



HAL
open science

Contrainte hydrique et croissance racinaire

Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot

► **To cite this version:**

Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot. Contrainte hydrique et croissance racinaire. Sciences de l'environnement. Université de Lorraine (Nancy), 2014. tel-03140235

HAL Id: tel-03140235

<https://hal.inrae.fr/tel-03140235>

Submitted on 12 Feb 2021

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
DE LORRAINE



INRA
SCIENCE & IMPACT

Ecole Doctorale

Sciences et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits, Environnement



Habilitation à Diriger des Recherches

présentée par

Marie-Béatrice BOGEAT-TRIBOULOT

UMR Ecologie et Ecophysiologie Forestières

INRA Nancy-Lorraine

Contrainte hydrique et croissance racinaire



Soutenance prévue le 27 novembre 2014

Jury :

Pr Jean-Louis JULIEN	Pr, UMR PIAF, Université B. Pascal Clermont-Ferrand	rapporteur
Dr Thierry SIMONNEAU	DR, UMR LEPSE, INRA Montpellier	rapporteur
Dr Laurent LAPLAZE	CR, UMR DIADE, IRD Montpellier	rapporteur
Dr Catherine BASTIEN	DR, UAGPF, INRA Orléans	examineur
Dr Nathalie OLLAT	IR, UMR EGFV, INRA Bordeaux	examineur
Pr Yves JOLIVET	Pr, UMR EEF, Université de Lorraine	examineur

Photo première de couverture : <http://www.greenleafireland.com/>

Avant-propos

Je tiens tout d'abord à remercier les membres de ce jury d'avoir accepté d'examiner mon parcours scientifique.

Merci aussi à tous mes collègues d'EEF et à mes collègues d'ici et d'ailleurs avec qui j'ai échangé et/ou collaboré et qui ont ainsi participé à cette « trajectoire ».

Je voudrais remercier tout particulièrement les piliers de la Root Team : Irène, David, Nathalie, Cyril : votre soutien est immense, vous faites une équipe épatante. Merci aussi à tous les étudiants et post-doctorants qui ont contribué ou contribuent encore aux travaux scientifiques et ainsi au développement de l'équipe et de la thématique « Racines ».

Et merci à Eric, Antoine et Romain, ma formidable famille.

A mes Racines

Curriculum Vitae	1
Etat civil et parcours	1
Activités de formation et d'encadrement	3
Enseignement	3
Encadrements et co-encadrements	3
Activités de recherche et rayonnement scientifique	5
Participation à et coordination de projets de recherche	5
Collaborations scientifiques	6
Expertises scientifiques	6
Animation de la recherche et participation au collectif	7
Publications	8
Bilan des activités de recherche	13
Contexte et thèmes de recherche	13
1. Propriétés hydrauliques du système racinaire et du xylème	14
Aspects méthodologiques	14
Conductance hydraulique totale et contrôle stomatique	14
Réponse à l'environnement de la conductivité hydraulique racinaire	15
Sensibilité à la cavitation chez le peuplier	18
2. Biologie intégrative de la réponse à la sécheresse chez le peuplier	20
Populus trichocarpa x deltoides cv Beaupré et micro-réseau de 2541 uni-gènes	21
Populus euphratica et micro-réseau de 6430 uni-gènes	22
Deux Populus deltoides x nigra de tolérance contrastée et puce « génome entier » Affymetrix	24
Variabilité génétique de la plasticité moléculaire	27
Epigénétique	27
Méta-analyse de l'expression de la famille des aquaporines	27
Développement d'un robot d'irrigation contrôlée pour de jeunes arbres en pot	28
Développement d'une équipe de biologie intégrative écophysiologie-génomique fonctionnelle	29
3. Contrôle de la croissance de la racine sous déficit hydrique	31
Plasticité du développement racinaire en réponse au déficit hydrique	31
La croissance de la racine	32
Croissance et expression de gènes candidats en réponse à un stress osmotique	38
Stress osmotique et expression des aquaporines TIP1 dans l'apex de la racine	39
Régulation transcriptionnelle dans l'apex de la racine	41
Phénotypage de la cinématique de croissance dans l'apex racinaire	44
Projet de recherche	46
1. Contrôle de la croissance primaire de la racine sous contrainte hydrique	46
Sensibilité des processus division et élongation cellulaire et coordination	46
Interaction entre signalisation « croissance » et signalisation « déficit hydrique »	47
Régulation transcriptionnelle dans les cellules souches de l'apex	48
Prise en compte de l'impédance du sol, interaction impédance sécheresse	49
Le cas des phréatophytes	49
2. Importance du compartiment racinaire dans le fonctionnement de l'arbre sous contrainte hydrique	50
Importance du système racinaire dans la compétition inter-spécifique	50
Développer le phénotypage du compartiment racinaire	51
3. Biologie intégrative de la réponse à la sécheresse chez le peuplier	52
Références bibliographiques	53

Curriculum Vitae

Etat civil et parcours

Marie-Béatrice BOGEAT-TRIBOULOT

née le 03 mars 1968 à Rambervillers (88)

mariée, deux enfants

Adresse professionnelle :

UMR 1137 INRA-Université de Lorraine « Ecologie et Ecophysiologie Forestières »

Centre INRA de Nancy-Lorraine

54280 Champenoux

Tél : +33 (0)3 83 39 41 19

Email : triboulo@nancy.inra.fr

Etudes et diplômes

1996 : **Doctorat de Biologie Forestière**, Université Henri Poincaré – Nancy I. « Effets du stress osmotique et de la carence en potassium sur la croissance racinaire du pin maritime. Etude biomécanique du grandissement cellulaire ». Mention Très Honorable avec Félicitations du Jury.

1992 : **Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Forestière**, Université Henri Poincaré-Nancy I. « Rôle de l'acide abscissique dans la régulation stomatique de trois espèces forestières, *Quercus robur*, *Quercus pubescens* et *Fagus sylvatica*, en condition de sécheresse édaphique ». Mention B.

1991 : Maîtrise de Biologie des Organismes et des Populations, Université Claude Bernard - Lyon I. Mention B.

1990 : Licence de Biologie des Organismes et des Populations, Université Claude Bernard - Lyon I. Mention AB.

1989 : Admission à l'Ecole Normale Supérieure de Lyon.

1986 : Baccalauréat série C. Mention AB.

Formations complémentaires :

2013 : Séquençage de nouvelle génération

2012 : Initiation à la modélisation

2011 : Organisation du travail/Gestion du temps et des priorités

2010 : Initiation à R ; Gestion de projet

2009 : Analyses d'images avec Image J

2007 : Contrats liés à l'activité de recherche : les comprendre et les gérer

- 2005 : Ecole Thématique « Biologie Végétale Intégrative »
2004 : Ecole Thématique « Réponses des plantes aux facteurs abiotiques : perception, régulation et conséquences pour le développement »
1999, 2000 : Statistiques : modèle linéaire ; modèle linéaire généralisé

Parcours professionnel

- 2002** : **CR1** (temps partiel 80% de 2001 à 2007 inclus), INRA Nancy, Département EFPA, UMR Ecologie et Ecophysiologie Forestières, Equipe *Bioclimatologie et Ecophysiologie Forestières* puis équipe *Physiologie et Diversité de la Réponse aux Contraintes*.
- 1997** : **CR2** (Chargée de Recherche), INRA Nancy, Département de Recherches Forestières, Unité d'Ecophysiologie Forestière, équipe *Sol et Nutrition* puis équipe *Bioclimatologie et Ecophysiologie Forestières*.
- Janvier – février 1997** : Séjour post-doctoral au laboratoire d'Ecologie des Plantes du Pr E. Steudle, à l'Université de Bayreuth (Allemagne).
- Mars 1993 – mars 1994** : Première année de thèse au laboratoire du Pr D. Tomos, à l'University College of North Wales (Bangor, Pays de Galles).
- 1993** : **ASC** (Attachée Scientifique Contractuelle), INRA Nancy, Département de Recherches Forestières, Unité d'Ecophysiologie Forestière, équipe *Sol et Nutrition*.

Activités de formation et d'encadrement

Enseignement

Depuis 2010, je suis **responsable de l'UE931 « Ecophysiologie de la réponse à la sécheresse »** du Master FAGE 2 (UE46 avant 2013) et j'ai participé à la construction du Master FAGE édition 2013.

Depuis 2002, j'enseigne quelques heures chaque année dans le cadre du Master FAGE de l'Université de Lorraine (actuellement pour les UE931, UE935 & UE917) et avant dans le cadre du DEA de Biologie Forestière). Selon les années, j'ai dispensé certains des cours suivants :

- Relations hydriques dans les tissus en croissance
- Diversité du fonctionnement hydrique et hydraulique des arbres
- Fonctionnement hydrique des racines
- Impact du déficit hydrique sur la croissance
- Régulation de l'information génique dans un organe en croissance
- Hydraulics and cavitation in trees (en anglais, Master Erasmus Mondus, summer School MIXFOR 2014)
- Roots distribution and roots dynamics (en anglais)
- TD « utilisation de la transcriptomique pour étudier la réponse à la sécheresse »
- TP « fonctionnement hydraulique » (conductimètres HPFM et Xyl'em)
- TP « cinématique de la croissance dans l'apex racinaire »

J'ai également dispensé des formations ponctuelles à des techniciens et des ingénieurs forestiers (Fonctionnement hydrauliques des arbres : impact d'une sécheresse) et des professeurs de biologie (Relations hydriques dans les tissus en croissance).

Je participe très régulièrement aux jurys de soutenance de Master 1 et Master 2.

Encadrements et co-encadrements

J'ai régulièrement encadré ou co-encadré des étudiants de différents niveaux de formation : 2 BTS (D. Ferry, S. Lieger), 1 DUT (A. Visine), 1 cycle Préparatoire Polytechnique de Nancy (M. Dalençon), 8 Maitrise/Master 1 (S. Cozzi, A. Bogard, E. Général, P.J. Hatton, C. Gault, L. Serairi, A. Marchal, J. Groux), 7 DEA/Master 2 et 4 doctorants. Par ailleurs, j'ai supervisé 4 post-doctorants ou CDD.

DEA, Master 2

Martin R. 1998. Etude la conductivité hydraulique racinaire du pin maritime et du chêne pédonculé : aspects méthodologiques et importance écophysiologique. DEA de Biologie Forestière, Université Henri Poincaré – Nancy I. (*co-encadrement avec H. Cochard*)

Chatelet D. 1999. Variations saisonnières des résistances hydrauliques aérienne et racinaire chez le chêne (*Quercus robur L.*) et le hêtre (*Fagus sylvatica L.*). DEA de Biologie Forestière, Université Henri Poincaré – Nancy I.

- Pichot T. 2000.** Effets interactifs de l'enrichissement atmosphérique en CO₂ et d'une sécheresse modérée sur la croissance et les fonctionnements hydrique et trophique (carbone, azote) de jeunes plants de hêtre (*Fagus sylvatica* L.). DEA de Biologie Forestière, Université Henri Poincaré – Nancy I. (co-encadrement avec P. Maillard)
- Olié V. 2001.** Contribution à l'analyse de la réponse écophysiological et génomique du peuplier *Populus x interamericana* à une sécheresse édaphique. DEA de Biologie Forestière, Université Henri Poincaré - Nancy I. (co-encadrement avec A. Kohler)
- Hummel A. 2006.** Etude de la croissance racinaire en réponse à un stress osmotique : approche moléculaire à l'échelle de la zone de croissance. Master 2 FAGE, UHP-Nancy I.
- Depardieu C. 2009.** Caractérisation de la réponse de la croissance de la racine de peuplier au stress osmotique : analyse cinématique et étude des niveaux d'expression des aquaporines. Master 2 FAGE, Nancy-Université. (co-encadrement avec I. Hummel)
- Bizet F. 2011.** Etude de la variabilité génétique de l'expression de gènes d'intérêt pour la tolérance au déficit hydrique chez le peuplier. Master 2 FAGE, Nancy-Université. (co-encadrement avec I. Hummel)

Co-direction de doctorants

- Berthet C. 2001-2002.** Comparaison des capacités de croissance et des propriétés hydrauliques des racines de deux espèces de peuplier, *Populus euphratica* et *Populus alba* en réponse à une sécheresse édaphique. Aspects biophysiques, biochimiques et génomiques. (Abandon pour raisons personnelles)
- Merret R. 2007-2010.** Contrôle moléculaire de la croissance sous déficit hydrique : Analyse cinématique et régulation de l'expression des aquaporines TIP1 dans l'apex de la racine de peuplier, Thèse de doctorat, Nancy-Université. Directeur E. Dreyer, co-encadrement avec I. Hummel.
- Bizet F. 2011-2014.** Division et élongation cellulaire dans l'apex de la racine : diversité de réponse au déficit hydrique. Directeur André Granier, co-encadrement avec I. Hummel.
- Fruleux A. 2013-2016.** Impact du statut nutritionnel du sol et de la disponibilité en eau sur le développement racinaire d'espèces forestières en interactions : conséquences sur la croissance et le fonctionnement hydrique et carboné. Co-encadrement avec D. Bonal.

