, 2017). En complément, un transport de sucres entre les fibres et les vaisseaux en développement pourrait également intervenir par l'action de SWEET11 (Figure 8).

A un stade de développement plus tardif, après la dégradation de la vacuole, la formation de la paroi secondaire se poursuit et la lignification des vaisseaux a lieu (Schuetz *et al.*, 2012). Du fait de l'absence de la vacuole, les vaisseaux ne pourraient plus être autonomes quant aux ressources carbonées et devraient donc dépendre des cellules voisines.

Un mécanisme de ce type a été mis en évidence pour le transport des monolignols (Smith *et al.*, 2013, 2017). Les monolignols synthétisés dans les fibres de xylème et les cellules de parenchyme xylémiens seraient transportés via l'action de transporteurs de type ABC dans les vaisseaux en maturation afin de permettre la formation de la paroi secondaire. De plus, les mêmes auteurs ont montré que contrairement aux vaisseaux dont la lignification est complètement dépendante des cellules environnantes (fibres et parenchyme xylémien), les fibres sont, quant à elles, autonomes pour leur lignification (Smith *et al.*, 2017). Nos résultats permettent de suggérer un mécanisme similaire dans le cas du transport des sucres solubles (Figure 8). Ainsi les transporteurs SWEET11 et/ou SWEET12 assureraient le transport des sucres depuis les fibres (SWEET11) et depuis les parenchymes xylémiens (SWEET11 et SWEET12) vers les vaisseaux en cours de maturation. L'expression de SWEET16 et SWEET17 dans les cellules de parenchyme xylémien pourrait permettre de maintenir l'homéostasie des sucres dans ce type cellulaire.

Au-delà de ce modèle, les résultats obtenus par Emilie Aubry montrent également que la modification du transport facilité des sucres (via SWEET11 et SWEET12) dans le système vasculaire n'impacte pas uniquement l'allocation des sucres mais également celle des acides aminés (analyse métabolomique, dosage d'acides aminés et ratio C/N dans la hampe florale et dans les graines). Ce résultat permet donc d'envisager que le double mutant *sweet11sweet12* constituerait un outil intéressant pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation du ratio C/N.

La régulation de l'homéostasie des sucres entre le cytosol et la vacuole (via SWEET16 et SWEET17) jouerait un rôle fondamental dans les processus de développement du système vasculaire, ce qui pourrait suggérer un lien entre le maintien de l'homéostasie des sucres et les voies de signalisation par les sucres. En effet, une dérégulation de l'expression des facteurs de transcription impliqués dans la formation des vaisseaux de xylème ainsi que des gènes impliqués dans la voie de signalisation du glucose (*HXK1* et *RGS1*) (Moore *et al.*, 2003; Fu *et al.*, 2014) est observée dans le double mutant *sweet16sweet17*. Un article rassemblant ces résultats, pour lequel Emilie Aubry sera 1^{er} auteur et que je signerai en tant qu'auteur de correspondance et dernier auteur, est en cours de rédaction et devrait être soumis prochainement.

Les doubles, triples et quadruple mutants affectés dans l'expression de *SWEET11*, *12*, *16* et *17* ont également été utilisés afin d'évaluer le rôle de ces protéines dans la réponse de la plante à des contraintes environnementales. Ainsi, en collaboration avec Evelyne Téoulé, Carine Géry, Elodie

Gilbault et Olivier Loudet (IJPB), la réponse de ces lignées à une contrainte de gel (-5°C et -7°C), à des températures fraîches (7°C) ou à une sécheresse modérée est en cours d'analyse. De la même manière, les résultats obtenus seront valorisés par des publications dans lesquelles Emilie Aubry sera auteur.

6.5.5 – EXPLORER LES RELATIONS ENTRE LES DIFFERENTS TYPES CELLULAIRES DU XYLEME

Les résultats obtenus au cours de la caractérisation fonctionnelle des gènes *SWEET* ont permis de mettre en évidence un rôle central des cellules de parenchyme vasculaire dans le développement du système vasculaire. Cependant, l'analyse de la bibliographie révèle peu d'information concernant les interactions existantes entre les différents types cellulaires au niveau du xylème (i.e. parenchyme xylémien, vaisseaux et fibres). C'est pourquoi, j'ai proposé au Département BAP, un projet visant à explorer cette question grâce à la technologie TRAP (Tagged Ribosome Affinity Purification) associée à un profilage transcriptomique par RNA-seq. Cette technologie permet d'avoir accès au traductome à l'échelle cellule-spécifique. Ce projet est réalisé en collaboration avec Sylvie Dinant, Françoise Vilaine (CR INRAE, IJPB, Versailles), Marie-Laure Martin-Magniette (DR INRAE, IPS2, Orsay) et Ludivine Soubigou-Taconnat (plateforme de transcriptomique POPS, IPS2). A présent, toutes les lignées TRAP ont été produites et nous vérifions actuellement les patrons d'expression dans nos conditions de culture avant de démarrer l'extraction des ARNm des différents types cellulaires.

6.6. PROJETS COMPLEMENTAIRES

En parallèle de mon projet de recherche principal, j'ai été associée à d'autres projets auxquels j'ai participé sur un plan expérimental ou par l'intermédiaire d'un co-encadrement. Ces projets avaient pour but de mieux comprendre l'organisation subcellulaire des tissus du phloème ou de mieux appréhender le lien entre l'allocation carbonée et le développement des graines ou la réponse des plantes à des contraintes biotiques (bénéfique ou non) ou abiotiques (stress salin).

Ainsi le projet de thèse de Thibaud Cayla (encadrement Sylvie Dinant) avait pour but de développer des outils de biologie cellulaire afin d'identifier les différents types cellulaires et l'organisation subcellulaire dans le phloème. Après le départ de Thibaud Cayla, la valorisation de ces travaux de thèse a nécessité des observations complémentaires en microscopie confocale afin d'affiner la localisation de certaines protéines. Compte tenu du fait que j'avais pu bénéficier de la formation par Thibaud Cayla à cette technique, j'ai réalisé ces observations ce qui a permis de publier les résultats de sa thèse (Cayla *et al.*, 2015). En complément, la méthode utilisée a été publiée comme un chapitre d'ouvrage (Cayla *et al.*, 2019).

Au cours de l'année 2013, l'équipe a accueilli Federica De Marco (encadrement Sylvie Dinant), étudiante italienne venue dans le cadre de sa thèse. Le projet de Federica était d'étudier, chez

la tomate et la vigne, les effets d'une infection par le Stolbur (phytoplasme) sur le phloème. Dans le cadre de ce projet, j'ai aidé Federica à réaliser des acquisitions d'images au microscope confocal afin de comparer les différences de structure du système vasculaire au cours d'une infection par les phytoplasmes. Après des expériences complémentaires, l'article, auquel j'ai été associée, a été publié (De Marco *et al.*, 2016).

De plus, Federica est revenue dans l'équipe entre 2014 et 2018 dans le cadre de plusieurs contrats obtenus par Sylvie Dinant (post-doc Agreenskills, post-doc du LaBex SPS). L'un des objectifs de ces projets était l'analyse des modifications du métabolisme carboné chez la tomate en réponse à l'infection par le Stolbur. Dans ce contexte, j'ai participé activement aux discussions scientifiques et j'ai apporté mon aide à Federica au niveau technique quand cela s'est avéré nécessaire.

La thèse de Sahar Sellami (encadrement Sylvie Dinant), avait pour but d'étudier l'homéostasie des sucres en réponse à une forte salinité chez *Arabidopsis thaliana*. Plus particulièrement Sahar a étudié l'impact d'une contrainte saline sur l'anatomie des tissus vasculaires dans la hampe florale. Dans le cadre de cette thèse, j'ai apporté un encadrement technique à Sahar ainsi qu'une aide pour l'interprétation scientifique et la rédaction de deux articles qui ont été publiés et auxquels j'ai été associée (Sellami *et al.*, 2019a,b).

Plus récemment j'ai également été contactée par deux collègues afin de collaborer à leur projet de recherche grâce à mon expertise sur les protéines SWEET et/ou en réalisant des expériences (ex : dosages de sucres, analyse statistique des données). L'un de ces projets porte sur la caractérisation fonctionnelle de *SWEET4* et *SWEET10* et leur implication le développement du nucelle dans la graine d'*Arabidopsis* (Thèse de Jing Lu encadrée par Enrico Magniani, IJPB). Le second projet porte sur l'impact d'une modification du transport des sucres médiée par les SWEETs sur les bénéfices conférés à la plante par la rhizobactérie *Pseudomonas simiae* WCS417 (Thèse d'Antoine Desrut encadrée par Cécile Vriet, Université de Poitiers).

6.6. CONCLUSION GENERALE

L'ensemble des questions biologiques que j'ai abordé depuis ma thèse m'ont permis d'approfondir les connaissances concernant le rôle des sucres en tant que nutriments, mais également en tant que molécules signal, dans le cadre de compétition entre organes, entre tissus et plus récemment entre cellules, dans des conditions normales de culture ou en situation de contraintes environnementales.

Mon intégration dans les différentes équipes, dans lesquelles j'ai travaillé, a favorisé le développement de nombreuses collaborations, qu'elles soient déjà existantes (ex : Bruno Sotta, Remi Lemoine, Thomas Moritz, Ekkehard Neuhaus) ou nouvelles (ex : Hubert Schaller, Cécile Vriet, Enrico Magnani, Christophe Sandt). Je fais également partie d'un réseau nouvellement formé (2020) qui rassemble les équipes françaises travaillant sur les transporteurs SWEET.

Ce réseau nous permet d'échanger du matériel génétique mais également nos expertises scientifiques. En complément, j'ai également bénéficié du support technique et scientifique des étudiants que j'ai encadrés ou co-encadrés (2 thèses, 1 M2, 3 M1, 2 L3 et 3 L2) et de deux assistantes ingénieurs de l'équipe (Nelly Wolff et Beate Hoffmann). Je me suis également fortement impliquée dans le fonctionnement des Ecoles Doctorales depuis mon DEA.

Ainsi j'ai été représentante des étudiants en DEA puis en thèse à l'Ecole Doctorale d'Angers. Depuis 2014, je participe également au Conseil Scientifique de l'Ecole Doctorale « Sciences du Végétal » à Orsay. De plus, comme la période de la thèse peut souvent être une étape difficile pour les étudiants, nous avons constitué à l'IJPB, le groupe des référents des thèses afin de suivre au plus près les différents doctorants au cours de leur thèse (ex : organisation d'une assemblée générale, médiation, entretien annuel individuel, organisation d'une table ronde sur l'employabilité des docteurs) et leur apporter l'aide nécessaire si besoin. J'ai aussi eu l'opportunité de participer à 2 comités de thèse et à mon 1^{er} jury de thèse en tant qu'examinatrice en 2019.