Supervision de post-doctorants et CDD

- Hukin D. (2005)** : diversité de la sensibilité à la cavitation chez le peuplier. Post-doctorant dans le cadre du projet européen Establish.
- Cohen D. (2007-2012)** : CDD IE 18 mois dans le cadre du projet ANR Popsec puis CDDs AI.
- Teixera R. (2013-2014)** : Orchestration de la croissance racinaire par les facteurs de transcription. Post-doc dans le cadre du projet Rootex (labex ARBRE), co-supervision avec V. Legué et I. Hummel.
- Royer M. (2013-2014)** : Croissance racinaire sous déficit hydrique : cinématique et contrôles moléculaires. Post-doc dans le cadre du projet européen Watbio, co-supervision avec I. Hummel.

Activités de recherche et rayonnement scientifique

Participation à et coordination de projets de recherche

Coordination de projets de recherche

Depuis, 1999, j'ai obtenu et coordonné **plusieurs petits projets** (Région Lorraine, projet incitatif de l'IFR 110) seule ou en co-coordination avec des collègues (cf ci-dessous). Plus récemment, j'ai monté et coordonné le projet ANR-Génoplande **Popsec** (2007-2010, budget total 415 k€), j'ai co-cordonné le projet Rootex (ANR Labex Arbre, budget 15 k€ + 1 an de post-doc) et je suis actuellement la responsable scientifique INRA du projet européen **Watbio** (FP7, 2012-2017, budget INRA 450 k€).

Programmes européens

- 1996-2000 : **Delta** : Genetic, molecular and physiological determinants of water-use efficiency and drought resistance in major forest trees (coordinateur JM. Guehl)
- 2001-2004 : **Establish** : Molecular ecophysiology as tool for the selection of highly stress resistant poplar species for multipurpose forests (coordinatrice A. Polle)
- 2008-2012 : **NovelTree** : Forest tree breeding in the 21st century (coordinatrice C. Bastien)
- 2011-2015 : **Tree4Future** : Designing Trees for the Future (coordinateur, L. Pâques)
- 2012-2017 : **Watbio** : Development of improved perennial non-food biomass and bioproduct crops for water stressed environments (coordinatrice G. Taylor)

Programmes nationaux

- 2007-2010 : **Popsec** : Bases moléculaires de l'acclimatation et l'adaptation au déficit hydrique chez le peuplier (ANR-Génoplande 2010, coordinatrice).

Projets Etat-Région Lorraine, IFR et Labex ARBRE

- 1999-2001 : Etude de l'impact des changements environnementaux sur la survie et la croissance de jeunes plants forestiers de hêtre (Région Lorraine, co-coordinatrice avec P. Maillard)
- 2005-2006 : Etude de la croissance racinaire en réponse à la sécheresse : approche par génomique fonctionnelle à l'échelle cellulaire (IFR110, coordinatrice)
- 2005-2008 : Etude de la croissance racinaire et du fonctionnement stomatique en réponse à la sécheresse : approche par génomique fonctionnelle à l'échelle cellulaire (Région Lorraine, coordinatrice)
- 2008-2010 : Aquaporines et contrôle de l'élongation cellulaire dans l'apex de la racine (Région Lorraine, coordinatrice)
- 2011-2012 : Importance de la répartition de l'auxine dans la régulation de la croissance racinaire du peuplier : approche cinématique et imagerie 3D (IFR110, co-coordinatrice avec V. Legué)
- 2013 : ROOTex : Root growth orchestration by transcription factors expression (Labex ARBRE, coordinatrice V. Legué)

2013-2015 : QL-SPiMs : Quantum Leap for Soil-Plant interaction Models (Labex ARBRE, coordinateur L. Saint-André)

2014-2016 : RootMix : Are positive diversity-production relationships mediated by root interactions ? A study with different forest mixtures (Labex ARBRE, coordinatrice C. Collet)

Collaborations scientifiques

Au cours de ces années, j'ai travaillé en collaboration avec différentes équipes :

- *nationales*

J.L. Durand & P. Martre, Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères, INRA Lusignan.

B. Moulia & H. Cochard, UMR PIAF, INRA Clermont-Ferrand, Université Blaise Pascal.

F. Martin, D. Tagu, J. Garbaye, A. Kohler & V. Legué, UMR IAM, INRA Nancy, Université de Lorraine.

C. Plomion, UMR Biogeco, INRA Pierroton.

F. Brignolas, D. Morabito et S. Maury, Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures, Université d'Orléans.

JC. Leplé & P. Label, Unité d'Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, INRA Orléans.

JP. Renou, Unité de Recherche en Génomique Végétale, INRA-CNRS-Université d'Evry.

A. Peaucelle, UFR Physique, Université Diderot Paris.

- *internationales*

D. Tomos & J. Pritchard, School of Biological Sciences, University College of North Wales, Bangor, Pays de Galles, GB.

E. Steudle, Laboratoire d'Ecologie des Plantes, Université de Bayreuth, Allemagne.

A. Polle & H. Wildagen, Université de Goettingen, Allemagne.

J. Kangasjarvi & M. Brosché, Department of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki, Finlande.

J. Renaut & JF. Hausman, Centre de Recherche Public Gabriel Lippmann, Belvaux, GD Luxembourg.

W. Silk, Université de Davis, Californie, USA.

P.E. Courty, Zürich-Basel Plant Science Center, Université de Basel, Suisse.

G. Taylor, Université de Southampton, GB.

G. Bengough & L. Dupuy, James Hutton institute, Dundee, GB.

Expertises scientifiques

Lecture critique d'articles pour revues à comité de lecture :

Annals of Forest Science (9), Journal of Experimental Botany (7), Plant Physiology (1), Tree Physiology (1), Trees (2), Functional Plant Biology (1), Planta (2), Plant Cell & Environment (2), Physiologia Plantarum (2), Molecular Genetics and Genomics (1), Molecular Ecology (1) Forest Ecology and Management (1), Tree Genetics and Genomics (1), Journal of Horticultural Sciences (1).

Evaluation de projets scientifiques pour le département EFPA, la région PACA et le FCT du Portugal (Fondation pour la Science et la Technologie).

Membre des jurys de thèse de :

Ludovic Martin. 2009. Étude des étapes précoces de la mécanoperception chez le peuplier : approche biomécanique et moléculaire. Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand.

Anthony Peccoux. 2011. Molecular and physiological characterization of grapevine rootstock adaptation to drought. Université de Bordeaux 2.

Mathieu Colombani. 2013. Mécanique du mouvement rapide de la plante carnivore dionée. Mesures élasto-hydrodynamiques à l'échelle de la cellule et du tissu. Conséquences pour le mécanisme de fermeture. Université d'Aix-Marseille.

Membre de comités de thèse de :

Ludovic Martin (2009). Etude des étapes précoces de la mécanoperception chez le peuplier : approches biomécanique et moléculaire. Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand.

Renaud Bastien (2010). Formes et mouvements gravitropiques des tiges végétales: Modèle universel et phénotypage. Université Paris Diderot.

Anthony Peccoux (2011). Molecular and Physiological characterisation of grapevine rootstock adaptation to drought. Université de Bordeaux 2.

Claire Depardieu (2013). Etude de la réponse de jeunes chênes sessiles et pédonculés à l'ennoyage : expression des aquaporines et leurs implications dans les transports d'eau racinaires. Université de Franche-Comté.

Animation de la recherche et participation au collectif

J'ai participé à l'animation et à la vie du groupe de travail « eau - croissance » avec JL. Durand (INRA Lusignan) (1998-2000) puis à celle du groupe « Xylème-eau- croissance ». J'ai en particulier organisé à Nancy la réunion annuelle du groupe en mai 2001 et en avril 2011.

J'ai fait partie du comité d'organisation du colloque international « Dynamics of Physiological Processes in Woody Roots » et du colloque « Biologie Moléculaire des Ligneux » qui ont eu lieu à Nancy en septembre 1999 et en mai 2008, respectivement.

Avec le Pr Steudle, de l'Université de Bayreuth, j'ai organisé une école d'été sur « les techniques de sonde à pression et les bases des relations hydriques » à Nancy en juillet 2009. Cette école a permis à 12 participants (français et étrangers, masters, doctorants et chercheurs) de se familiariser avec les concepts théoriques des transferts d'eau dans le végétal et, durant les sessions pratiques, de s'initier aux outils très particuliers que sont les sondes à pression.

J'ai initié et co-animé un groupe de travail, le 'Root Club', qui a réuni des membres de notre UMR et de l'UMR IAM qui étudient les racines, afin de mutualiser nos connaissances scientifiques et techniques respectives.

J'ai mené à bien le développement et l'achat de deux automates de phénotypage au sein notre UMR EEF (Pollux et Castor, budget total 250 k€)

Je suis membre du conseil de service de l'UMR EEF.

Je suis membre du conseil scientifique des utilisateurs de l'Unité Expérimentale Forestière de Lorraine.

Publications

Articles publiés dans des revues à comités de lecture

- A1 **Triboulot MB**, Pritchard J, Tomos AD. 1995. Stimulation and inhibition of pine root growth by osmotic stress. *New Phytologist*, 130: 169-175.
- A2 **Triboulot MB**, Fauveau ML, Breda N, Label P, Dreyer E. 1996. Stomatal conductance and xylem-sap abscissic acid (ABA) in adult oak trees (*Quercus robur* L.) during a gradually imposed drought. *Annales des Sciences Forestières*, 53: 207-220.
- A3 **Triboulot MB**, Pritchard J, Lévy G. 1997. Effects of potassium deficiency on cell water relations and elongation of tap and lateral roots of maritime pine seedlings. *The New Phytologist*, 135: 183-190.
- A4 **Bogeat-Triboulot MB**, Lévy G. 1998. Contribution of different solutes to the cell osmotic pressure in tap and lateral roots of maritime pine seedlings: effects of a potassium deficiency and of an all-macronutrient deficiency. *Annales des Sciences Forestières*, 55: 315-327.
- A5 Martre P, **Bogeat-Triboulot MB**, Durand JL. 1999. Direct measurement of a growth-induced water potential gradient in tall fescue leaves. *New Phytologist*, 142: 435-439.
- A6 Cochard H, Martin R, Gross P, **Bogeat-Triboulot MB**. 2000. Temperature effects on hydraulic conductance and water relations of *Quercus robur* L. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1255-1259.
- A7 **Bogeat-Triboulot MB**, Martin R, Chatelet D, Cochard H. 2002. Hydraulic conductance of root and shoot measured with the transient mode of the high-pressure flowmeter. *Annals of Forest Science*, 59: 389-396.
- A8 **Bogeat-Triboulot MB**, Bartoli F, Garbaye J, Marmeisse R, Tagu D. 2004. Fungal ectomycorrhizal community and drought affect root hydraulic properties and soil adherence to roots of *Pinus pinaster* seedlings. *Plant and Soil*, 267: 213-23.
- A9 Hukin D, Cochard H, Dreyer E, Le Thiec D, **Bogeat-Triboulot MB**. 2005. Cavitation vulnerability in roots and shoots: does *Populus euphratica* Oliv., a poplar from arid areas of Central Asia, differ from other poplar species? *Journal of Experimental Botany*, 56: 2003-2010.
- A10 Guignard C, Jouve L, **Bogeat-Triboulot MB**, Dreyer E, Hausman JF, Hoffmann L. 2005. Analysis of carbohydrates in plants by high-performance anion-exchange chromatography coupled with electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1085: 137-142.
- A11 Brosché M, Vinocur B, Alatalo ER, Lamminmaki A, Teichmann T, Ottow EA, Djilianov D, Afif D, **Bogeat-Triboulot MB**, Altman A, Polle A, Dreyer E, Rudd S, Lars P, Auvinen P, Kangasjärvi J. 2005. Gene expression and metabolite profiling of *Populus euphratica* growing in the Negev desert. *Genome Biology*, 6: R101.
- A12 Plomion C, Lalanne C, Claverol S, Meddour H, Kohler A, **Bogeat-Triboulot MB**, Barre A, Le Provost G, Dumazet H, Jacob D, Bastien C, Dreyer E, de Daruvar A, Guehl JM, Schmitter JM, Martin F, Bonneau M. 2006. Mapping the proteome of poplar and application to the discovery of drought-stress responsive proteins. *Proteomics*, 6: 6509-6527.
- A13 **Bogeat-Triboulot MB**, Brosche M, Renaut J, Jouve L, Le Thiec D, Fayyaz P, Vinocur B, Witters E, Laukens K, Teichmann T, Altman A, Hausman JF, Polle A, Kangasjarvi J, Dreyer E. 2007. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiology*, 143: 876-892.

- A14 Gourcilleau D, **Bogeat-Triboulot MB**, Le Thiec D, Lafon-Placette C, Delaunay A, El-Soud W A, Brignolas F, Maury S. 2010. DNA methylation and histone acetylation: genotypic variations in hybrid poplars, impact of water deficit and relationships with productivity. *Annals of Forest Science*, 67: 208.
- A15 Merret M, Moulia B, Hummel I, Cohen D, Dreyer E, **Bogeat-Triboulot MB**. 2010. Monitoring the regulation of gene expression in a growing organ using a fluid mechanics formalism. *BMC Biology*, 8: 18.
- A16 Cohen D, **Bogeat-Triboulot MB**, Tisserant E, Balzergue S, Martin-Magniette ML, Lelandais G, Ningre N, Renou JP, Tamby JP, Le Thiec D and Hummel I. 2010. Comparative transcriptomics of drought responses in *Populus*: a meta-analysis of genome-wide expression profiling in mature leaves and root apices across two genotypes. *BMC Genomics*, 11: 630.
- A17 Cohen D, **Bogeat-Triboulot MB**, Vialet-Chabrand S, Merret R, Courty PE, Moretti S, Bizet F, Guilliot A, Hummel I. 2013. Developmental and Environmental Regulation of Aquaporin Gene Expression across Populus Species: Divergence or Redundancy? *PLoS ONE* 8(2): e55506. doi:10.1371/journal.pone.0055506.
- A18 Silk WK, **Bogeat-Triboulot MB**. 2013. Deposition and biosynthesis rates in growing tissue: Implications for physiology, molecular biology, and response to environmental variation. *Marschner Review. Plant and Soil*, DOI 10.1007/s11104-013-1726-9.
- A19 Bizet F, **Bogeat-Triboulot MB**, Montpied P, Christophe A, Ningre N, Cohen D, Hummel I. 2014. Phenotypic plasticity towards water regime: response of leaf growth and underlying candidate genes in *Populus*. *Accepté à Physiology Plantarum*.
- A20 Bizet F, Hummel I, **Bogeat-Triboulot MB**. 2014. Length and activity of the root apical meristem revealed in vivo by infrared imaging. *Soumis à J Exp Bot*.
- A21 Lafon-Placette C, Le Gac AL, Delaunay A, Lesage-Descauses MC, Hummel I, Jesson B, Le Thiec D, **Bogeat-Triboulot MB**, Brignolas F, Maury S. 2014. Epigenomic and transcriptomic changes in shoot meristem mediate poplar developmental plasticity through phytohormone signaling control. *Soumis à Plant Cell*.

En préparation

- A22 Plomion C et al, 2014. Forest tree genomics: 10 achievements from the past 10 years and future prospects. *Revue en préparation pour Annals of Forest Science*.
- A23 Bizet F, Hummel I., Bengough G, **Bogeat-Triboulot MB**, Dupuy L. 2014. 3D monitoring of root growth and deformation reveals mechanical and biological responses to obstacles. *En préparation pour Journal of the Royal Society Interface*.

Articles publiés dans des revues sans comité de lecture

- A24 Dreyer E, **Bogeat-Triboulot MB**, Le Thiec D, Guehl JM, Brignolas F, Villar M., Bastien C, Martin F and Kohler A. 2004. Drought tolerance of poplars: Can we expect to improve it? *Biofutur*, 247: 54-58.

Communications orales dans les congrès

- C1 Chatelet D, **Bogeat-Triboulot MB**, Cochard H. Seasonal variations of the hydraulic conductance of the root system and of the shoot of oak and beech seedlings. *'Dynamics of Physiological Processes in Woody Roots'. Second International Symposium*. Nancy, septembre 1999.
- C2 **Bogeat-Triboulot MB**, Le Thiec D, Afif D, Shvaleva A, Dreyer E. Responses of *P. euphratica* to drought: 1. Water relations and growth. *Poplar symposium: Understanding poplar: from genes to functions*. Göttingen, mai 2004.

- C3 Le Thiec D, **Bogeat-Triboulot MB**, Afif D, Shvaleva A, Dreyer E. Responses of *P. euphratica* to drought: 2. Leaf gas exchange and embolism. *Poplar symposium: Understanding poplar: from genes to functions*. Göttingen, mai 2004.
- C4 Hukin D, Dreyer E, Cochard H, Le Thiec D and **Bogeat-Triboulot MB**. Vulnerability to cavitation of 3 clones of poplar. *Poplar symposium: Understanding poplar: from genes to functions*. Göttingen, mai 2004.
- C5 **Bogeat-Triboulot MB**, Le Thiec D, Hukin D, Cochard H and Dreyer E. Ecophysiological response of *Populus euphratica* to drought and recovery. *Colloque 'Impact of the drought and heat in 2003 on forests'*. Fribourg, novembre 2004.
- C6 Leplé JC, Label P, Lesage-Descauses M-C, Laurans F, Le Thiec D, **Bogeat-Triboulot MB**, Moreau A, Bourgait I, Desplat N, Déjardin A, Aubourg-Balergue S, Renou JP, Pilate G. Whole-genome transcriptomic analysis of xylem tissues for two poplar genotypes of contrasted tolerance to water deficit submitted to various drought conditions. *2nd Poplar symposium: Understanding poplar: from genes to functions*. Göttingen, mars 2009.
- C7 **Bogeat-Triboulot MB**, Cohen D, Le Thiec D, Balergue S, Martin-Magniette ML, Renou JP, Label P, Lesage-Descauses MC, Laurans F, Bourgait I, Déjardin A, Leplé JC, Morabito D, Bonhomme L, Brignolas F, Vincent D, Plomion C, Hummel I. Molecular bases of acclimation to water deficit in poplar. *3ème symposium franco-suédois UPRA*. Nancy, novembre 2009.
- C8 **Bogeat-Triboulot MB**, Cohen D, Le Thiec D, Balergue S, Martin-Magniette ML, Renou JP, Label P, Lesage-Descauses MC, Laurans F, Bourgait I, Déjardin A, Leplé JC, Morabito D, Bonhomme L, Brignolas F, Vincent D, Plomion C, Hummel I. Molecular bases of acclimation to water deficit in poplar. *Séminaire Génoplante*. Mallemort-en-Provence, mars 2010.
- C9 Lafon-Placette C, Gourcilleau D, Chamaillard S, Fichot R, **Bogeat-Triboulot MB**, Le Thiec D, Delaunay A, Villar M, Brignolas F and Maury S. Epigenetic, water deficit and productivity in poplars. *Fifth International Poplar Symposium (IPS V). Poplars and willows: from research models to multipurpose trees for a biobased society*. Orvieto, Septembre 2010.
- C10 **Bogeat-Triboulot MB**, Merret R, Moulia B, Dreyer E and Hummel I. Kinematic analysis and regulation of TIP1 aquaporins expression in the poplar growing root apex under water deficit. *6th International Symposium on Root Development*. Amos (Québec), août 2011.
- C11 Merret R, Hummel I, Moulia B, Cohen D and **Bogeat-Triboulot MB**. Aquaporin *TIP1s* expression and their regulation in the growing root apex of poplar under osmotic stress. *4^{ème} symposium franco-suédois UPRA*. Umeå, mars 2012.

Autres communications orales

- C12 **Bogeat-Triboulot MB**, Martin R, Chatelet D, Cochard H. Mesure de la conductance hydraulique des systèmes racinaires: comparaison de différentes méthodes. *Réunion du groupe « Architecture Hydraulique »*. Avignon, avril 2000.
- C13 **Bogeat-Triboulot MB**, Bartoli F, Tagu D. Effets interactifs de la mycorhization et de la sécheresse sur la conductance hydraulique racinaire du pin maritime. *Réunion des groupes « Architecture Hydraulique » et « Flux d'eau dans les organes en croissance »*. Lusignan, mars 2002.
- C14 Merret R, Moulia B, Hummel I, Dreyer E, **Bogeat-Triboulot MB**. Régulation transcriptionnelle des aquaporines dans la zone de croissance de la racine du peuplier. *Réunion du groupe « Xylème-Eau-Croissance »*. Clermont-Ferrand, novembre 2008.
- C15 Cohen D, Merret R, Hummel, Tisserant E, **Bogeat-Triboulot MB**. Régulation transcriptionnelle de la famille des aquaporines en réponse au déficit hydrique chez le peuplier. *Réunion du groupe « Xylème-Eau-Croissance »*. Talence, novembre 2009.
- C16 Merret R, Hummel I, Moulia B, Cohen D, **Bogeat-Triboulot MB**. Aquaporin *TIP1* expression and its regulation in the growing root apex under two levels of osmotic stress. *Réunion du groupe « Xylème-Eau-Croissance »*. Nancy, avril 2011.

- C17 Bizet F, Dupuy L, Hummel I, **Bogeat-Triboulot MB**, Bengough G. Root apex response to obstacle encountering: pushing forward. *JHI seminar*. Dundee, août 2014.
- C18 Bizet F, Dupuy L, Hummel I, **Bogeat-Triboulot MB**, Bengough G. Root apex response to obstacle encountering: pushing forward. *Journée des doctorants et post-doctorants du Labex ARBRE*. Nancy, septembre 2014.
- C19 Royer M, Cohen D, Bizet F, **Bogeat-Triboulot MB**, Hummel I. Molecular control of growth in division and elongation zones of poplar root apex. *Journée des doctorants et post-doctorants du Labex ARBRE*. Nancy, septembre 2014.

Posters dans les congrès

- P1 Fauveau ML, **Triboulot MB**, Breda N, Label P, Dreyer E. Abscissic acid in the xylem sap of adult oak trees submitted to drought: lack of correlation with stomatal closure. *Congrès IUFRO - Eurosilva - INRA*. Nancy, août-septembre 1994.
- P2 **Triboulot MB**, Pritchard J, Tomos AD. Water relations of root growth of *Pinus pinaster* at single cell level. *International Congress on Plant Biomechanics*. Montpellier, septembre 1994.
- P3 **Triboulot MB**, Pritchard J, Tomos AD. Biophysics of pinus root growth at 4 levels of osmotic stress. *Deuxième Colloque Général sur les Sciences Végétales*. Saint-Malo, octobre 1994.
- P4 **Triboulot MB**, Pritchard J, Lévy G. Potassium deficiency differentially affects growth of tap and lateral roots: involvement of cell wall mechanical properties. *14th Long Ashton International Symposium*. Bristol, septembre 1995.
- P5 **Bogeat-Triboulot MB**, Steudle E. Root hydraulic properties of pine measured with the pressure probe: effects of a potassium deficiency. *Colloque international IUFRO WPS 2.01.13. The supporting roots : structure and function*. Bordeaux, juillet 1998.
- P6 Maillard P, Pichot T, **Bogeat-Triboulot MB**, Willm F, and Guehl JM. Will elevated [CO₂] combined with a moderate drought alter water/carbon/nitrogen relations in young beech (*Fagus sylvatica* L.) trees? *4^{ème} colloque général de la Société Française de Physiologie Végétale*. Besançon, décembre 2000.
- P7 **Bogeat-Triboulot MB**, Brosché M, Le Thiec D, Hukin D, Polle A, Kangasjarvi J & Dreyer E. Physiological and transcriptional responses of *Populus euphratica* to an increasing drought and a recovery. *12th New phytologist Symposium. Functional genomics of environmental adaptation in Populus*. Gatlinburg (USA), octobre 2004.
- P8 Kohler A, Olie V, **Bogeat-Triboulot MB**, Delaruelle C, Dreyer E, Guehl JM & Martin F. Physiological and transcriptional responses of poplar to water deficit. *12th New Phytologist Symposium: Functional genomics of environmental adaptation in Populus*. Gatlinburg (USA), octobre 2004.
- P9 Renaut J, Witters E, Van Onckelen H, Dreyer E, **Bogeat-Triboulot MB** & Hausman JF. Proteomic analysis of response to drought in *Populus euphratica*. *12th New Phytologist Symposium: Functional genomics of environmental adaptation in Populus*. Gatlinburg (USA), octobre 2004.
- P10 **Bogeat-Triboulot MB**; Brosché, M. ; Renaut, J. ; Le Thiec, D. ; Polle, A. ; Hausmann, J.F. ; Kangasjarvi, J. ; Dreyer, E. Integrative approach of *Populus euphratica* to an increasing water deficit and a recovery. *Interdrought II, the 2nd International Conference on Integrated Approaches to Sustain and Improve Plant Production under Drought stress*. Rome, septembre 2005.
- P11 **Bogeat-Triboulot MB**, Cohen D, Le Thiec D, Vincent D, Plomion C, Laurens F, Label P, Déjardin A, Pilate G, Leplé JC, Morabito D, Bonhomme L, Brignolas F, Balzergue S, Renou JP, Dreyer E. Molecular bases of acclimation and adaptation to water deficit in poplar. *Séminaire Génoplante*. Arles, avril 2008.