Outre ces activités, je suis également un membre élue au Conseil de service de l'IJPB depuis 2015 et au Comité des utilisateurs de SOLEIL depuis l'année dernière. De plus, puisque je pense que la transmission du savoir scientifique ne passe pas uniquement par la formation des jeunes chercheurs, j'ai également voulu partager ma thématique scientifique avec un public plus large. Dans cette optique, j'ai créé et j'anime le site Twitter de l'équipe (@CATSteam1), j'ai participé au stand INRA du Salon de l'Agriculture (2016 et 2018) et j'ai assuré plusieurs conférences de vulgarisation sur la thématique des sucres des végétaux auprès du grand public à travers différentes manifestations : Concours de science C'Génial (2018), journée Fascination of Plants Day (2019), 3 conférences dans le cadre de « La Science se livre » dans les médiathèques des Hauts-de-Seine (2020).

7. PROJET DE RECHERCHE

7.1. CONTEXTE DE L'ETUDE

Tout au long du développement et de la croissance de la plante, les sucres produits dans les organes sources (ex : feuilles matures, hampe florale) sont transportés entre les différents organes, tissus, cellules et compartiments subcellulaires. Selon l'échelle spatiale, on distingue trois types de transport : (i) à l'échelle de plusieurs centimètres, c'est-à-dire entre organes distants, le transport est qualifié de transport à longue distance ; (ii) à l'échelle de plusieurs millimètres c'est-à-dire entre différents tissus, le transport est qualifié de transport à moyenne distance ou de transport latéral ; et finalement (iii) à l'échelle de plusieurs nanomètres, c'est-à-dire dans le cas d'un transport intracellulaire et intercellulaire, on parle de transport à courte distance (Lüttge, 2019). A chacune de ces échelles, les sucres peuvent être transportés par voie symplasmique (*via* les plasmodesmes) et/ou par voie apoplasmique (*via* des transporteurs) (pour revue Zhang and Turgeon, 2018). Dans le cas de la voie apoplasmique, le transport peut se faire contre le gradient de concentration grâce au couplage d'un transporteur (ex : protéine de la famille SUC/SUT) et d'une protéine permettant l'apport d'énergie (ex : pompe à proton, ATPase), ou bien dans le sens du gradient de concentration par un transport facilité, notamment par les protéines de la famille SWEET (Sugar Will Eventually Be Exported Transporters) (pour revue Zhang and Turgeon, 2018). L'identification et la caractérisation de transporteurs impliqués dans le transport à longue distance (relation source-puits) et à courte distance (transport cytosol-vacuole) des sucres a largement été décrite dans la littérature (Hedrich *et al.*, 2015; Durand *et al.*, 2018). En comparaison, bien qu'un transport à moyenne distance, ou transport latéral, des solutés organiques et inorganiques, ait été identifié dès les années 60 et 70 (pour revue van Bel, 1990), peu d'acteurs moléculaires ont été identifiés jusqu'à présent.

Afin de faire le point sur les connaissances actuelles liées au transport latéral, nous avons rédigé une revue de synthèse dans laquelle nous avons notamment replacé les acteurs moléculaires impliqués ou potentiellement impliqués dans le transport latéral de sucres et des ions, dans la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana* (Figure 9) (Aubry *et al.*, 2019). Au sein du système vasculaire, c'est le transport latéral des sucres entre le phloème et les tissus adjacents qui est le plus décrit (pour revue Aubry *et al.*, 2019). Ainsi, dans la tige de pois, l'utilisation de l'isotope ^{14}C a permis de montrer qu'environ 6% des sucres diffusent en dehors du phloème par centimètre de tige (Minchin and Thorpe, 1987). La moitié de ces sucres, soit 3% par cm de tige, est rechargée dans la sève phloémienne par un processus actif (Minchin and Thorpe, 1987). De ce fait, au maximum 3% des sucres par centimètre de tige sont disponibles pour être transportés et utilisés par les tissus adjacents (ex : cambium, parenchyme vasculaire, vaisseaux de xylème en développement). Bien qu'il n'y ait, à ma connaissance, pas de données chiffrées concernant le transport latéral chez les arbres, ce processus est également important puisqu'il permet de réguler la balance du carbone de la tige en fonction des besoins (pour revue Furze *et al.*, 2018).

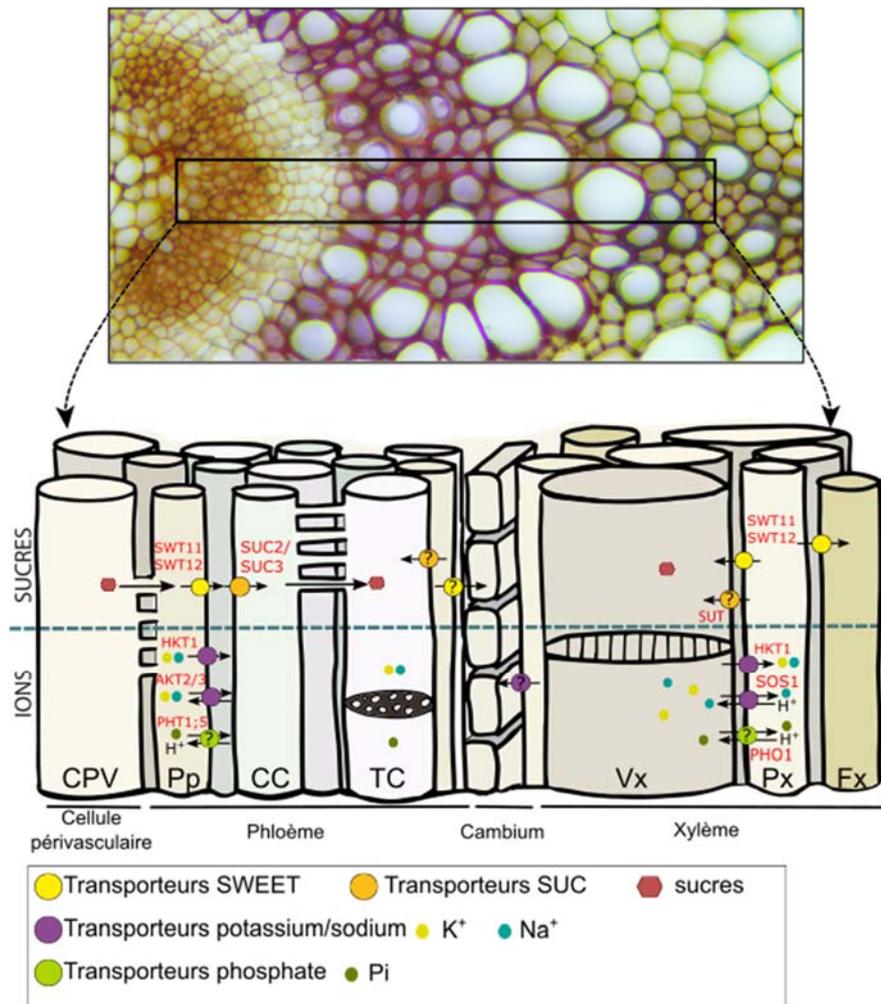


Figure 9. Modèle du transport latéral des sucres et des ions dans la hampe florale d’*Arabidopsis thaliana* (d’après Aubry *et al.*, 2019).

Le panneau supérieur montre une section transversale d’un faisceau cribro-vasculaire d’une hampe florale colorée à la safranine O et au bleu alcian. Le panneau inférieur est un dessin présentant une vue longitudinale des différents types cellulaires présents dans un faisceau cribro-vasculaire. Ce modèle est basé sur la connaissance actuelle de la distribution spatiale des transporteurs de sucres et d’ions dans la hampe florale d’*Arabidopsis thaliana*. Les points d’interrogation se réfèrent à des transporteurs de sucres et d’ions dont la localisation a été démontrée dans d’autres organes d’*Arabidopsis* ou chez des espèces ligneuses et qui pourraient être également présents dans la hampe florale. CC : cellule compagne ; CPV : cellule périvasculaire ; Fx : fibre du xylème ; Pp : parenchyme phloèmien ; Px : parenchyme xylèmien ; SWEET : SUGAR WILL EVENTUALLY BE EXPORTED TRANSPORTERS ; SUC : SUCROSE TRANSPORTER ; TC : tube criblé ; Vx : vaisseau du xylème.

Ainsi, bien que les preuves expérimentales de l’existence et de l’importance du transport latéral des sucres entre les tissus du système vasculaire ne soient plus à apporter chez des espèces herbacées et ligneuses (pour revue van Bel, 1990; Aubry *et al.*, 2019), des questions persistent. Quels sont les types cellulaires impliqués dans le transport latéral des sucres ? Quelle est la contribution

relative des voies apoplasmique et symplasmique dans ce processus ? Quels sont les acteurs moléculaires impliqués dans ce transport ? Comment ce transfert latéral est-il coordonné avec les autres échelles de transport, notamment les transports à longue et courte distance ? Est-il possible de manipuler spécifiquement le transport latéral ? Si oui quel serait l'impact d'une telle manipulation sur le développement, la croissance et le rendement de la plante ? Est-ce que le transport latéral des sucres est modifié en réponse à des contraintes environnementales ?

Il est techniquement difficile de travailler sur le transport latéral des nutriments. C'est pourquoi la majorité des connaissances obtenues sur le transport latéral l'a été par des approches indirectes, notamment grâce à l'utilisation de composés radiomarqués (pour revue van Bel, 1990). A présent, je pense que la combinaison de la génétique, de la biologie moléculaire et des techniques d'imagerie devrait nous permettre d'approfondir nos connaissances sur le transport latéral des sucres, en abordant, d'une part, la question du mode de transport des sucres entre les différents types cellulaires (voie apoplasmique et/ou symplasmique) et, d'autre part, en identifiant les acteurs moléculaires impliqués dans ce transport à moyenne distance.

Pour ce faire, je propose d'utiliser la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana* comme modèle d'étude. Depuis plusieurs années, j'ai acquis un matériel génétique important chez cette espèce et je propose à présent de l'exploiter dans ce projet. Cependant, l'objectif à terme est de pouvoir transférer les résultats obtenus chez *Arabidopsis*, chez une espèce d'intérêt agronomique. Ce transfert a déjà débuté grâce à ma collaboration avec Totte Niittylä (UPSC, Suède) et qui vise à mieux comprendre le rôle des protéines SWEET dans la formation du bois chez le peuplier. Par ailleurs, le choix de la hampe florale comme modèle d'étude se justifie de plusieurs manières. En effet, chez *Arabidopsis*, la hampe florale joue un rôle central dans la croissance de la plante puisqu'elle porte les inflorescences latérales, les fleurs, les fruits et les graines (Boyes *et al.*, 2001). Elle permet la distribution des nutriments et de l'eau dans l'ensemble des organes latéraux *via* le système vasculaire des faisceaux cribro-vasculaires. De plus, au terme du développement de la plante, du fait du xylème dont les vaisseaux et les fibres présentent des parois secondaires très épaissies, la hampe florale seule (sans les organes axiaux et terminaux) représente environ 38% de la biomasse totale produite par la plante (communication personnelle Chardon et Marmagne, IJPB). La production de cette épaisse paroi secondaire nécessite une grande quantité de sucres (Verbančič *et al.*, 2018), ce qui fait potentiellement du xylème un des principaux puits axiaux de la hampe florale. Au sein de cet organe, les nutriments, dont les sucres, sont transportés par le phloème de transport qui permet d'acheminer les sucres des organes sources vers les organes/tissus puits, comme les cellules de xylème en cours de développement.