- P12 Hummel A, Kohler A, Duplessis S, Merret R, Dreyer E, **Bogeat-Triboulot MB**. Croissance de la racine de peuplier en réponse au stress osmotique : approche moléculaire dans la zone de croissance. *X^{ème} Rencontres de Biologie Moléculaire des Ligneux*. Nancy, mai 2008.
- P13 Vincent D, Marco J, Chaumeil P, Bonneau M, Claverol S, Lomenech AM, Barre A, **Bogeat-Triboulot MB**, Plomion C. 2009. A Proteomic Study of Water Deficit-Responsive Proteins in Poplar Roots. *Plant and Animal Genome XVII Conference*. San Diego (USA), janvier 2009.
- P14 Cohen D, Hummel I, Balzergue S, Martin-Magniette ML, Tisserant E, Le Thiec D, Dreyer E, Renou JP, **Bogeat-Triboulot MB**. Molecular bases of acclimation to water deficit in poplar mature leaves. *Congrès 'Plant Abiotic Stress Tolerance'*. Vienne (Autriche), février 2009.
- P15 Merret R, Moulia B, Hummel I, Cohen D, Dreyer D, **Bogeat-Triboulot MB**. Monitoring the regulation of gene expression in a growing organ using a fluid mechanics formalism. *8^{ème} Colloque National de la SFBV*. Strasbourg, juillet 2009.
- P16 Maillard P, Pichot T, **Bogeat-Triboulot MB**, Gérant D and Bréda N. Interactive effects of atmospheric CO₂ enrichment and of a moderate drought on growth, water use efficiency and ¹⁵N uptake in beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings. *Managed forests in future landscapes: Implications for water and carbon cycles*. Santiago de Compostella, mai 2011.
- P17 Bizet F, **Bogeat-Triboulot MB**, Cohen D, Ningre N, Hummel I. Plasticity of gene expression in response to drought in poplar growing leaves. *4^{ème} symposium franco-suédois UPRA*. Umeå, mars 2012.
- P18 Bizet F, Hummel I, Granier A, **Bogeat-Triboulot MB**. Cell division and cell elongation in the growing root apex: diversity of drought-induced responses. *4^{ème} symposium franco-suédois UPRA*. Umeå, mars 2012.
- P19 Merret R, Hummel I, Moulia B, Cohen D, **Bogeat-Triboulot MB**. Kinematic analysis and regulation of TIP1 aquaporins expression in the growing root apex of poplar under osmotic stress. *7th Plant biomechanics Conference*. Clermont-Ferrand, août 2012.
- P20 Le Thiec D, Dreyer E, **Bogeat-Triboulot MB**, Hummel I, Buré C, Radnai F, Rasheed F. Water use efficiency and drought responses in *Populus nigra* assessment from an automated irrigation control device. *NOVELTREE Final Conference*. Helsinki, octobre 2012.
- P21 Bizet F, Hummel I, Peaucelle A, Vialet-Chabrand S, **Bogeat-Triboulot MB**. Spatio-temporal evolution of growth components in root apex in response to low water potential. *7th EPSO Conference: Plants for a Greening Economy*. Porto Helio, Septembre 2013.
- P22 Wildhagen H, Paul S, Janz D, **Bogeat-Triboulot MB**, Taylor G, Polle A. Effects of drought stress on growth and wood formation in *Populus*. *PRO-BIOPA Conference*, Freising, November 2013.

Autres posters

- P23 **Bogeat-Triboulot MB**, Pichot T, Maillard P. Effet de l'élévation de [CO₂]_{atm} et d'une sécheresse modérée sur les propriétés hydrauliques des racines de jeunes hêtres. *Réunion du Réseau d'Ecophysiologie de l'Arbre*. Autrans, janvier 2001.
- P24 Hukin D, Cochard H, Le Thiec D, Dreyer E and **Bogeat-Triboulot MB**. Cavitation vulnerability in 3 poplars: inter-specific differences and organ diversity. *Réunion du Réseau d'Ecophysiologie de l'Arbre*. La Rochelle, 2003.
- P25 Royer M, Bizet F, Hummel I and **Bogeat-Triboulot MB**. Time-lapse photography and kinematic analysis to characterize poplar root growth under water deficit. Ecole d'été « Bases en physique et en analyse d'images pour le phénotypage des plantes par imagerie ». Dijon, juillet 2014.

Bilan des activités de recherche

Contexte et thèmes de recherche

J'ai initié mon parcours scientifique à l'INRA de Nancy, au sein du Laboratoire de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie Forestière, par un DEA au cours duquel j'ai étudié le « rôle de l'acide abscissique dans la régulation stomatique de trois espèces forestières, *Quercus robur*, *Quercus pubescens* et *Fagus sylvatica*, en condition de sécheresse édaphique ». La réussite au concours d'ASC m'a amené à changer de thématique et ma thèse de doctorat a été consacrée à l'étude des « effets du stress osmotique et de la carence en potassium sur la croissance racinaire du pin maritime (*à travers une*) étude biomécanique du grandissement cellulaire ». Un des objectifs était de m'approprier les outils et compétences de mesures des paramètres hydriques cellulaires -la turgescence et la pression osmotique (avec la sonde à pression cellulaire et le picolitre-osmomètre, respectivement)- pour les développer ensuite au sein du Laboratoire. J'ai ainsi effectué ma première année de thèse au laboratoire du professeur Tomos à Bangor (Pays de Galles) et rempli cet objectif. A la suite de ma thèse, j'ai été recrutée au sein de l'équipe Sol et Nutrition de l'Unité de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie Forestière pour travailler sur la croissance racinaire. Ces outils, bien adaptés pour répondre à des questions physiologiques fondamentales sur un système modèle (radicule ou hypocotyl en élévation) me sont apparus inadaptés pour une caractérisation écophysiologique des espèces forestières ou comparer des provenances ou génotypes. Tout en essayant de continuer cette thématique du grandissement cellulaire au sein de la racine, j'ai orienté mon champ de recherche vers celui du fonctionnement hydraulique du système racinaire dont les bases théoriques sont communes. La question scientifique et les approches étaient cependant différentes et m'ont demandé un certain investissement. Quelques années plus tard, suite à l'essor des biotechnologies, en particulier sur des espèces ligneuses, l'UMR Ecologie et Ecophysiologie Forestières a souhaité développer des approches combinant écophysiologie et génomique fonctionnelle. En 2001, il m'a été confié le développement de ces approches intégratives, m'amenant à un deuxième virage thématique, plus lourd encore que le premier.

A posteriori, mon expérience me permet de dire que pour être « à l'interface », il faut plus qu'un minimum de connaissances du deuxième domaine. Sans affinité particulière pour la biologie moléculaire, je pense cependant avoir relevé le défi et réussi à développer cette approche intégrative au sein de notre Unité. Cette réorientation, qui a nécessité l'assimilation des concepts associés, a pris du temps et s'est construite au fil de projets d'envergure croissante. Axée dans un premier temps sur l'analyse de la réponse du peuplier à la sécheresse de façon globale, à l'échelle de la plante, en comparant les réponses dans les principaux organes, j'ai ré-investi cet acquis en matière d'approche interdisciplinaire dans la question du contrôle de la croissance de la racine en réponse au déficit hydrique. Ainsi, nous menons, à la fois et de façon complémentaire, des approches de type -omique de nature exploratoire, et des approches ciblées qui permettent de tester des hypothèses relatives à des processus pré-identifiés. Après une période où j'étais seule à développer ces approches dans l'UMR, le recrutement en décembre 2007 d'Irène Hummel (CR avec un profil « génomique fonctionnelle »)

et celui de David Cohen (AI biologie moléculaire en 2012, après 4 ans et demi de CDD) a donné naissance à un petit groupe dont les compétences sont complémentaires et synergiques.

J'ai choisi de présenter dans ce bilan les trois thèmes de recherche que j'ai conduits, chronologiquement.

1. Propriétés hydrauliques du système racinaire et du xylème

L'équipe Bioclimatologie et Ecophysiologie Forestière possédait une forte compétence concernant le fonctionnement hydrique et hydraulique de la plante entière et plus spécifiquement du xylème. Cette équipe analysait la réponse aux variations de l'environnement (sécheresse, teneur en CO₂ atmosphérique, température) à différentes échelles : de l'arbre entier (bilan hydrique, flux de sève, potentiel hydrique foliaire, conductivité hydraulique spécifique foliaire), de la feuille (conductance stomatique), du tissu (fonctionnement et dysfonctionnement du xylème), de la cellule (fonctionnement stomatique). Cependant, le compartiment racinaire était peu ou pas pris en compte. J'ai donc mis en place un axe de recherche sur les propriétés hydrauliques du système racinaire en réponse à l'environnement. Ces travaux ont été conduits au cours de la période 1997-2004.

Aspects méthodologiques

Mon premier souci a été de bien maîtriser les aspects méthodologiques étant donné la diversité des outils disponibles et des interactions possibles avec les conditions de leur utilisation. J'ai développé à Nancy des techniques spécifiques de mesure de conductance hydraulique des racines (k_r) : la chambre de pressurisation racinaire et, suite à un séjour au laboratoire du Pr Steudle (Bayreuth), la sonde à pression racinaire et ai ainsi élargi le champ des compétences du laboratoire. Dans le cadre du DEA de R. Martin, nous avons comparé les 3 méthodes pour mesurer k_r : le fluxmètre haute pression (HPFM), la sonde à pression racinaire et la pressurisation du système racinaire. Alors que pressurisation et HPFM donnaient des résultats similaires et cohérents (k_r était proportionnelle à la surface racinaire SR), la sonde à pression a donné des valeurs de 6 à 8 fois plus forte et k_r n'était pas significativement corrélée à SR (DEA de R. Martin). L'origine de cette incohérence n'a pas été identifiée. Un manque de résolution dans la lecture des courbes de relaxation de pression en est peut-être à l'origine. A la suite de ce travail méthodologique, les mesures k_r ont été conduites avec le HPFM.

Lors d'une étude de la variabilité saisonnière de k_r de jeunes plants de chêne et de hêtre (DEA de D. Chatelet), nous avons aussi montré que lorsqu'on mesure k_r sur des systèmes racinaires avec le HPFM, le mode « transitoire » est préférable bien qu'il ne fonctionne pas lorsque la conductance hydraulique est très faible. Le mode « dynamique » reste possible mais un risque de sous-estimation de k_r , due à un phénomène d'osmose inverse, subsiste (A7, C1).

Conductance hydraulique totale et contrôle stomatique

Dans le cadre des recherches sur le fonctionnement hydrique des arbres sous sécheresse, en collaboration avec H. Cochard, nous nous sommes intéressés à l'impact de la conductance hydraulique sur le contrôle stomatique. Alors que la fermeture des stomates en réponse à une

diminution du potentiel hydrique du sol (c'est-à-dire au niveau de sécheresse) était largement démontrée, une réponse directe des stomates aux variations de la conductance hydraulique de la plante (g_L) était soupçonnée mais non démontrée.

Nous avons mesuré, à l'aide du HPFM, la conductance hydraulique du système racinaire et de la partie aérienne de jeunes chênes sous différentes températures (de 0 à 50°C). Comme attendu, les conductances hydrauliques ont augmenté avec la température. Pour la gamme 15-35°C, ces variations étaient entièrement explicables par les variations de la viscosité de l'eau. Dans une seconde expérience, le système racinaire de jeunes plants parfaitement arrosés a été soumis à une gamme de température de façon à affecter k_r et nous avons mesuré en parallèle le taux de transpiration et le potentiel hydrique foliaire. Alors que le potentiel hydrique foliaire est resté quasi constant, la transpiration et donc g_L (estimé par le rapport entre la transpiration et le gradient de potentiel hydrique) augmentait proportionnellement avec la température du sol, validant ainsi l'hypothèse que les stomates peuvent se fermer en réponse à une diminution de g_L , sans variation du potentiel hydrique foliaire (DEA de R. Martin, A6).

Réponse à l'environnement de la conductivité hydraulique racinaire

Carence en potassium

En sus d'acquérir la maîtrise de la sonde à pression racinaire, j'ai profité de mon court séjour à Bayreuth pour analyser l'effet de la carence en potassium sur la conductivité hydraulique des racines ($Lp_r = k_r/SR$) de jeunes plants de pin maritime.

La pression racinaire développée par les plantules était faible par rapport aux pressions mesurées dans des espèces herbacées ou chez le chêne (0.03 MPa versus 0.1 à 0.4 MPa). Ces différences pourraient refléter la capacité du système racinaire à accumuler des solutés dans le xylème ou l'étanchéité de ce compartiment. La conductivité hydraulique racinaire dite « osmotique », c'est-à-dire où le flux d'eau est induit par une force osmotique, a été trouvée 40 fois plus faible que Lp_r « hydrostatique », c'est-à-dire où le flux d'eau est induit par une pression hydrostatique. Cette différence peut être expliquée par le modèle composite de circulation de l'eau radialement dans la racine. Selon Steudle (1994), l'eau circule parallèlement dans les voies apoplastique et « de cellule à cellule » et l'importance relative de chaque voie dépend de la force motrice du flux. Lorsque la plante transpire, la voie apoplastique, présentant une résistance moindre, est dominante. En absence de transpiration, l'endoderme constitue une barrière héli-perméable permettant la constitution d'un gradient osmotique entre l'intérieur de la stèle et le cortex, gradient qui soutient un flux d'eau du sol vers le xylème. La carence en potassium n'a pas modifié Lp_r , quel que soit le mode de mesure, ni le rapport entre les deux types de conductivité (P5). Similairement, la carence azotée n'avait pas modifié Lp_r chez le chêne (Steudle and Meshcheryakov, 1996) alors que les carences en azote ou en potassium avaient réduit Lp_r chez le blé (Carvajal *et al.*, 1996).

Diversité génétique chez pin maritime

Dans le cadre du projet européen Delta (1996-2000), j'ai étudié la variabilité génétique de la croissance et des propriétés hydrauliques du système racinaire chez le pin maritime. L'étude de la morphologie des racines de 9 provenances a montré qu'une biomasse racinaire plus importante était essentiellement due à un développement plus conséquent des racines fines (<1 mm). D'autre part, certaines provenances (Tabarka, Landes, Leiria) présentaient une densité

linéaire moyenne des racines nettement plus faible que d'autres (Porto Vecchio, Esterel), c'est à dire une surface développée plus grande pour une même biomasse investie.

Une étude plus approfondie de 4 provenances a confirmé que Landes et Tabarka présentaient un rapport 'surface racinaire/biomasse racinaire' supérieur à Tamjoute et Esterel. La conductance hydraulique racinaire ramenée à la surface racinaire ou la surface foliaire ne différait pas entre provenances. Par contre, la conductivité hydraulique spécifique foliaire de la partie aérienne et celle de la plante entière de la provenance marocaine Tamjoute étaient significativement inférieures à celles des trois autres provenances. D'autre part, son système racinaire ne représentait que 30% de la résistance hydraulique totale contre 60% environ pour les trois autres provenances. En revanche, aucune différence de vulnérabilité à l'embolie n'a été mise en évidence entre les provenances.

Sécheresse et CO₂

Dans le cadre d'un DEA co-dirigé avec P. Maillard, nous avons étudié les effets interactifs de la teneur en CO₂ atmosphérique et la sécheresse sur les fonctionnements hydrique et trophique de jeunes plants de hêtre (DEA de T. Pichot).

L'augmentation de [CO₂]_{atm} stimule l'assimilation nette de carbone et donc la croissance (au moins dans un premier temps), exigeant des propriétés hydrauliques qui s'adaptent à une demande transpiratoire grandissant avec la surface foliaire. Parallèlement, la conductance stomatique est diminuée, réduisant les pertes en eau au niveau foliaire mais limitant l'apport en éléments minéraux aux feuilles (qui dépend du flux transpiratoire). En particulier, même s'il a été observé une stimulation de l'absorption de l'azote par les racines sous fort [CO₂]_{atm}, elle n'est pas proportionnelle à l'entrée de carbone, aboutissant à une dilution de l'azote dans les tissus (Maillard *et al.*, 2001). Par ailleurs, la sécheresse réduit g_s , k_r l'assimilation nette et la croissance en affectant son allocation, augmentant le rapport biomasse racinaire / biomasse aérienne (R/S). Les fonctionnements hydrique et trophique sont intimement liés et les résultats concernant l'interaction [CO₂]_{atm} élevée-sécheresse étaient contrastés. Certains ont montré que [CO₂]_{atm} élevée compensait l'effet dépressif de la sécheresse sur la croissance (Tschaplinski *et al.*, 1995), d'autres que non (Guehl *et al.*, 1994). L'espèce, l'intensité et la durée de la sécheresse interagissent probablement de façon importante.

Dans le cadre de ce DEA, j'ai encadré la partie hydraulique. Nous avons mesuré la conductance hydraulique des différents compartiments en série (système racinaire, tige, feuilles), la conductivité hydraulique spécifique foliaire de la partie aérienne (conductance hydraulique / surface foliaire) et la conductivité hydraulique racinaire L_{p_r} . Chez ces jeunes hêtres, le doublement de la teneur en [CO₂]_{atm} a stimulé la croissance de 40% (en biomasse) en conditions hydriques favorables et de 16% sous sécheresse, mais n'a pas affecté le ratio R/S. La sécheresse a réduit la croissance et a augmenté R/S et le rapport des surfaces racinaire et foliaire (SR/SF) d'environ 20% sous les deux régimes de [CO₂]_{atm}. La sécheresse a significativement réduit la conductivité hydraulique des racines L_{p_r} (fig. 1). Bien qu'un maintien ou une augmentation de L_{p_r} contribuerait à maintenir le flux vers les feuilles et ainsi limiterait la chute du potentiel hydrique, cette réponse est classique (Huang and Nobel, 1993; Secchi *et al.*, 2007; Vandeleur *et al.*, 2009). La subérisation des racines et l'implication d'aquaporines sont avancées comme raisons potentielles de cette diminution de L_{p_r} et pourrait contribuer à la limitation des pertes d'eau des racines vers le sol lors de l'intensification de la sécheresse. La conductivité hydraulique racinaire normalisée par la surface foliaire (spécifique foliaire, k_r/SF) n'a pas été affectée par le doublement de la teneur en [CO₂]_{atm} (fig. 1), suggérant que l'équilibre

entre demande transpiratoire et potentiel d'absorption a été conservé lors de la stimulation de croissance par le fort $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. Sous sécheresse, la légère diminution de k_r/SF n'est pas significative, suggérant que l'allocation de la croissance en faveur des racines a compensé la diminution de L_p_r et tendu à conserver l'équilibre entre demande transpiratoire et potentiel d'absorption. Ces résultats ont été présentés dans différents colloques (P6, P16, P23).

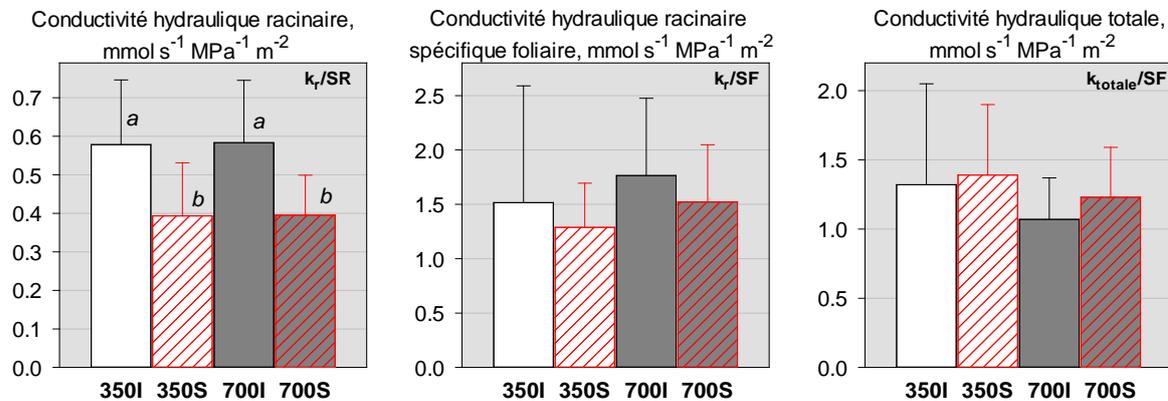


Figure 1 : Conductivité hydraulique racinaire, conductivité hydraulique racinaire spécifique foliaire et conductivité hydraulique totale de jeunes plants de hêtre élevés sous 350 ou 700 ppm CO_2 et soumis à une irrigation optimale (I) ou réduite (S) (moyenne \pm écart type, $n=8$ à 10).

Mycorhization

Il est connu que les plantes bénéficient de la mycorhization (ecto ou endo) via l'amélioration de leur nutrition minérale et/ou de leur statut hydrique (Nardini *et al.*, 2000; Auge *et al.*, 2001). Alors que l'amélioration du statut phosphoré et azoté est bien expliqué par l'acquisition et le transfert des nutriments du champignon à la racine (Smith and Read, 1997), les mécanismes par lesquels le champignon améliore le statut hydrique de l'arbre restent peu clairs.

En collaboration avec D. Tagu (UMR IAM), nous avons étudié l'importance de la nature du cortège ectomycorhizien sur la conductance hydraulique des racines du pin maritime en interaction avec la sécheresse édaphique (A8). Après inoculation de la moitié des plants par *Hebeloma cylindrosporum*, tous les plants ont pourtant été mycorhizés à 100%. Cependant, la proportion de mycorhizes d'*H. cylindrosporum* était nettement supérieure chez les plants inoculés (75%) que chez les plants non-inoculés (20%). La biomasse accumulée n'a pas été affectée par la différence de cortège mais le ratio R/S était plus faible de 40% chez les plants fortement mycorhizés par *H. cylindrosporum*. Nous avons montré que la mycorhization par ce champignon augmentait significativement la conductivité hydraulique racinaire (L_p_r ou k_r/RSA) en condition d'alimentation hydrique favorable par rapport aux champignons du cortège *Thelephora terrestris* et *Laccaria bicolor* (fig. 2A), permettant un investissement de la biomasse accumulée plus en faveur de la partie aérienne. Cet effet positif de *H. cylindrosporum* a été maintenu mais de façon moins marquée lorsque les plants étaient soumis à un dessèchement du sol.

De façon très intéressante, la conductivité hydraulique racinaire normalisée par la surface foliaire (spécifique foliaire, k_r/LSA) n'a pas été affectée par la nature du cortège ectomycorhizien (fig. 2B) : quel que soit le cortège, la capacité d'absorption racinaire était en équilibre avec la demande transpiratoire potentielle. Ceci suggère que le plus faible R/S des plants fortement mycorhizés par *H. cylindrosporum* est une conséquence d'une meilleure conductivité

hydraulique racinaire et non l'inverse. L'effet négatif de la sécheresse sur la conductivité hydraulique racinaire spécifique foliaire suggère que la réduction de L_p a été plus rapide que la capacité de la plante à augmenter le ratio surface absorbante sur surface transpirante.

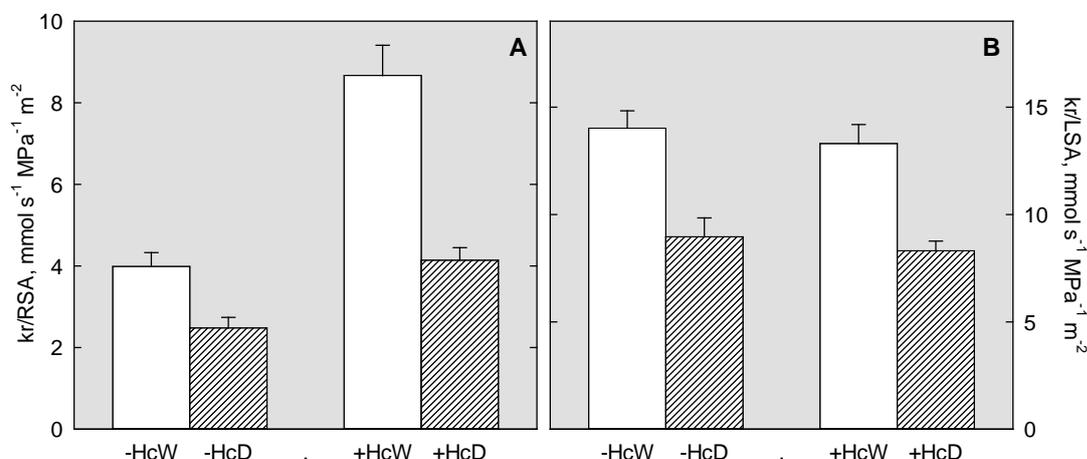


Figure 2 : (A) Conductivité hydraulique racinaire et (B) conductivité hydraulique racinaire spécifique foliaire (moyenne \pm e.s., n=9 or 10). -Hc : sol non inoculé, +Hc : sol inoculé par *H. cylindrosporum*, W : témoins arrosés, D : plants soumis au déficit hydrique.

Sensibilité à la cavitation chez le peuplier

Dans le projet européen Establish (cf. chap. 2.2), notre équipe était chargée d'analyser la réponse écophysiologique à la sécheresse de *Populus euphratica*, un peuplier poussant dans des zones arides d'Asie centrale et identifié comme résistant à la salinité et à la sécheresse. Dans ce cadre, j'ai encadré un chercheur post-doctorant, David Hukin, qui a caractérisé la vulnérabilité à la cavitation du xylème de *P. euphratica* en le comparant à deux autres espèces de peuplier, *P. alba* et *P. trichocarpa x koreana* cv Peace. Bien qu'il ait été montré que ce peuplier asiatique pouvait pousser en zone aride en accédant aux nappes profondes (phréatophyte) (Gries *et al.*, 2003), sa sensibilité au déficit hydrique n'était pas reconnue.