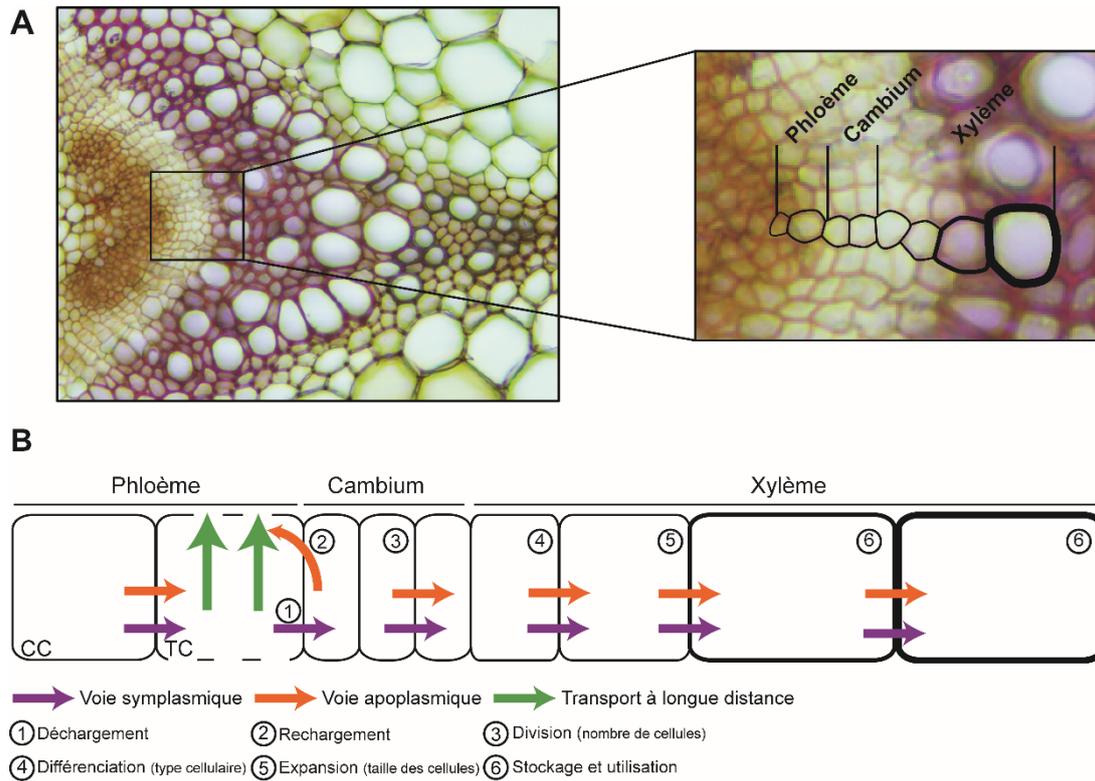


Figure 10. Modèle de la distribution latérale des sucres du phloème vers les tissus adjacents au sein de la hampe florale d’*Arabidopsis thaliana*.

(A) A gauche, photographie d’une section transversale d’un faisceau cribro-vasculaire d’une hampe florale colorée à la safranine O et au bleu alcian. A droite, grossissement centré sur les cellules entourant la zone cambiale. Une file de cellules comprenant des cellules de phloème, cambium et de xylème à différents stades de développement a été surlignée en noire.

(B) Représentation schématique des cellules impliquées dans le transport latéral des sucres. Une fraction des sucres chargés dans les tubes criblés diffuse par voie symplasmique dans l’apoplasme des tissus adjacents (1). Alors qu’une partie de ces sucres est rechargée dans les tubes criblés par voie apoplasmique (2), les sucres restants sont importés dans le cytosol des cellules cambiales par voie apoplasmique et/ou symplasmique. Dans le cambium, les sucres serviraient à fournir l’énergie nécessaire aux processus de division (3), de différenciation (4) cellulaire. Au cours du développement des cellules de xylème, les sucres issus du transport latéral pourront être stockés, utilisés pour le métabolisme général de la cellule et la synthèse des composés pariétaux (6). CC : cellule compagne ; TC : tube criblé.

C’est au sein de ce phloème de transport que le transport latéral des sucres *via* les mécanismes de fuite/rechargement a majoritairement lieu (Le Hir *et al.*, 2008). L’organisation des tissus dans un faisceau cribro-vasculaire offre la possibilité d’observer, sur une section, une continuité de cellules entre le phloème et le xylème qui sont potentiellement impliqués dans le transport latéral des sucres (Figure 10A).

L'analyse des connexions entre ces types cellulaires mais également du développement des cellules de xylème (nombre, taille, composition de la paroi secondaire) constitue donc un moyen d'étudier la contribution du transport latéral des sucres du phloème vers les tissus adjacents (Figure 10B).

7.2. CARACTERISER LES CONNEXIONS EXISTANTES ENTRE LES DIFFERENTS TYPES CELLULAIRES DU SYSTEME VASCULAIRE

L'analyse de la fréquence et de l'ultrastructure des plasmodesmes dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* suggère que le transport des sucres se fait, entre les cellules de la gaine périvasculaire et les cellules de parenchyme phloémien, par voie symplasmique (Haritatos *et al.* (2000). Le chargement des sucres dans le complexe cellule compagne-tube criblé se ferait, quant à lui, par voie apoplasmique (Haritatos *et al.*, 2000). A l'inverse, chez le peuplier, qui est considéré comme une espèce à chargement symplasmique, les sucres sont principalement transportés *via* les plasmodesmes (Davidson *et al.*, 2011; Fu *et al.*, 2011). Pourtant, il a été montré que le transporteur PttSUT3 était le principal acteur du transport latéral des sucres lors de la formation du bois chez cette espèce (Mahboubi *et al.*, 2013; Mahboubi and Niittylä, 2018). Que le transport latéral des sucres dans la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana* s'effectue également sur la base d'une coordination des voies apoplasmique et symplasmique reste totalement à établir. Il n'y a, à ma connaissance, aucune information sur les connexions existantes entre les différents types cellulaires du système vasculaire au sein de cet organe. Pourtant les coupes transversales de hampe florale offrent la possibilité de visualiser les différents types cellulaires et même les différentes étapes du développement dans le cas des cellules du xylème (Figure 10A). Le premier objectif de mon projet sera donc de mieux caractériser ces connexions.

La microscopie électronique à transmission est une méthode intéressante, notamment, pour observer les plasmodesmes à l'échelle nanométrique. Cependant cette technique est relativement lourde à mettre en place et nécessite une expertise importante notamment lorsqu'il s'agit d'observer les cellules du système vasculaire. C'est pourquoi je propose plutôt d'utiliser la microscopie confocale pour observer, d'une part, l'expression de marqueurs de plasmodesmes et/ou de transporteurs couplés à la GFP dans des lignées transgéniques et, d'autre part, la diffusion de composés fluorescents spécifiques de chacune des voies. Cette technique est relativement aisée à mettre en œuvre et permet d'observer de façon simultanée plusieurs marqueurs sur des échantillons sans fixation.

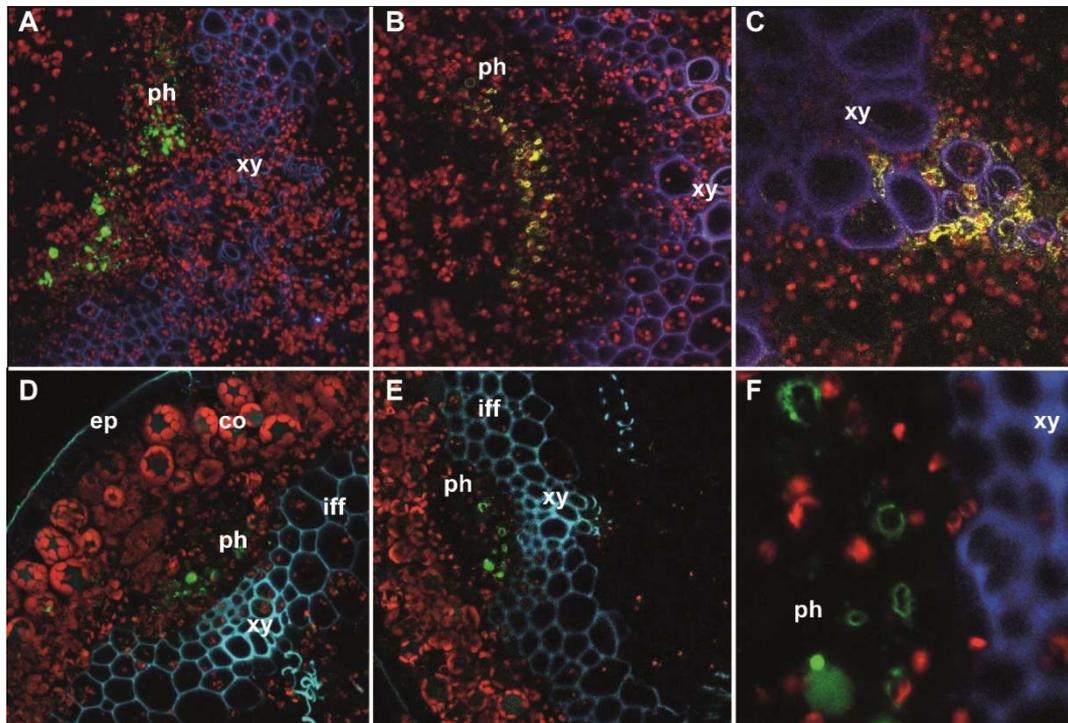


Figure 11. Domaine d'expression des transporteurs SUC2 et SWEET11 dans la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana*.

(A) Observation de *pSUC2::GFP* dans le phloème. (B-C) Observation de *pSUC2::mCit:RC12A* dans le phloème (B) et à la pointe du xylème (C). (D-F) Localisation de *pSWEET11::SWEET11:GFP* à la membrane plasmique des cellules de parenchyme phloémien. Les coupes ont été réalisées à main levée et observées directement au microscope confocale sans contre-coloration. Les fausses couleurs représentent l'autofluorescence des chloroplastes (rouge), de la lignine (bleue) et les fluorophores (jaune ou vert).