En collaboration avec H. Cochard, nous avons montré que le xylème de *P. euphratica* était le plus vulnérable des trois espèces de peuplier étudiées et de la plupart des espèces d'arbre (A9, C4, P24). Dans les tiges, le potentiel hydrique induisant 50% de cavitation (PLC50) était de -0.70, -1.41 and -1.53 MPa pour *P. euphratica*, *P. trichocarpa x korean* et *P. alba*, respectivement. Cette forte vulnérabilité a été confirmée par la mesure du taux d'embolie au cours d'une sécheresse croissante. Un taux significatif d'embolie a été enregistré dans les tiges avant la fermeture stomatique, indiquant l'absence de marge de sécurité chez cette espèce (A13). Nous avons ainsi montré que *P. euphratica* n'est pas intrinsèquement tolérant à la sécheresse et sa présence dans les déserts d'Asie Centrale repose sur sa capacité à accéder aux nappes profondes (Gries *et al.*, 2003).

Pour tester l'existence d'une éventuelle segmentation à travers la cavitation, nous avons mesuré la vulnérabilité des racines, des tiges et des nervures principales des feuilles. Après avoir validé une méthode de quantification de l'embolie par cryo-microscopie, nous avons mesuré la vulnérabilité à la cavitation dans les nervures principales de feuille et les petites racines (par cryo-microscopie) et dans les tiges et les grosses racines (avec le conductimètre Xyl'em). Nous avons mis en évidence une plus faible vulnérabilité à la cavitation du xylème des racines par rapport à celui des tiges et des nervures de feuilles (fig. 3). Chez la plupart des espèces étudiées

jusqu'alors, les racines étaient plus vulnérables que les parties aériennes (Sperry and Saliendra, 1994; Alder *et al.*, 1996; Kavanagh *et al.*, 1999). Un seul cas similaire avait été décrit précédemment, les racines de l'érable à sucre sont moins vulnérables que les parties aériennes (Tsuda and Tyree, 1997). Dans le cas de *P. euphratica*, le « pattern inversé » pourrait contribuer à une stratégie adaptative liée au mode de propagation de cette espèce, essentiellement par drageonnement. Ainsi après une période très sèche ayant entraîné le dépérissement des parties aériennes, une vague de drageonnement racinaire pourrait permettre la reconstitution du peuplement, comme cela a été observé in situ (Sharma *et al.*, 1999).

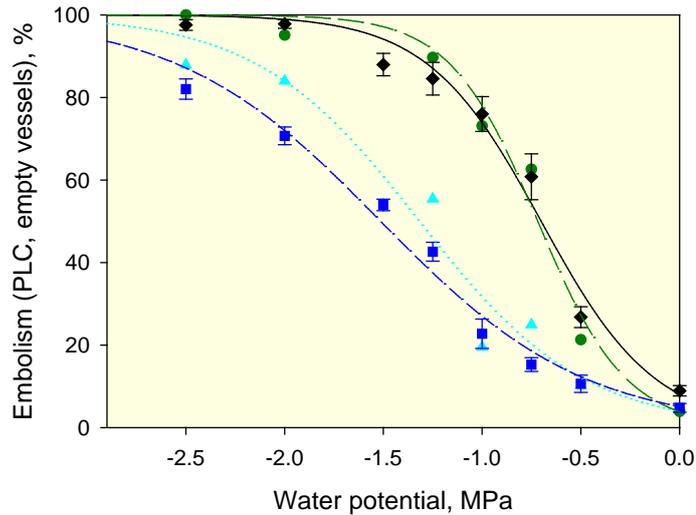


Figure 3 : Degré d'embolie en fonction du niveau de pression appliqué (potentiel hydrique) dans la tige (noir) et les racines principales (bleu) (PLC mesurée par LPFM) et dans les nervures de feuille (vert) et les racines latérales (cyan) (taux de vaisseaux embolisés par cryo-microscopie) chez *P. euphratica*. La cavitation a été induite en pressurant la partie aérienne entière et le système racinaire. Moyenne \pm e.s. (n=3 à 9).

2. Biologie intégrative de la réponse à la sécheresse chez le peuplier

Le déficit hydrique est une des contraintes limitant le plus la croissance et la productivité des écosystèmes, y compris forestiers (Aussenac, 2000). Parallèlement, la perspective de la fin des énergies fossiles génère un intérêt accru pour les bioénergies. Le peuplier, de par sa croissance rapide et son aptitude à la conduite en taillis à courte rotation, est un candidat sérieux pour la production de biomasse. Plutôt très sensible au déficit hydrique, il existe cependant une forte diversité au sein de ce genre. La pression qui s'exerce sur les terres arables repousse les cultures de biomasse sur des terres marginales, plus sujettes aux aléas hydriques, faisant émerger le besoin de sélectionner des peupliers moins sensibles au déficit hydrique. La lenteur de la biologie reproductive des arbres ne permettant pas l'amélioration par la sélection classique issue de croisements. L'amélioration de nos connaissances des bases moléculaires sous-jacentes à la tolérance à la sécheresse chez les ligneux est nécessaire pour, à terme, développer des outils de sélection d'espèces ou de génotypes mieux adaptés aux conditions hydriques défavorables.

A la suite des avancées extrêmement rapides des techniques de biologie moléculaire dans les années 1990-2000, l'ère post-génomique est arrivée, ouvrant la voie à des approches combinant écophysiologie et génomique fonctionnelle. Alors que les mécanismes moléculaires à la base des réponses au déficit hydrique étaient l'objet de pas mal de travaux sur les espèces annuelles dont l'espèce modèle *Arabidopsis* (Bray, 2002; Kreps *et al.*, 2002; Seki *et al.*, 2002), très peu de travaux de ce type ont été conduits sur les arbres (Dubos *et al.*, 2003). De plus, la plupart des études ont appliqué des contraintes fortes et abruptes et certaines se sont focalisées sur la perception et la transduction du signal (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006). Peu se sont intéressées à l'acclimatation à un stress modéré, processus essentiel quand il s'agit de maintenir la productivité. D'autre part, que ce soit sur les arbres ou les annuelles, la plupart des études moléculaires ont été conduites sur la feuille, ou même un broyat de partie aérienne. Or la tolérance à la sécheresse est la résultante de plusieurs processus physiologiques se produisant dans différents organes (Chaves *et al.*, 2003). De plus, bien que des processus de base soient probablement partagés par les annuelles et les pérennes ligneuses, la biologie particulière de ces dernières (croissance du bois, gestion des réserves, survie, ...) implique que les stratégies de réponse peuvent être différentes. Pour ses différentes « qualités » (intérêt économique, croissance rapide, aptitude à la propagation végétative et à la culture *in vitro*, à la transformation génétique, taille du génome,...), le peuplier s'est rapidement imposé comme modèle pour la génomique des arbres.

Dans ce contexte et dès 2001, j'ai développé des approches intégratives, combinant écophysiologie et génomique fonctionnelle, visant à analyser les bases moléculaires sous-jacentes aux réponses physiologiques induites par le déficit hydrique chez le peuplier. Notre objectif était d'inventorier les gènes régulés en réponse à différents états de déficit hydrique à partir de l'analyse des réponses des transcriptome et protéome, afin d'identifier des gènes d'intérêt pour l'acclimatation au déficit hydrique. La publication de la séquence génomique du peuplier (le premier arbre) en 2006 (Tuskan *et al.*, 2006) souligne combien les premiers projets auxquels j'ai participé peuvent être qualifiés de « pionniers ».

Il ne me semble pas superflu de rappeler les différents sens de « biologie intégrative » : elle peut être horizontale (intégration de grande quantité de données, typiquement les analyses - omiques), transversale (transposition de connaissances acquises sur une espèce particulière à un ensemble plus large d'espèce) ou verticale (passage d'un niveau d'organisation élémentaire à un niveau plus complexe) (Charrier *et al.*, 2005). Dans cette dernière acception de la biologie intégrative, il est fréquent d'associer plusieurs disciplines nécessaires à l'étude des différents niveaux d'organisation. Ainsi, nos approches multi-disciplinaires contribuent à la biologie intégrative (verticale).

Populus trichocarpa x deltoides cv Beaupré et micro-réseau de 2541 uni-gènes

Ma première approche de l'interface écophysiologie – génomique fonctionnelle a été la prise en charge de la partie écophysiologie et de l'analyse des résultats d'un DEA (DEA V. Olié) initié par JM. Guehl (UMR EEF) et F. Martin (UMR IAM). Cette expérience, menée sur du peuplier Beaupré en mini-rhizotron (fig. 4), avait pour objet de définir les variations des profils transcriptomique et protéomique de différents tissus (racine, feuille en croissance, feuille mature) à différents stades d'acclimatation à un déficit hydrique (c'est à dire après une période plus ou moins longue à un degré donné de déficit hydrique).



Figure 4 : Jeunes boutures de peuplier Beaupré poussant en serre, dans des mini-rhizotrons permettant le suivi de la croissance racinaire.

Les plants soumis à différents stades de contrainte et les témoins ont été caractérisés du point de vue écophysiologique : potentiel hydrique foliaire, échanges gazeux, teneur en eau relative et potentiel osmotique tissulaire, vitesse de croissance racinaire. Alors que le potentiel hydrique de base n'a été que très faiblement réduit, l'assimilation nette était réduite de 60% et la conductance stomatique à la vapeur d'eau de 97%. Parallèlement, la croissance des racines était stimulée (+65%) (fig. 5, A12).

Au niveau moléculaire, l'analyse du protéome a montré peu de différences entre les conditions « témoin » et « sec ». Cependant, elle a révélé une stimulation de la dégradation et du recyclage des protéines mais aussi de la synthèse des flavonoides dans les racines. Dans les feuilles en croissance, les variations d'expression des protéines ont suggéré une stimulation des voies enzymatiques et non-enzymatiques de détoxification et de différents mécanismes biochimiques associés à la croissance. Au niveau transcriptomique, une faible proportion des gènes étudiés ont été régulés (3.1 et 3.2% des 2541 uni-gènes sur le micro-réseau d'ADNc, dans les feuilles et les racines, respectivement). Parmi les résultats significatifs, nous avons noté une surexpression d'acteurs de détoxification, une régulation de l'expression tissu-spécifique des *métallothionéines* et une répression de l'expression de la plupart des *aquaporines* (à l'exception d'une *PIP2*). Pour la plupart des quelques protéines dont l'expression a été régulées par le stress et dont l'EST correspondante était sur le micro-réseau d'ADNc, la régulation transcriptomique

n'était pas significative alors que l'abondance de protéines était significativement modifiée. Ceci suggère l'importance des régulations post-transcriptionnelles et peut-être également une différence des turn-over des transcrits et des polypeptides. Les résultats de ce travail ont fait l'objet d'un poster (P8) et ont été publiés en collaboration avec C. Plomion (Biogeco), investi dans la partie protéomique (A12).

Table 3. Parameters describing the physiological state of the well-watered cuttings (W20 and W28) and droughted cuttings (D12 and D27) following 6 days of water shortage

	Well-watered cuttings		Droughted cuttings		(D-W)	D (%W)
	W20	W28	D12	D27		
Soil water content (%)	21.3	26.7	3.6	6.2	-19.1	/
Ψ_{pd} LPI 14 (Mpa)	-0.24	-0.28	-0.32	-0.32	-0.06	/
Ψ_{md} LPI 13 (Mpa)	-0.67	-0.47	-0.95	-0.6	-0.21	/
A LPI 3 ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	7.6	5.6	1.7	3.6	/	40
g_s LPI 3 ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	1.22	0.53	0.01	0.05	/	3
c_i LPI 3 ($\mu\text{mol}/\text{mol}$)	390	373	54	254	/	40
Root growth (cm/day)	0.5	0.27	0.64	0.62	/	165

(D-W) is the difference between the means of droughted plants and the mean of controls. D (%W) is the level of the physiological parameter of the droughted plants expressed as percent of well-irrigated controls. Ψ_{pd} and Ψ_{pdr} , predawn and mid-day leaf water potential; A, net CO_2 assimilation rate; g_s , stomatal conductance to water vapour; c_i , internal CO_2 concentration; LPI, leaf plastochron index (numbered from the top of the shoot).

Figure 5 : Réponses écophysiological des boutures de peuplier Beaupré après 6 jours de déficit hydrique stabilisé.

***Populus euphratica* et micro-réseau de 6430 uni-gènes**

J'ai conduit une deuxième expérience de ce type dans le cadre du projet européen Establish (2001-2004), où nous avons étudié les réponses physiologique, transcriptomique, protéomique et métabolomique à la sécheresse d'un peuplier dont l'aire de répartition en Asie Centrale inclut des zones semi-arides : *Populus euphratica* Oliv (fig. 6).

Cette expérience, que j'ai mise au point à partir de l'expérience précédente et de discussions avec les biologistes moléculaires du projet, différait de la première par l'espèce étudiée, par un dispositif expérimental amélioré mais aussi par l'analyse de l'effet de l'intensité de la sécheresse. Le design expérimental comportait un déficit hydrique augmentant progressivement pendant 4 semaines puis un ré-arrosage à capacité au champ pendant 10 jours. Nous avons géré l'expérience, la caractérisation écophysiological et la coordination avec tous les autres partenaires du projet pour les différents prélèvements. L'université d'Helsinki a fait les analyses du transcriptome, le CRPGL du Luxembourg les analyses du protéome, l'université de Göttingen a analysé l'anatomie du bois et une partie du métabolome (pigments, sucres solubles et composés oxydants) et l'université de Jérusalem a mesuré l'abondance de la protéine SP1 (stable protein 1, impliquée dans la tolérance à la dessiccation).



Figure 6 : Jeune plant de *P. euphratica* poussant dans un tube de Plexiglas transparent permettant le suivi de la croissance racinaire

La réponse écophysio­logique a été caracté­risée finement par un suivi régulier de nombreux paramètres (dont la croissance, les échanges gazeux foliaires, le statut hydrique, le taux d'embolie) sur un lot de plants séparés. Le déficit hydrique a induit successivement, une réduction de la croissance aérienne, de la conductance stomatique, de l'assimilation carbonée, du potentiel hydrique minimum et enfin du potentiel hydrique de base et de la croissance des racines (fig. 6, A13).

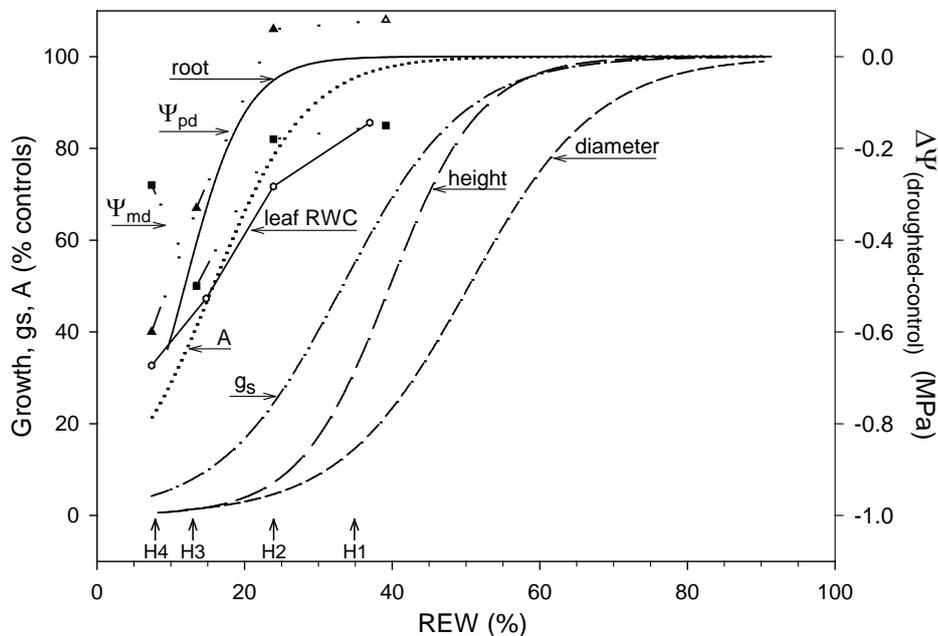


Figure 7 : Niveau des fonctions physiologiques chez de jeunes plants de *P. euphratica* soumis à une sécheresse croissante (relativement aux témoins) : croissance (diamètre et hauteur de tige, élongation des racines fines), l'assimilation nette de CO₂ (A), la conductance stomatique à la vapeur d'eau (g_s) en fonction du pourcentage de la réserve utile du sol (REW). Des courbes sigmoïdes ont été ajustées aux données ($y=100/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$) et les coefficients de régression r^2 étaient 0.90, 0.91, 0.38, 0.80 and 0.94, respectivement. Les potentiels hydriques de base (Ψ_{pd}) et minimum (Ψ_{md}) et la teneur en eau relative des feuilles sont exprimés en tant que différence entre "stressés" et "témoins" (échelle de droite). Les flèches indiquent le niveau de contrainte lors des 4 premières récoltes (H1 to H4).

Pour les analyses histologiques, biochimiques et moléculaires, des plants ont été récoltés à quatre intensités croissantes de déficit hydrique (H1 à H4, fig. 7) et après une ré-irrigation de 10 jours. Comme dans notre première expérience, une faible proportion de gènes a été régulée par la sécheresse (environ 1.5% des 6430 gènes présents sur le micro-réseau d'ADNc) et les variations d'abondance des transcrits ne correspondaient pas à celles des protéines respectives. D'autre part, les profils protéiques ont montré des modifications plus grandes que les niveaux de régulation transcriptomique. Cette étude a aussi confirmé que l'acclimatation au déficit hydrique passe par la régulation de réseaux de gènes qui diffèrent dans les racines et les feuilles. Un autre point fort de cette expérience fut la prise en compte de l'intensité du stress. Nous avons pu mettre en évidence une chronologie d'entrée « en action » (ou « en veille ») de gènes et de protéines et donc de processus physiologiques, en fonction de l'intensité de la contrainte hydrique (fig. 8). Par exemple, la répression de l'expression des aquaporines dans les racines est intervenue très tardivement alors que l'abondance des transcrits relatifs à plusieurs enzymes liées à la translocation des assimilats (asparagine synthetase, sucrose synthase) a augmenté très précocement. Suite au ré-arrosage, les modifications physiologiques, transcriptomiques et

protéomiques induites ont été quasi-totalement réversibles, indiquant que l'acclimatation a été plus importante que les dégâts physiologiques (fig. 7 et 8).

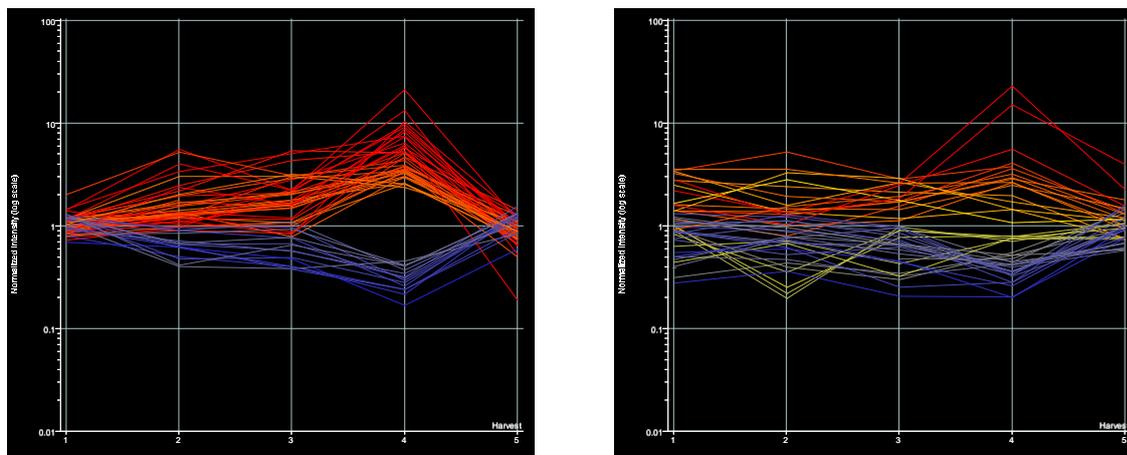


Figure 8 : Régulation transcriptionnelle dans les feuilles (gauche) et dans les racines (droite) de peuplier *P. euphratica* à 4 intensités de sécheresse et après ré-irrigation. L'axe des ordonnées (en échelle log) est le ratio entre plants stressés et témoins. Chaque ligne représente un gène (seuil de régulation >2).

Cette expérience a été une des premières à s'intéresser à la phase d'acclimatation au déficit hydrique et, en plus, sur une espèce ligneuse. J'ai pris en charge la publication des résultats en intégrant tous les types de données (transcriptomique, protéomique, métabolomique et physiologique) au sein d'une même analyse, permettant un début de vue d'ensemble des processus de réponse au déficit hydrique (A13). Les résultats ont par ailleurs été présentés dans différents colloques (P7, P9, P10, C2, C3, C5).

Alors que ce type d'approche fournit une grande quantité d'informations et une vue intégrative, j'ai pris conscience de certaines de ses limites. Le coût de la répétition en limite le nombre, augmentant la variabilité du signal. La dimension temporelle est un facteur très important : sous stress prolongé, le remodelage du transcriptome ne concerne plus que peu de gènes. Le nombre et la nature des gènes régulés varient probablement fortement temporellement. Enfin, pour accéder à une information moléculaire relative à un mécanisme d'intérêt (fonctionnement stomatique, croissance, etc ...), il apparaît nécessaire d'affiner l'échantillonnage (organe/tissu/type cellulaire) pour limiter la dilution tissulaire et accéder aux gènes impliqués dans un mécanisme précis.

Deux *Populus deltoides x nigra* de tolérance contrastée et puce « génome entier » Affymetrix

L'expérience acquise au cours du projet Establish m'a aidé à définir et à obtenir le financement du projet Popsec ("*Bases moléculaires de l'acclimatation et l'adaptation au déficit hydrique chez le peuplier*", ANR Génoplante, 2007-2010). J'ai ainsi coordonné ce projet rassemblant 5 équipes de recherche (UMR Biogeco, LBLGC Orléans, URGV Evry, UAGPF Orléans et UMR EEF). Comme les précédents, ce projet a mis en œuvre une approche intégrative, abordant simultanément les aspects physiologiques et les réponses transcriptomiques et protéomiques. Il en différait cependant par les points suivants :

- Les réponses transcriptomiques et protéomiques ont été déterminées dans cinq tissus ciblés, afin de rechercher des signatures moléculaires liées à des processus particuliers : la

croissance (apex de racine et xylème en croissance), le fonctionnement hydraulique (le xylème) le contrôle de la transpiration (stomates), la détoxification cellulaire, l'ajustement osmotique et le métabolisme sous déficit hydrique (feuilles matures).

- Le design de l'expérience a ciblé deux stades et deux intensités de contrainte : un stade précoce, 36h après l'arrêt de l'arrosage ; deux stades long terme (10 jours) conduisant à un déficit hydrique modéré ou moyen.

- La première phase de cette étude a été conduite sur du matériel clonal de deux hybrides de *Populus deltoides x nigra* de sensibilité au déficit hydrique contrastée, Carpaccio et Soligo, le moins et le plus sensible respectivement (Monclus *et al.*, 2006). Cette approche comparative avait pour but de mieux discriminer les gènes présentant un possible caractère adaptatif de ceux répondant passivement à la contrainte.

- Le transcriptome a été analysé à l'échelle du génome entier sur la puce Affymetrix, en collaboration avec l'URGV d'Evry (contre 6430 gènes sur la puce « Establish »).

- La pertinence des gènes identifiés a été testée dans une seconde expérience, où les variations de leur expression ont été mesurées par qPCR dans 6 autres génotypes en réponse à un déficit hydrique.

L'analyse des données écophysiologicals (croissance, assimilation nette de CO₂, conductance stomatique, WUE, potentiel hydrique foliaire, potentiel osmotique, ...) a mis en évidence des différences clonales intrinsèques bien plus fortes que les différences de réponse au déficit hydrique. Les niveaux de base de la transpiration et de la photosynthèse étaient plus élevés de 20% chez Soligo. Le potentiel hydrique foliaire de base en l'absence de contrainte était significativement moins négatif chez Carpaccio. Par contre, les modifications induites par les traitements hydriques ont été très semblables chez les deux clones, excepté l'ajustement osmotique qui était plus élevé chez Soligo. La différence de sensibilité entre les deux génotypes, établie au champ et à l'échelle d'une saison, se révèle donc être le fruit de l'intégration temporelle de différences ténues.