Des colorations des coupes de hampe florales au bleu d'aniline qui met en évidence la callose, composé présent dans les plages de cribles des tubes criblés du phloème et les plasmodesmes, permettront d'observer les connexions symplasmiques. J'ai d'ores et déjà effectué des essais de coloration au bleu d'aniline sur les coupes de hampe florales qui ont permis de bien visualiser les plasmodesmes présents entre les cellules de la moelle et les parenchymes xylémiens. De plus, l'observation de la localisation des marqueurs de plasmodesmes PDLP1 et PdBG1 dans les lignées *p35S::PDLP1a:GFP* (Thomas *et al.*, 2008) et *p35S::PdBG1-mCit* (Benitez-Alfonso *et al.*, 2013), qui sont déjà disponibles dans l'équipe, viendront compléter les observations.

Ces analyses seront réalisées dans un premier temps sur des plantes de type sauvage et l'utilisation d'un logiciel d'analyse d'images comme FIJI pourra nous permettre de quantifier si nécessaire le nombre de plasmodesmes présents notamment entre les différentes interfaces (ex : tube criblé/procambium, procambium/initiale du xylème).

Pour la voie apoplasmique, des marqueurs fluorescents comme l'esculine (transporté par le transporteur SUC2) (Knoblauch *et al.*, 2015) ou le 5,6-CFDA pourraient également être utilisés. L'application de ces marqueurs pourra se faire par incubation des hampes florales isolées puis coupes à main levée et observation au microscope confocal, comme décrit par Botha *et al.* chez le riz (2008). De plus, il a été suggéré que le transporteur SUC2 aurait un rôle dans les mécanismes de rechargement des sucres le long du phloème de transport (Srivastava *et al.*, 2008). Il apparaît donc pertinent d'approfondir la localisation de SUC2 dans le phloème de transport de la hampe florale. Dans l'équipe, nous avons deux lignées sous le contrôle du promoteur de *SUC2*. La lignée *pSUC2::mCit:RC12A* permet de visualiser la membrane plasmique des cellules dans lesquelles s'exprime le promoteur de *SUC2* (Thompson and Wolniak, 2008). La lignée *pSUC2::GFP* que j'ai obtenue auprès d'Elisabeth Truernit (ETH Zürich, Suisse) et de Ruth Stadler (FAU, Erlanger, Allemagne), permet de visualiser le complexe cellule compagne-tube criblé (Imlau *et al.*, 1999). Les premières observations montrent effectivement un signal très fort dans le phloème des faisceaux cribro-vasculaires de la hampe florale pour les deux lignées (Figure 11A et B). Par contre, de façon assez surprenante, dans la lignée *pSUC2::mCit:RC12A*, un fort signal est également observé à la pointe du xylème, probablement dans des cellules de parenchyme xylémien (Figure 11C). La taille du promoteur utilisé étant identique dans les deux constructions (Imlau *et al.*, 1999; Thompson and Wolniak, 2008), la différence observée devra être confirmée sur ces lignées. De plus j'envisage de réaliser des immunolocalisations sur des coupes de hampe florale avec un anticorps anti-SUC2 disponible dans l'équipe de notre collaborateur Rémi Lemoine (Université de Poitiers). Ces données préliminaires suggèrent un rôle plus large du transporteur SUC2 au niveau des cellules de xylème de la hampe florale, ce qui mériterait d'être approfondie dans le futur.

Nos travaux précédents nous ont permis de suggérer que les transporteurs SWEET pourraient être impliqués dans le transport latéral des sucres (Le Hir *et al.*, 2015; Aubry *et al.*, 2019). Je propose donc de compléter le profil d'expression de ces transporteurs en observant les lignées *pSWEET:SWEET:GFP* à différents stades de développement de la hampe florale.

Les lignées *pSWEET11:SWEET11:GFP* et *pSWEET12:SWEET12:GFP* ont été produites par Lara Spinner et grâce à l'aide de Françoise Vilaine et de Beate Hoffmann nous avons à présent les lignées *pSWEET16:SWEET16:GFP* et *pSWEET17:SWEET17:GFP*. Les observations préliminaires des plantes exprimant *pSWEET11:SWEET11:GFP* confirment que la protéine est localisée dans le phloème (Figure 11D-F). Par contre, contrairement aux résultats obtenus par hybridation *in situ* (Le Hir *et al.*, 2015), elle ne semble pas être présente dans le xylème. Cependant, il est difficile d'observer la fluorescence de la GFP dans le xylème, du fait de la forte autofluorescence générée par les parois secondaires. Il est donc possible qu'un faible signal de la GFP y soit masqué.

Pour pallier à ce problème, j'envisage de procéder à des immunolocalisations avec un anticorps anti-GFP afin d'augmenter le signal selon le protocole développé par Ding et al. (2019).

Finalement, dans le cadre des travaux de thèse d'Emilie Aubry, des différences de localisation du gène rapporteur *GUS* sous le contrôle des promoteurs *SWEET* ont été observées entre les différents types de pôles présents au sein de la hampe florale (données non publiées). En effet, les faisceaux cribro-vasculaires sont organisés en trois types de pôles qui diffèrent selon leur forme et leur position par rapport aux organes latéraux (Park *et al.*, 2015). Plus précisément, les pôles de type M (Main stem connexion), de forme triangulaire, permettent d'assurer la continuité des connexions tout le long de la hampe florale. Les pôles de type B (Branching stem connexions) sont observés à l'approche d'un entre-nœud supportant une inflorescence latérale et sont composés de plusieurs pointes xylémiques. Finalement entre deux pôles de type B, on observe un pôle de type L (Cauline leaf connexion), de forme arrondie, qui permet la connexion entre la hampe florale principale et la feuille cauline. De ce fait, cette analyse des connexions existantes entre les tissus vasculaires devra également prendre en compte cette complexité de l'organisation des pôles cribro-vasculaires dans la hampe florale.

7.3. CARACTERISER LE ROLE DES CELLULES DE PARENCHYME DANS LE TRANSPORT LATERAL DES SUCRES

Chez les espèces ligneuses et certaines espèces herbacées (ex : tomate), ce sont des cellules de parenchyme spécialisé, les rayons (aussi dénommé parenchyme radial ou horizontal) et les cellules de parenchyme axial (aussi dénommé parenchyme vertical) (Czaninski, 1987), qui sont impliquées dans le transport latéral des nutriments et notamment des glucides non structuraux (i.e. sucres solubles et amidon) (Plavcova and Jansen, 2015).

Ces cellules de parenchyme ont un rôle double : subvenir aux besoins énergétiques immédiats des cellules en cours de développement (ex : différenciation du cambium, formation de la paroi secondaire du xylème) et stocker les sucres puis les remobiliser lorsque l'activité source des feuilles n'est plus suffisante pour satisfaire la demande (pour revue Furze *et al.*, 2018).

Chez *Arabidopsis thaliana*, le xylème est composé de différents types cellulaires : les vaisseaux, les fibres, les cellules de parenchyme (axial et xylémien). Ces différents types cellulaires peuvent être distingués selon plusieurs caractéristiques cytologiques (Tableau I). La présence de rayons (parenchyme radial) n'est cependant pas une caractéristique générale et peut seulement être observée dans certaines conditions de croissance et/ou lorsque la plante est soumise à la présence d'un poids artificiel (Ko and Han, 2004; Mazur and Kurczynska, 2012; Mazur *et al.*, 2014).

Tableau I. Caractéristiques cytologiques des différentes catégories cellulaires présentes dans le xylème de la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana*.

Type cellulaire	Caractéristiques cytologiques					Références
	Aire moyenne (μm^2)	Paroi secondaire	Réponse au réactif de MaÛle	Coloration au bleu de toluidine	Localisation	
Vaisseaux	200-250 μm^2	Présente et épaisse	Positive (rouge)	Bleue	NA	(Baghdady <i>et al.</i> , 2006; Tixier <i>et al.</i> , 2013; Smith <i>et al.</i> , 2017)
Fibres	60-80 μm^2	Présente et épaisse	Positive (rouge)	Violette	Sans contact proche	
Parenchyme axial	Pas d'information spécifique mais semblable aux fibres	Présente et épaisse	Négative (brune)	Violette	En contact avec les vaisseaux	
Parenchyme xylémien	Pas d'information	Présente mais fine	Aucune coloration	Violette	A la pointe	

NA : non applicable

Ainsi, l'absence de rayons dans la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana* permet de suggérer que d'autres types de parenchyme sont impliqués dans le transport latéral des nutriments dont les sucres. Chez cette espèce, deux autres types de cellules de parenchyme sont observés dans les faisceaux cribro-vasculaires : les cellules de parenchyme axial qui sont présentes entre les vaisseaux de xylème et qui présentent une paroi secondaire lignifiée (Turner and Sieburth, 2002; Baghdady *et al.*, 2006) et les cellules de parenchyme xylémien, présentes à la pointe du xylème et ne possédant pas de paroi secondaire lignifiée (Berthet *et al.*, 2011) (Tableau I). Au cours du développement du xylème un rôle important de ces deux types cellulaires (cellules de parenchyme axial et les cellules de parenchyme xylémien) a d'ailleurs été identifié au moment de la lignification des vaisseaux (Baghdady *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2019). Cependant, à ma connaissance, aucune donnée fonctionnelle n'existe sur l'un ou l'autre de ces deux types cellulaires.

En effet, bien que plusieurs analyses transcriptomiques aient été réalisées au cours du développement de la hampe florale (Ko and Han, 2004; Brown *et al.*, 2005; Ehling *et al.*, 2005; Imoto *et al.*, 2005; Minic *et al.*, 2009; Vanholme *et al.*, 2012; Hall and Ellis, 2013; Shi *et al.*, 2020), seule la plus récente a consisté en un profilage transcriptomique à l'échelle tissu et cellule-spécifique (Shi *et al.*, 2020). Cependant les cellules de parenchyme vasculaires n'y sont pas incluses. C'est donc dans cet esprit que j'ai construit le projet XylemTRAP qui a été financé par le Département BAP. L'objectif de ce projet est d'utiliser la technique de TRAP (Tagged Ribosome Affinity Purification) (Mustroph *et al.*, 2009), qui permet, grâce à l'utilisation d'un promoteur spécifique d'un type cellulaire, d'avoir accès, par RNA-seq, à l'identification des ARNs en cours de traduction dans ce type cellulaire.

Les données de localisation obtenues avec la construction *pSWEET17:GUS* montrent que le domaine d'expression de ce promoteur est spécifique des cellules de parenchyme xylémien, ce qui en fait donc un bon candidat pour la technologie TRAP. Le promoteur du gène de la *PEROXIDASE47* dont le domaine d'expression est également restreint aux cellules de parenchyme xylémien dans la hampe florale est également un candidat intéressant (Smith *et al.*, 2013).

Pour comparaison, cette approche sera également étendue aux autres types cellulaires du xylème, les vaisseaux et les fibres en cours de différenciation.

Cependant, aucun marqueur spécifique des cellules de parenchyme axial n'étant actuellement identifié, ce type cellulaire ne sera pas inclus dans l'analyse. La croissance de la hampe florale étant un processus dynamique les différents stades de son développement pourront également être analysés. Les résultats obtenus permettront de caractériser les interactions moléculaires entre les différents types cellulaires composant le xylème.

En parallèle de cette approche sans *a priori*, je propose également une approche plus ciblée sur la base de nos résultats. En effet, nous avons montré un rôle important du transport intercellulaire et intracellulaire des sucres, médiée par les transporteurs SWEET, entre et au sein des cellules de parenchyme vasculaire (i.e. phloémien et xylémien) afin de permettre une composition adéquate de la paroi des cellules conductrices (Aubry, 2019; Dinant *et al.*, 2019). Cependant, le domaine d'expression des promoteurs des gènes *SWEET11*, *SWEET12* et *SWEET16* n'est pas spécifique à un tissu puisqu'ils sont exprimés dans le phloème et le xylème (Chardon *et al.*, 2013; Klemens *et al.*, 2013; Le Hir *et al.*, 2015; Aubry, 2019; Cayla *et al.*, 2019).

Ainsi les altérations phénotypiques observées chez les mutants pourraient résulter de l'absence de la protéine dans le phloème et/ou dans le xylème. Afin d'essayer de dissocier les effets dans l'un ou l'autre de ces tissus, je propose de réaliser des complémentations partielles des différents mutants *sweet*. Pour ce faire, les gènes *SWEETs* mutés seront exprimés chez ces mutants sous le contrôle d'un promoteur spécifique des cellules de parenchyme xylémien (Smith *et al.*, 2017) (ex : *PRX47*, *SWEET17*). L'analyse phénotypique de la hampe florale des lignées partiellement complémentées par les méthodes d'analyse que j'ai mises au point précédemment (ex: analyse d'image du xylème, FTIR, Raman) permettra ainsi de déduire, par comparaison avec le phénotype des mutants non complémentés et des plantes de types sauvage, la contribution aux défauts de développement et de formation de paroi observés chez les mutants de l'absence de ces protéines dans ce type cellulaire.

7.4. COMPLETER LA CARACTERISATION DES TRANSPORTEURS SWEET IMPLIQUES DANS LE TRANSFERT LATERAL DES SUCRES

Chez *Arabidopsis thaliana*, les membres de la famille des transporteurs SWEET assurent le transport facilité des sucres selon le gradient de concentration au niveau intercellulaire et intracellulaire (Baker *et al.*, 2012). La famille s'organise autour de 4 clades (Figure 12) : le clade I comprend les transporteurs SWEET1, 2 et 3 ; le clade II comprend les transporteurs SWEET4, 5, 6, 7 et 8 ; le clade III comprend les transporteurs SWEET9, 10, 11, 12, 13, 14 et 15 et finalement le clade IV comprend les transporteurs SWEET16 et SWEET17 (Eom *et al.*, 2015). De plus, ces transporteurs doivent obligatoirement former des homo et/ou des hétérodimères pour être fonctionnels (Xuan *et al.*, 2013).

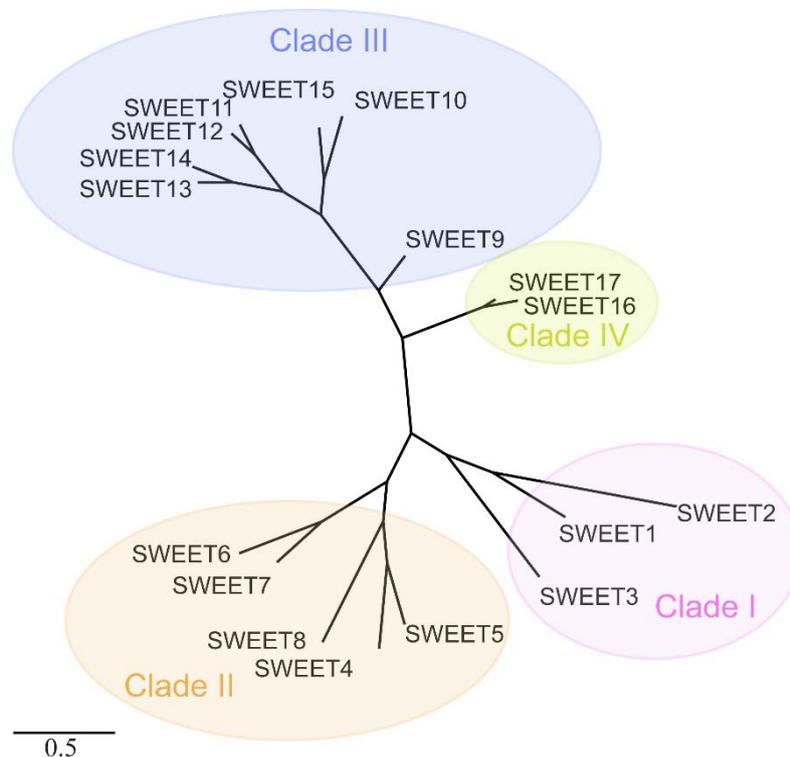


Figure 12. Arbre phylogénétique de la famille des protéines SWEET chez *Arabidopsis thaliana*.

Cet arbre non enraciné a été construit à partir des séquences protéiques des différents transporteurs SWEET identifiés chez *Arabidopsis thaliana* grâce au pipeline disponible sur le site www.phylogeny.fr. L'alignement des séquences a été généré en utilisant les paramètres par défaut de l'algorithme MUSCLE et a ensuite été nettoyé en utilisant la méthode Gblocks pour exclure les sites non informatifs. La méthode du maximum de vraisemblance PhyML a été utilisée pour générer la phylogénie et la représentation de l'arbre a été faite par l'algorithme TreeDyn.

Jusqu'à présent nos travaux suggèrent que les transporteurs SWEET11, SWEET12, SWEET16 et SWEET 17 participeraient à la régulation fine de l'homéostasie des sucres dans les cellules de parenchyme du xylème, en formant potentiellement différentes combinaisons de dimères en fonction des types cellulaires et des compartiments subcellulaires dans lesquels ils s'expriment. Mais qu'en est-il des autres membres de cette famille ? Des expériences préliminaires sur d'autres membres des clades I et III, nous suggèrent qu'effectivement d'autres transporteurs SWEET seraient impliqués dans le transport latéral des sucres entre le phloème et le xylème en contribuant au maintien de l'homéostasie des sucres entre et au sein des cellules du système vasculaire.

Ainsi, lors de la comparaison initiale des données de transcriptomes réalisée au début de mon post-doc, nous avons également identifié le transporteur SWEET1. J'ai donc débuté la caractérisation fonctionnelle du simple mutant *sweet1* mais également celle des mutants affectés dans l'expression des autres membres du clade I c'est-à-dire, les mutants *sweet2* et *sweet3*. Des multiples mutants affectés dans l'expression des gènes *SWEET1*, *SWEET2* et/ou *SWEET3* et dans l'expression de *SWEET11* et *SWEET12* ont également été produits (Tableau II).

Tableau II. Liste des multiples mutants disponibles dans les gènes *SWEET1*, *SWEET2*, *SWEET3*, *SWEET11*, *SWEET12*, *SWEET16* et/ou *SWEET17*.

Les lignées utilisées pour la production de ces multiples mutants ont été confirmées comme des allèles nuls. Les mutations de ces différentes lignées sont toutes à l'état homozygote.

Double mutant	Triple mutant	Quadruple mutant
<i>sweet1sweet2</i>	<i>sweet11sweet12sweet1</i>	<i>sweet11sweet12sweet1sweet3</i>
<i>sweet1sweet3</i>	<i>sweet11sweet12sweet3</i>	<i>sweet11sweet12sweet16sweet17</i>
<i>sweet3sweet2</i>	<i>sweet11sweet12sweet16</i>	
<i>sweet11sweet3</i>	<i>sweet11sweet12sweet17</i>	
<i>sweet11sweet12</i>	<i>sweet16sweet17sweet2</i>	
<i>sweet16sweet17</i>		
<i>sweet16sweet2</i>		
<i>sweet17sweet2</i>		

De plus, les lignées *pSWEET1:GUS*, *pSWEET2:GUS* et *pSWEET3:GUS* ont été générées. Les observations préliminaires montrent que dans la lignée *pSWEET1:GUS* la β -glucuronidase est présente dans les cellules du phloème alors que dans les lignées *pSWEET2:GUS* et *pSWEET3:GUS*

son expression est restreinte aux cellules situées à la pointe du xylème. L'analyse initiale du phénotype des simples mutants *sweet1* et *sweet2* montre que leur hampe florale présente un diamètre plus petit que le type sauvage et que les faisceaux cribro-vasculaires présentent moins de phloème alors qu'aucun changement concernant le xylème n'a été observé. Finalement, nos analyses de FTIR montrent une composition modifiée de la paroi du xylème chez les trois lignées *sweet1*, *sweet2*, et *sweet3*. Il semblerait donc que ces transporteurs jouent également un rôle dans le développement du xylème mais ces résultats doivent être confirmés et l'analyse phénotypique des multiples mutants entreprise.

Le transporteur SWEET2 nous intéresse tout particulièrement car, avec SWEET16 et SWEET17, ce sont les trois seuls transporteurs tonoplastiques de cette famille (Chen *et al.*, 2015). Compte tenu de leur localisation commune dans les cellules de parenchyme xylémien, j'ai sollicité l'aide de Beate Hoffmann, assistante ingénieur dans l'équipe, pour la production du triple mutant *sweet16sweet17sweet2* et son analyse phénotypique. Les résultats obtenus devraient permettre de mieux comprendre le rôle des SWEETs dans le maintien de l'homéostasie des sucres dans les parenchymes xylémiens et l'incidence de la perturbation de cette homéostasie sur le développement du xylème.

Concernant les membres du clade III, l'analyse de l'expression des autres gènes *SWEET* dans le double mutant *sweet11sweet12* montrent que les gènes *SWEET13* et *SWEET15* sont fortement surexprimés suggérant une possible redondance fonctionnelle avec *SWEET11* et *SWEET12*.

De plus, des données transcriptomiques récentes obtenues à l'échelle tissulaire dans la hampe florale montrent une expression prédominante de *SWEET13* dans les cellules du phloème et de *SWEET15* dans les cellules du phloème et du cambium distal (Shi *et al.*, 2020). Il serait donc également intéressant de caractériser le phénotype des mutants *sweet13* et *sweet15* et de produire les multiples mutants avec *sweet11sweet12*. Un lien entre SWEET11, 12 et 15 a déjà été établi dans le cadre de la nutrition de l'embryon au cours du développement de la graine (Chen *et al.* 2015). Nos résultats semblent suggérer également un rôle de ces transporteurs au niveau du système vasculaire de la hampe florale. Le réseau auquel j'appartiens et qui rassemble les équipes françaises travaillant sur les transporteurs SWEET, et dont un des objectifs est la mise en commun du matériel génétique, devrait permettre de disposer de ces lignées rapidement.

L'ensemble de ce matériel génétique représente une ressource importante pour mieux comprendre le rôle des transporteurs SWEET dans le développement du système vasculaire chez *Arabidopsis thaliana*. A court terme, l'objectif est de poursuivre l'analyse phénotypique des mutants *sweet16sweet17sweet2* et d'entreprendre celles des autres multiples mutants (ex : *sweet11sweet12sweet1*). L'analyse phénotypique de ces mutants se fera avec la même approche que celle utilisée jusqu'à présent (ex : hauteur et diamètre de la hampe florale, quantification du nombre et de la taille des cellules de xylème, analyse de la paroi par FTIR).

Cette analyse fera l'objet d'un sujet de M2, que je souhaite proposer l'année prochaine, ainsi que d'un sujet de thèse, dans la continuité, qui sera proposé au concours de l'Ecole Doctorale.

7.5. MIEUX COMPRENDRE LES INTERACTIONS TROPHIQUES EXISTANTES ENTRE LES DIFFERENTS ORGANES PORTES PAR LA HAMPE PRINCIPALE.

Chez les herbacées, un rôle clé du transport latéral bidirectionnel entre le phloème et le xylème dans le contrôle du rapport carbone/azote (C/N) a été proposé (Pate *et al.*, 1980; Layzell and Larue, 1982; van Bel, 1990). En effet, en complément d'un transport latéral des sucres entre les tissus vasculaires, un transport latéral des composés azotés a également été observé, préférentiellement dans la direction xylème-phloème (pour revue van Bel, 1990; Aubry *et al.*, 2019). Par ailleurs, il a été suggéré, chez *Arabidopsis thaliana*, que la répartition du carbone dans les différents organes était au moins partiellement liée à l'expression des transporteurs de sucres (Durand *et al.*, 2018). De façon intéressante, nous avons observé des modifications du rapport C/N des feuilles de la rosette et des puits axiaux (hampes florales latérales, fleurs et siliques) chez le double mutant *sweet11sweet12* par rapport au type sauvage (données non publiées).

Bien que ces résultats soient à confirmer, ils suggèrent que le transport facilité des sucres médiés par les transporteurs SWEET11 et SWEET12 serait impliqué dans le maintien de l'équilibre du rapport C/N.

De plus, les métabolismes carboné et azoté étant extrêmement liés (Raven *et al.*, 2004), il est logique d'intégrer la répartition des pools d'azote entre les différents organes dans cette partie du projet. Ainsi, dans un premier temps, des dosages de C et de N pourront être réalisés par analyse élémentaire organique en collaboration avec Anne Marmagne (équipe SATURNE, IJPB). Afin d'avoir une vision plus détaillée de la distribution des pools de C et d'N dans les différents organes, l'utilisation des isotopes stables ¹⁵N et ¹³C est également envisagée. L'application de l'isotope ¹⁵N chez *Arabidopsis* est largement maîtrisée dans l'équipe de Céline Masclaux-Daubresse (Masclaux-Daubresse and Chardon, 2011) avec qui nous collaborons. En ce qui concerne le marquage au ¹³C, j'envisage d'utiliser du ¹³CO₂ comme cela a été décrit précédemment (Figuroa *et al.*, 2016). L'analyse du double marquage sera réalisée par analyse élémentaire et/ou par résonance magnétique nucléaire (RMN) dans le cadre d'une collaboration à établir avec la plateforme Métabolisme-Métabolome (PMM) de l'IPS2. L'ensemble des résultats obtenus devrait permettre d'établir, chez le type sauvage, un modèle de la répartition des pools de carbone et d'azote entre les différents organes au cours du développement de la plante.

Par la suite, des mesures similaires pourront être réalisées sur les lignées dérégulées pour l'expression de gènes impliqués dans le transport à longue, moyenne et courte distance des sucres (ex : *SUC2*, *SWEET*).

Cette partie du projet s'appuiera très largement sur ma collaboration avec Fabien Chardon (IJPB, équipe SATURNE) qui s'intéresse à des questions similaires et qui maîtrise la technique de marquage au ^{15}N , l'analyse des données et la modélisation des flux. Finalement cette partie du projet sera également contrainte par l'obtention de crédits spécifiques pour assurer la culture des plantes en chambre climatique, l'achat des bouteilles de $^{13}\text{CO}_2$ et les analyses par RMN le cas échéant.

7.6. CONCLUSION

Chez les végétaux, la coordination du transport à longue, moyenne et courte distance des sucres au sein du système vasculaire est essentielle pour assurer un développement et une croissance adéquats. Pourtant, le transport à moyenne distance des sucres (transport latéral) au sein du système vasculaire a été relativement peu exploré. Les résultats obtenus, dans le cadre de ce projet, devraient nous permettre de mieux comprendre le cadre histologique et cytologique au sein duquel se déroule le transport latéral mais également de caractériser les acteurs moléculaires impliqués dans ce processus. L'intégration de ces données devrait également permettre d'avoir une meilleure compréhension, à l'échelle du système vasculaire, de la distribution du carbone entre les différents organes/tissus/cellules ce qui constitue une composante majeure du rendement et de la qualité chez les plantes.

Finalement, ce projet permettra de poser les bases permettant d'évaluer le rôle du transport latéral des sucres dans la réponse de la plante à des contraintes environnementales. En effet, le transport des sucres est considéré comme une cible principale afin d'améliorer la résistance des plantes à un environnement contraignant (Schroeder *et al.*, 2013).

8. BIBLIOGRAPHIE

- Abo-Hamed S, Collin HA, Hardwick K.** 1981. Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa (*Theobroma cacao*). VI. Hormonal interaction between matures leaves and the shoot apex. *New Phytologist* **89**, 191–200.
- Arend M, Fromm J.** 2003. Ultrastructural changes in cambial cell derivatives during xylem differentiation in poplar. *Plant Biology* **5**, 255–264.
- Aubry E.** 2019. Rôle des transporteurs SWEET dans le développement du système vasculaire d'*Arabidopsis thaliana*, la croissance et l'adaptation de la plante à son environnement. , 201p., PhD thesis, Paris Saclay University.
- Aubry E, Dinant S, Vilaine F, Bellini C, Le Hir R.** 2019. Lateral transport of organic and inorganic solutes. *Plants* **8**, 1–25.
- Baghdady A, Blervacq AS, Jouanin L, Grima-Pettenati J, Sivadon P, Hawkins S.** 2006. *Eucalyptus gunnii* CCR and CAD2 promoters are active in lignifying cells during primary and secondary xylem formation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry* **44**, 674–683.
- Bailey PC, Martin C, Toledo-Ortiz G, Quail PH, Huq E, Heim MA, Jakoby M, Werber M, Weisshaar B.** 2003. Update on the Basic Helix-Loop-Helix transcription factor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *the Plant Cell Online* **15**, 2497–2502.
- Baker RF, Leach KA, Braun DM.** 2012. SWEET as sugar: new sucrose effluxers in plants. *Molecular plant* **5**, 766–768.
- Barnola P, Alatou D, Lecointe A, Lavarenne S.** 1990. Etude biologique et biochimique du déterminisme de la croissance rythmique du chêne pédonculé (*Quercus robur*). Effets de l'ablation des feuilles. *Annual Science Forester* **21**, 619–631.
- Beauvoit BP, Colombié S, Monier A, et al.** 2014. Model-assisted analysis of sugar metabolism throughout tomato fruit development reveals enzyme and carrier properties in relation to vacuole expansion. *Plant Cell* **26**, 3224–3242.
- van Bel AJE.** 1990. Xylem-phloem exchange via the rays: The undervalued route of transport. *Journal of Experimental Botany* **41**, 631–644.
- Benitez-Alfonso Y, Faulkner C, Pendle A, Miyashima S, Helariutta Y, Maule A.** 2013. Symplastic ntercellular connectivity regulates lateral root patterning. *Developmental Cell* **26**, 136–147.
- Berthet S, Demont-Caulet N, Pollet B, et al.** 2011. Disruption of *LACCASE4* and *17* results in tissue-specific alterations to lignification of *Arabidopsis thaliana* stems. *Plant Cell* **23**, 1124–1137.
- Bird D, Beisson F, Brigham A, Shin J, Greer S, Jetter R, Kunst L, Wu XW, Yephremov A, Samuels L.** 2007. Characterization of Arabidopsis ABCG11/WBC11, an ATP binding cassette (ABC) transporter that is required for cuticular lipid secretion. *Plant Journal* **52**, 485–498.
- Botha CEJ, Aoki N, Scofield GN, Liu L, Furbank RT, White RG.** 2008. A xylem sap retrieval pathway in rice leaf blades: Evidence of a role for endocytosis? *Journal of Experimental Botany* **59**, 2945–2954.
- Boyes DC, Zayed AM, Ascenzi R, Mccaskill AJ, Hoffman NE, Davis KR, Görlach J.** 2001. Growth stage-based phenotypic analysis of Arabidopsis: A model for high throughput functional genomics in plants. *The Plant Cell* **13**, 1499–1510.
- Braun DM.** 2012. Sweet! The pathway is complete. *Science* **335**, 173–174.
- Brown DM, Zeef LAH, Ellis J, Goodacre R, Turner SR.** 2005. Identification of novel genes in Arabidopsis involved in secondary cell wall formation using expression profiling and reverse genetics. *The Plant Cell* **17**, 2281–2295.
- Carland FM, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Nelson T.** 2002. The identification of CVPI reveals a role for sterols in vascular patterning. *The Plant Cell* **14**, 2045–2058.
- Castelain M, Le Hir R, Bellini C.** 2012. The non-DNA-binding bHLH transcription factor PRE3/bHLH135/ATBS1/TMO7 is involved in the regulation of light signaling pathway in *Arabidopsis*. *Physiologia Plantarum* **145**, 450–460.
- Cayla T, Batailler B, Le Hir R, Revers F, Anstead JA, Thompson GA, Grandjean O, Dinant S.** 2015. Live imaging of companion cells and sieve elements in *Arabidopsis* leaves. *PLOS ONE* **10**, e0118122.
- Cayla T, Le Hir R, Dinant S.** 2019. Live-cell imaging of fluorescently-tagged phloem proteins with confocal microscopy. In: Johannes Liesche, ed. *Phloem: Methods and Protocols*. Springer, 95–108.
- Champagnat P, Barnola P, Lavarenne S.** 1986a. Quelques modalités de la croissance rythmique endogène. *Naturalia monspeliensia n° hors sé*, 279–302.
- Champagnat P, Payan E, Champagnat M, Barnola P, Lavarenne S, Bertholon C.** 1986b. La croissance rythmique de jeunes Chênes pédonculés cultivés en conditions contrôlées et uniformes. *Naturalia monspeliensia n° hors sé*, 303–337.
- Chardon F, Bedu M, Calenge F, et al.** 2013. Leaf fructose content is controlled by the vacuolar transporter SWEET17 in *Arabidopsis*. *Current Biology* **23**, 697–

702.

Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, et al. 2010. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature* **468**, 527–532.

Chen H-Y, Huh J-H, Yu Y-C, Ho L-H, Chen L-Q, Tholl D, Frommer WB, Guo W-J. 2015. The *Arabidopsis* vacuolar sugar transporter SWEET2 limits carbon sequestration from roots and restricts *Pythium* infection. *Plant Journal* **83**, 1046–1058.

Chen L-Q, Qu X-Q, Hou B-H, Sosso D, Osorio S, Fernie AR, Frommer WB. 2012. Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. *Science* **335**, 207–211.

Cosgrove DJ. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **6**, 850–861.

Crabbé JJ. 1993. La croissance rythmique des arbres, base de leur organisation temporelle. *Compte rendu du groupe d'étude de l'arbre*. Angers, 1–11.

Czaninski Y. 1987. Généralité et diversité des cellules associées aux éléments conducteurs (cellules de contact *sensus lato*). *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques* **134**, 19–26.

Davidson A, Keller F, Turgeon R. 2011. Phloem loading, plant growth form, and climate. *Protoplasma* **248**, 153–163.

Dinant S, Wolff N, De Marco F, Vilaine F, Gissot L, Aubry E, Sandt C, Bellini C, Le Hir R. 2019. Synchrotron FTIR and Raman spectroscopy provide unique spectral fingerprints for *Arabidopsis* floral stem vascular tissues. *Journal of Experimental Botany* **70**, 871–884.

Ding G, Lei GJ, Yamaji N, Yokosho K, Mitani-Ueno N, Huang S, Ma JF. 2019. Vascular cambium-localized AtSPDT mediates xylem-to-phloem transfer of phosphorus for its preferential distribution in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 1–13.

Durand M, Mainson D, Porcheron B, Maurousset L, Lemoine R, Pourtau N. 2018. Carbon source–sink relationship in *Arabidopsis thaliana*: the role of sucrose transporters. *Planta* **247**, 587–611.

Ehltng J, Mattheus N, Aeschliman DS, et al. 2005. Global transcript profiling of primary stems from *Arabidopsis thaliana* identifies candidate genes for missing links in lignin biosynthesis and transcriptional regulators of fiber differentiation. *Plant Journal* **42**, 618–640.

Eom JS, Chen L-Q, Sosso D, Julius BT, Lin IW, Qu X-Q, Braun DM, Frommer WB. 2015. SWEETs, transporters for intracellular and intercellular sugar translocation. *Current Opinion in Plant Biology* **25**, 53–62.

Figueroa CM, Feil R, Ishihara H, et al. 2016.

Trehalose 6-phosphate coordinates organic and amino acid metabolism with carbon availability. *Plant Journal* **85**, 410–423.

Fu Q, Cheng L, Guo Y, Turgeon R. 2011. Phloem loading strategies and water relations in trees and herbaceous plants. *Plant Physiology* **157**, 1518–1527.

Fu Y, Lim S, Urano D, Tunc-Ozdemir M, Phan NG, Elston TC, Jones AM. 2014. Reciprocal encoding of signal intensity and duration in a glucose-sensing circuit. *Cell* **156**, 1084–1095.

Furze ME, Trumbore S, Hartmann H. 2018. Detours on the phloem sugar highway: stem carbon storage and remobilization. *Current Opinion in Plant Biology* **43**, 89–95.

Graf GA, Yu LQ, Li WP, Gerard R, Tuma PL, Cohen JC, Hobbs HH. 2003. ABCG5 and ABCG8 are obligate heterodimers for protein trafficking and biliary cholesterol excretion. *Journal of Biological Chemistry* **278**, 48275–48282.

Granot D, Kelly G, Stein O, David-Schwartz R. 2014. Substantial roles of hexokinase and fructokinase in the effects of sugars on plant physiology and development. *Journal of Experimental Botany* **65**, 809–819.

Griffiths CA, Paul MJ, Foyer CH. 2016. Metabolite transport and associated sugar signalling systems underpinning source/sink interactions. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* **1857**, 1715–1725.

Hall H, Ellis B. 2013. Transcriptional programming during cell wall maturation in the expanding *Arabidopsis* stem. *BMC Plant Biology* **13**.

Haritatos E, Medville R, Turgeon R. 2000. Minor vein structure and sugar transport in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* **211**, 105–111.

Hedrich R, Sauer N, Neuhaus HE. 2015. Sugar transport across the plant vacuolar membrane: Nature and regulation of carrier proteins. *Current Opinion in Plant Biology*.

Hennion N, Durand M, Vriet C, Doidy J, Maurousset L, Lemoine R, Pourtau N. 2019. Sugars en route to the roots. Transport, metabolism and storage within plant roots and towards microorganisms of the rhizosphere. *Physiologia Plantarum* **165**, 44–57.

Herrmann S, Recht S, Boenn M, Feldhahn L, Angay O, Fleischmann F, Tarkka MT, Grams TEE, Buscot F. 2015. Endogenous rhythmic growth in oak trees is regulated by internal clocks rather than resource availability. *Journal of Experimental Botany* **66**, 7113–7127.

Le Hir R. 2005. Développement hétéroblastique et croissance rythmique chez le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.): Etude de l'implication du métabolisme glucidique et de régulateurs de croissance. , 197 p., PhD

thesis, Angers University.

Le Hir R, Bellini C. 2013. The Plant-Specific Dof Transcription Factors Family: New Players Involved in Vascular System Development and Functioning in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science* **4**.

Le Hir R, Beneteau J, Bellini C, Vilaine F, Dinant S. 2008. Gene expression profiling: keys for investigating phloem functions. *Trends in Plant Science* **13**, 273–280.

Le Hir R, Castelain M, Chakraborti D, Moritz T, Dinant S, Bellini C. 2017. AtbHLH68 transcription factor contributes to the regulation of ABA homeostasis and drought stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum* **160**, 312–327.

Le Hir R, Leduc N, Jeannette E, Viemont J-D, Pelleschi-Travier S. 2006. Variations in sucrose and ABA concentrations are concomitant with heteroblastic leaf shape changes in a rhythmically growing species (*Quercus robur*). *Tree Physiology* **26**, 229–238.

Le Hir R, Pelleschi-Travier S, Viemont J-D, Leduc N. 2005. Sucrose synthase expression pattern in the rhythmically growing shoot of common oak (*Quercus robur* L.). *Annals of Forest Science* **62**, 585–591.

Le Hir R, Spinner L, Klemens PAW, et al. 2015. Disruption of the Sugar Transporters AtSWEET11 and AtSWEET12 Affects Vascular Development and Freezing Tolerance in *Arabidopsis*. *Molecular Plant* **8**, 1687–1690.

Ho LC. 1988. Metabolism and Compartmentation of Imported Sugars in Sink Organs in Relation to Sink Strength. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **39**, 355–378.

Imlau A, Truernit E, Sauer N. 1999. Cell-to-cell and long-distance trafficking of the green fluorescent protein in the phloem and symplastic unloading of the protein into sink tissues. *Plant Cell* **11**, 309–322.

Imoto K, Yokoyama R, Nishitani K. 2005. Comprehensive approach to genes involved in cell wall modifications in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* **58**, 177–192.

Klemens PAW, Patzke K, Deitmer J, Spinner L, Le Hir R, Bellini C, Bedu M, Chardon F, Krapp A, Neuhaus HE. 2013. Overexpression of the vacuolar sugar carrier *AtSWEET16* modifies germination, growth, and stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **163**, 1338–1352.

Knoblauch M, Vendrell M, de Leau E, Paterlini A, Knox K, Ross-Elliot T, Reinders A, Brockman SA, Ward J, Oparka K. 2015. Multispectral phloem-mobile probes: Properties and applications. *Plant Physiology* **167**, 1211–1220.

Ko J-H, Han K-H. 2004. *Arabidopsis* whole-transcriptome profiling defines the features of

coordinated regulations that occur during secondary growth. *Plant Molecular Biology* **55**, 433–453.

Kobayashi A, Takanezawa Y, Hirata T, Shimizu Y, Misasa K, Kioka N, Arai H, Ueda K, Matsuo M. 2006. Efflux of sphingomyelin, cholesterol, and phosphatidylcholine by ABCG1. *Journal of Lipid Research* **47**, 1791–1802.

Lavarenne-Allary S. 1966. Croissance rythmique de quelques espèces de chêne cultivées en chambres climatisées. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Serie III, Sciences de la Vie* **262D**, 358–361.

Layzell DB, Larue TA. 1982. Modeling C and N transport to developing soybean fruits. *Plant Physiology* **70**, 1290–1298.

Luo B, Xue X-Y, Hu W-L, Wang L-J, Chen X-Y. 2007. An ABC transporter gene of *Arabidopsis thaliana*, AtWBC11, is involved in cuticle development and prevention of organ fusion. *Plant and Cell Physiology* **48**, 1790–1802.

Lüttge U. 2019. Bidirectional Lateral Transport Barriers in Serving Plant Organs and Integral Plant Functioning: Localized Lignification, Suberization, and Cutinization. *Progress in Botany*. Springer, Berlin, Heidelberg, 454–460.

Mahboubi A, Niittylä T. 2018. Sucrose transport and carbon fluxes during wood formation. *Physiologia Plantarum*.

Mahboubi A, Ratke C, Gorzsás A, Kumar M, Mellerowicz EJ, Niittylä T. 2013. Aspen SUCROSE TRANSPORTER3 allocates carbon into wood fibers. *Plant Physiology* **163**, 1729–1740.

De Marco F, Pagliari L, Degola F, Buxa S V., Loschi A, Dinant S, Hir R Le, Morin H, Santi S, Musetti R. 2016. Combined microscopy and molecular analyses show phloem occlusions and cell wall modifications in tomato leaves in response to '*Candidatus* Phytoplasma solani'. *Journal of Microscopy* **263**, 212–225.

Masclaux-Daubresse C, Chardon F. 2011. Exploring nitrogen remobilization for seed filling using natural variation in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* **62**, 2131–2142.

Mazur E, Kurczynska EU. 2012. Rays, intrusive growth, and storied cambium in the inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Protoplasma* **249**, 217–220.

Mazur E, Kurczyńska EU, Friml J. 2014. Cellular events during interfascicular cambium ontogenesis in inflorescence stems of *Arabidopsis*. *Protoplasma* **251**, 1125–1139.

McFarlane HE, Shin JJH, Bird DA, Samuels AL. 2010. *Arabidopsis* ABCG transporters, which are required for export of diverse cuticular lipids, dimerize

in different combinations. *Plant Cell* **22**, 3066–3075.

Minchin PEH, Thorpe MR. 1987. Measurement of unloading and reloading of photo-assimilate within the stem of bean. *Journal of Experimental Botany* **38**, 211–220.

Minic Z, Jamet E, San-Clemente H, Pelletier S, Renou JP, Rihouey C, Okinyo DP, Proux C, Lerouge P, Jouanin L. 2009. Transcriptomic analysis of arabidopsis developing stems: A close-up on cell wall genes. *BMC Plant Biology* **9**, 1–17.

Miyashima S, Roszak P, Seville I, et al. 2019. Mobile PEAR transcription factors integrate positional cues to prime cambial growth. *Nature* **565**, 490–494.

Moore B, Zhou L, Rolland F, Hall Q, Cheng WH, Liu YX, Hwang I, Jones T, Sheen J. 2003. Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science* **300**, 332–336.

Mustroph A, Zanetti ME, Jang CJH, Holtan HE, Repetti PP, Galbraith DW, Girke T, Bailey-Serres J. 2009. Profiling transcriptomes of discrete cell populations resolves altered cellular priorities during hypoxia in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**, 18843–18848.

Neville P. 1970. Morphogenèse chez *Gleditsia triacanthos* L. V. Influence des feuilles de divers âges sur le développement des feuilles sus-jacentes. *Revue générale de Botanique* **77**, 387–407.

Nozeran R, Blancilhon L, Neville P. 1971. Intervention of internal correlations in the morphogenesis of higher plants. *Advances in Morphogenesis* **9**, 1–66.

Nozeran R, Neville P. 1974. Morphogenèse des feuilles et des bourgeons résultante d'interactions multiples. *Rev. Cytol. Biol. Veg.* **37**, 217–242.

Ohmae Y, Hirose A, Sugita R, Tanoi K, Nakanishi TM. 2013. Carbon-14 labelled sucrose transportation in an *Arabidopsis thaliana* using an imaging plate and real time imaging system. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **296**, 413–416.

Panikashvili D, Savaldi-Goldstein S, Mandel T, Yifhar T, Franke RB, Hofer R, Schreiber L, Chory J, Aharoni A. 2007. The *Arabidopsis* *DESPERADO/AtWBC11* transporter is required for cutin and wax secretion. *Plant Physiology* **145**, 1345–1360.

Park J, Kim HK, Ryu J, Ahn S, Lee SJ, Hwang I. 2015. Functional water flow pathways and hydraulic regulation in the xylem network of *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology* **56**, 520–531.

Parmentier C. 1993. Etude physiologique et biochimique de la croissance rythmique endogène du chêne pédonculé. Recherche de son déterminisme.

Nancy.

Pate JS, Layzell DB, Atkins CA. 1980. Transport exchange of carbon, nitrogen and water in the context of whole plant growth and functioning. Case history of a nodulated annual legume. *Berichte der deutschen Botanischen Gesellschaft* **93**, 243–255.

Payan E. 1982. Contribution à l'étude de la croissance rythmique chez de jeunes Chênes pédonculés (*Quercus pedunculata* Ehrh.). Clermont-Ferrand.

Pighin JA, Zheng H, Balakshin LJ, Goodman IP, Western TL, Jetter R, Kunst L, Samuels AL. 2004. Plant cuticular lipid export requires an ABC transporter. *Science* **306**, 702–704.

Plavcova L, Jansen S. 2015. The role of xylem parenchyma in the storage and utilization of nonstructural carbohydrates. In: Hacke U, ed. *Functional and Ecological Xylem Anatomy*. Springer International Publishing Switzerland, 209–234.

Pullen M, Clark N, Zarinkamar F, Topping J, Lindsey K. 2010. Analysis of vascular development in the *hydra* sterol biosynthetic mutants of *Arabidopsis*. *PLoS One* **5**, e12227.

Raven JA, Handley LL, Andrews M. 2004. Global aspects of C/N interactions determining plant-environment interactions. *Journal of Experimental Botany* **55**, 11–25.

Schrader J, Nilsson J, Mellerowicz E, Berglund A, Nilsson P, Hertzberg M, Sandberg G. 2004. A high-resolution transcript profile across the wood-forming meristem of poplar identifies potential regulators of cambial stem cell identity. *The Plant Cell Online* **16**, 2278–2292.

Schroeder JI, Delhaize E, Frommer WB, et al. 2013. Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. *Nature* **497**, 60–66.

Schuetz M, Smith R, Ellis B. 2012. Xylem tissue specification, patterning, and differentiation mechanisms. *Journal of Experimental Botany* **64**, 11–31.

Sellami S, Le Hir R, Thorpe MR, Aubry E, Wolff N, Vilaine F, Brini F, Dinant S. 2019a. *Arabidopsis* natural accessions display adaptations in inflorescence growth and vascular anatomy to withstand high salinity during reproductive growth. *Plants* **8**, 2–17.

Sellami S, Le Hir R, Thorpe MR, Vilaine F, Wolff N, Brini F, Dinant S. 2019b. Salinity effects on sugar homeostasis and vascular anatomy in the stem of the *Arabidopsis thaliana* inflorescence. *International Journal of Molecular Sciences* **20**, 3167.

Shi D, Jouannet V, Agustí J, Kaul V, Levitsky V, Sanchez P, Mironova V V, Greb T. 2020. Tissue-specific transcriptome profiling of the *Arabidopsis*

thaliana inflorescence stem reveals local cellular signatures. bioRxiv, 2020.02.10.941492.

Sibout R, Plantegenet S, Hardtke CS. 2008. Flowering as a Condition for Xylem Expansion in *Arabidopsis* Hypocotyl and Root. *Current Biology* **18**, 458–463.

Smet W, Sevilem I, de Luis Balaguer MA, et al. 2019. DOF2.1 controls cytokinin-dependent vascular cell proliferation downstream of TMO5/LHW. *Current Biology* **29**, 520-529.e6.

Smith RA, Schuetz M, Karlen SD, Bird D, Tokunaga N, Sato Y, Mansfield SD, Ralph J, Samuels AL. 2017. Defining the diverse cell populations contributing to lignification in *Arabidopsis thaliana* stems. *Plant Physiology* **174**, 1028–1036.

Smith RA, Schuetz M, Roach M, Mansfield SD, Ellis B, Samuels L. 2013. Neighboring parenchyma cells contribute to *Arabidopsis* xylem lignification, while lignification of interfascicular fibers is cell autonomous. *The Plant Cell* **25**, 3988–3999.

Sonnwald U, Willmitzer L. 1992. Molecular Approaches to Sink-Source Interactions. *Plant Physiology* **99**, 1267–1270.

Spicer R. 2014. Symplasmic networks in secondary vascular tissues: Parenchyma distribution and activity supporting long-distance transport. *Journal of Experimental Botany* **65**, 1829–1848.

Srivastava AC, Ganesan S, Ismail IO, Ayre BG. 2008. Functional characterization of the *Arabidopsis* AtSUC2 sucrose/H⁺ symporter by tissue-specific complementation reveals an essential role in phloem loading but not in long-distance transport. *Plant Physiology* **148**, 200–211.

Stein O, Avin-Wittenberg T, Krahnert I, Zemach H, Bogol V, Daron O, Aloni R, Fernie AR, Granot D. 2017. *Arabidopsis* fructokinases are important for seed oil accumulation and vascular development. *Frontiers in Plant Science* **7**, 1–16.

Sugita R, Kobayashi NI, Hirose A, Saito T, Iwata R, Tanoi K, Nakanishi TM. 2016. Visualization of uptake of mineral elements and the dynamics of photosynthates in *Arabidopsis* by a newly developed Real-Time Radioisotope Imaging System (RRIS). *Plant and Cell Physiology* **57**, 743–753.

Thomas CL, Bayer EM, Ritzenthaler C, Fernandez-Calvino L, Maule AJ. 2008. Specific targeting of a plasmodesmal protein affecting cell-to-cell communication. *PLoS Biology* **6**, 0180–0190.

Thompson MV, Wolniak SM. 2008. A plasma membrane-anchored fluorescent protein fusion illuminates sieve element plasma membranes in *Arabidopsis* and tobacco. *Plant Physiology* **146**, 1599–1610.

Tixier A, Cochard H, Badel E, Dusotoit-Coucaud A, Jansen S, Herbette S. 2013. *Arabidopsis thaliana* as a model species for xylem hydraulics: does size matter? *Journal of Experimental Botany* **64**, 2295–2305.

Toledo-Ortiz G, Huq E, Quail PH. 2003. The *Arabidopsis* basic/helix-loop-helix transcription factor family. *The Plant Cell Online* **15**, 1749–1770.

Turner S, Sieburth LE. 2002. Vascular patterning. *The Arabidopsis Book*. 1–23.

Vanholme R, Storme V, Vanholme B, Sundin L, Christensen JH, Goeminne G, Halpin C, Rohde A, Morreel K, Boerjan W. 2012. A systems biology view of responses to lignin biosynthesis perturbations in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **24**, 3506–3529.

Verbančič J, Lunn JE, Stitt M, Persson S. 2018. Carbon supply and the regulation of cell wall synthesis. *Molecular Plant* **11**, 75–94.

Verrier PJ, Bird D, Burla B, et al. 2008. Plant ABC proteins - a unified nomenclature and updated inventory. *Trends in Plant Science* **13**, 151–159.

Wang N, Lan D, Chen W, Matsuura F, Tall AR. 2004. ATP-binding cassette transporters G1 and G4 mediate cellular cholesterol efflux to high-density lipoproteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**, 9774–9779.

Xuan YH, Hu YB, Chen L-Q, Sosso D, Ducat DC, Hou B-H, Frommer WB. 2013. Functional role of oligomerization for bacterial and plant SWEET sugar transporter family. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **110**, E3685–E3694.

Zhang B, Sztojka B, Escamez S, Vanholme R, Hedenström M, Wang I, Gorzsás A, Boerjan W, Tuominen H. 2019. PIRIN2 suppresses S-type lignin accumulation in a non-cell-autonomous manner in *Arabidopsis* xylem elements. *New Phytologist*.

Zhang C, Turgeon R. 2018. Mechanisms of phloem loading. *Current Opinion in Plant Biology* **43**, 71–75.