Le transcriptome a été analysé sur des micro-réseaux d'ADNc Affymetrix. Avant d'hybrider deux génotypes sur cette puce dessinée à partir des ESTs de 13 génotypes/espèces de peuplier, les sondes permettant une comparaison des génotypes de façon univoque ont été sélectionnées à l'aide d'une hybridation des ADN génomiques. Au sein de notre équipe, les jeux de données obtenus à partir des feuilles et des racines des deux clones ont été rassemblés pour être analysés conjointement. Nous avons trouvé que les profils transcriptomiques dépendent fortement du génotype, indiquant que la variabilité génétique doit être considérée. Nous avons identifiés des gènes marqueurs de stress (communs aux deux génotypes : orthologues de *RC12A*, *galactinol synthase*, *stachyose synthase*, *Athb12*, *Pyl4*, *PP2C*, ...) et des gènes d'intérêt pour l'acclimatation et la tolérance au déficit hydrique (préférentiellement exprimés dans le génotype plus tolérant à la sécheresse : *dead-box RNA helicase*, *polyphenoloxidase*, *SOD*, *NBS-LRR proteins*, *glutathione S-transferase*, ...) (fig. 9). Nous avons aussi mis en évidence l'intérêt d'étudier les tissus en croissance qui ont une forte réactivité moléculaire et les types cellulaires ciblés. Nos résultats suggèrent que la tolérance à la sécheresse serait liée à la capacité à répondre rapidement et spécifiquement au déficit hydrique, plutôt que de développer une réponse de stress lente et générique, et à une meilleure gestion du déficit énergétique induit par la sécheresse. Cette analyse comparative du remodelage du transcriptome des feuilles et des apex de racines a été présentée dans divers colloques (P11, P13, P14, C7, C8) et publiée (A16).

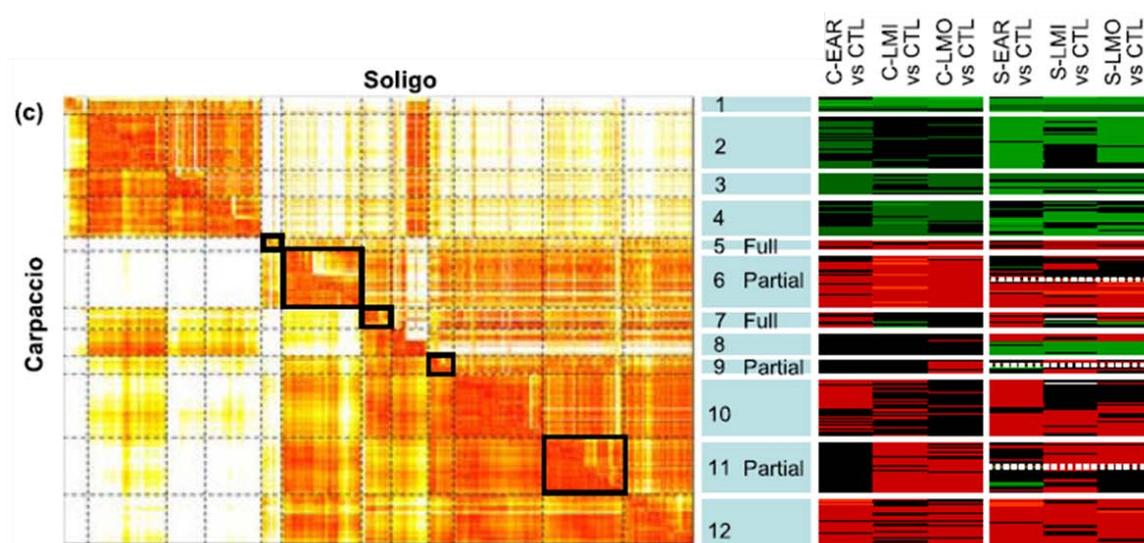


Figure 9 : Analyse différentielle de clustering des régulations transcriptionnelles dans les apex de racine des deux géotypes Carpaccio et Soligo (sur les 2410 probesets montrant au moins 2 régulations parmi les 6 comparaisons avec un niveau de régulation supérieur à 2). Les régulations sont globalement très congruentes chez les 2 géotypes et c'est le niveau de régulation qui diffère. Le cluster 8 regroupe les probesets dont le profil de régulation diffère fortement chez les 2 géotypes (issu de A16).

Ce projet était aussi pionnier à son échelle : la version 2.0 du génome, nettoyée des contaminations et avec une annotation fortement améliorée, n'est sortie qu'en 2010. Des challenges techniques ont été relevés (transcriptome de stomates microdisséqués, protéomes d'apex racinaires et de bois). L'analyse des données produites a permis l'identification de réseaux de gènes et des gènes d'intérêt dont la diversité d'expression a été ensuite explorée. Ce projet a mis en évidence la diversité génotypique des réponses moléculaires, également rapportée récemment par d'autres (Wilkins *et al.*, 2009; Hamanishi *et al.*, 2010).

Les difficultés inhérentes à la comparaison de géotypes avec la technologie « Affymetrix » soutiennent l'idée que le séquençage d'ARNs est une piste prometteuse pour explorer cette diversité et progresser dans la compréhension des mécanismes moléculaires à la base de l'acclimatation à la sécheresse. La prise en compte de nombreux tissus a aussi montré la diversité de la réponse au sein de la plante. En effet, la feuille mature est le tissu le plus souvent analysé mais ne semble pas être le plus pertinent. Sachant que la tolérance résulte d'une combinaison de processus se produisant dans différents organes, et dans la perspective de sélection de géotypes ou espèces « tolérants à la sécheresse », plus d'intérêt devra être porté sur la diversité tissulaire, et en particulier sur les tissus en croissance, importants en matière de maintien de productivité.

Parmi les perspectives ouvertes, le diagnostic moléculaire suggère plusieurs points clés dans les processus moléculaires impliqués dans l'acclimatation à la sécheresse. La rapidité et la spécificité de la cascade du signal semble indiquer une meilleure capacité à gérer la contrainte, comme cela l'a aussi été récemment suggéré (Hamanishi *et al.*, 2010). La sensibilité ou la capacité de gestion du déficit énergétique induit constitue également une piste sérieuse pour évaluer le potentiel de tolérance (Baena-Gonzalez, 2010). Enfin, dans le cas d'une sécheresse prolongée, le contrôle de l'emballement pourrait aussi jouer un rôle. Ces résultats acquis sur le peuplier sont autant de bases pour aborder la question de la tolérance à la sécheresse chez d'autres ligneuses dont les génomes sont plus complexes encore, séquencés, en cours ou en projet de séquençage comme la vigne, le châtaigner ou le chêne.

Variabilité génétique de la plasticité moléculaire

Afin de tester la robustesse des gènes d'intérêt identifiés, ce filtrage a été complété par une analyse de l'expression de certains par RT-qPCR sur une gamme élargie de génotypes. Ainsi, dans un deuxième volet du projet Popsec, nous avons soumis 8 génotypes de peuplier à un déficit hydrique puis 4 d'entre eux à une ré-irrigation. Dans le cadre du Master 2 de F. Bizet (co-encadré par I. Hummel et moi-même), nous avons étudié la réponse écophysiological, en particulier la croissance foliaire, et l'expression d'une sélection de gènes candidats dans des feuilles de différents stades de croissance (très jeune, vitesse de croissance maximale, mature). Nous avons focalisé l'étude sur des gènes impliqués dans la croissance et la réponse au déficit hydrique, en particulier : dans le contrôle de l'extensibilité pariétale (des *expansin IV*, des *xyloglucan endotransglycosylase/hydrolases*, une *pectin methylesterase*), dans le développement des stomates (*erecta*, *SDD1* et *TMM*) et dans le signal ABA (l'homeobox *HB7* et un récepteur ABA *PYL4*). Alors qu'à l'échelle de la plante entière cette courte sécheresse a généré une réponse similaire chez les 4 génotypes, la réponse au niveau de la série foliaire en croissance a été plus contrastée, en particulier suite à la ré-irrigation. L'utilisation d'un index de plasticité a permis de montrer que la plasticité de l'expression des gènes candidats était plus forte que celle à l'échelle macroscopique (de la croissance) et que le gradient de plasticité entre génotypes est similaire aux deux échelles d'analyse (Master 2 F. Bizet, P17, A19).

Epigénétique

De façon plus marginale, j'ai contribué à l'analyse de la diversité des modifications épigénétiques induites par le déficit hydrique chez le peuplier dans le cadre d'une collaboration avec le LBLGC de l'Université d'Orléans. Six génotypes de *Populus deltoides* × *P. nigra* ont été soumis ou non à un déficit hydrique modéré et leur productivité a été caractérisée par plusieurs variables de croissance. Les niveaux de méthylation de l'ADN, d'acétylation des histones, les activités enzymatiques et l'accumulation des isoformes correspondantes ont été mesurés sur des apex caulinaires, site de la morphogenèse. Une corrélation positive a été mise en évidence entre la méthylation de l'ADN dans les apex caulinaires (site de la morphogenèse) et la productivité en condition hydrique favorable. Bien qu'il y ait une diminution générale de la croissance de tous les génotypes en réponse à un déficit hydrique modéré, des variations génotype-dépendantes de la méthylation de l'ADN ont été trouvées, suggérant différentes stratégies selon les génotypes (C9, A14).

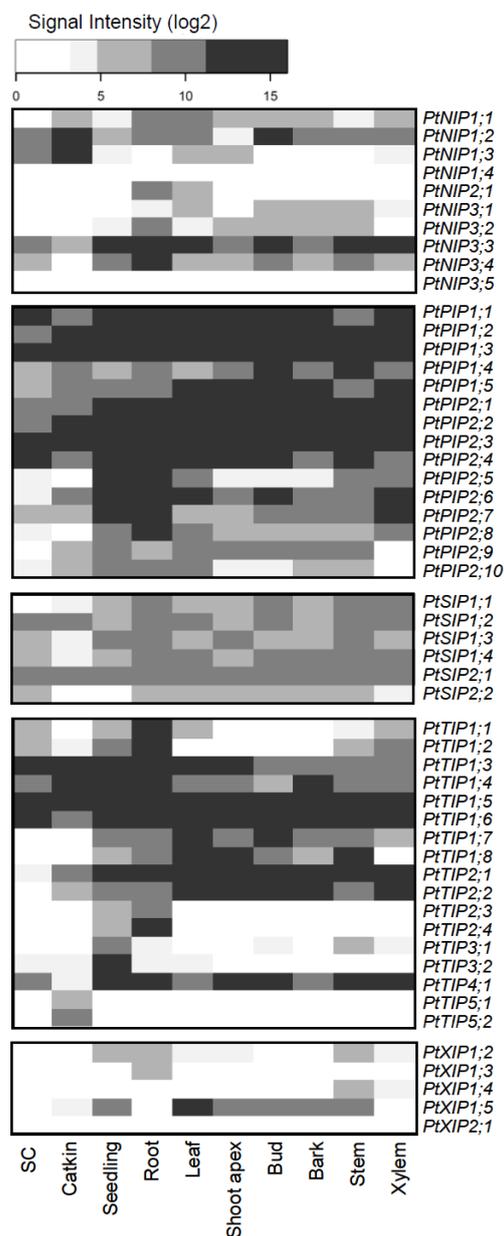
Méta-analyse de l'expression de la famille des aquaporines

Parallèlement à ces projets, et parce que mon centre d'intérêt en écophysiological a toujours été centré sur les relations hydriques et les propriétés hydrauliques, je me suis intéressée à la famille des aquaporines. Ces protéines intra-membranaires facilitent le transport passif de l'eau et de petites molécules non chargées à travers les membranes biologiques. Ubiquistes, leur découverte chez les plantes en 1993 a induit une re-visitation de tous les processus physiologiques où un transport d'eau est en jeu (Chrispeels and Maurel, 1994; Maurel *et al.*, 2008). D'un transport purement régi par des lois physiques, l'implication de protéines a introduit l'idée que le transport pouvait être régulé à l'échelle moléculaire.

Après l'étude de l'expression de quelques membres de la famille par qPCR (Master 2 d'A. Hummel, Master 2 de C. Depardieu, thèse R. Merret), nous avons mené un travail de recherche et d'annotation de cette famille multigénique dans la séquence génomique de l'espèce modèle, incluant un nettoyage *in silico* des séquences non-fonctionnelles, et une analyse de l'expression dans notre jeu de données Popsec. La publication de la première partie de ce travail par une autre équipe (Gupta and Sankaramakrishnan, 2009) nous a conduits à réorienter notre objectif vers une méta-analyse de l'expression de la famille à partir de toutes les puces à ADN Affymetrix disponibles (C15, A17). Nous avons ainsi identifié les domaines d'expression de 53 des 54 membres de la famille, aucune probeset de la puce ne ciblant *PtNIP1.5*. Nous avons identifiés des membres très ubiquistes (les *PIP1* par exemple), d'autres exprimés exclusivement ou beaucoup plus fortement dans certains organes (*PtNIP3.4*, *PtPIP2.8*, *PtTIP1.1*, *PtTIP1.2*, *PtTIP2.4* et *PtXIP1.3* dans les racines) et 3 membres jamais exprimés dans ce jeu de données (*PtNIP1.4*, *PtPIP3.5* et *PtXIP2.1*) (fig. 10).

Nous avons aussi analysé les réponses à l'environnement des membres de cette famille. Bien que le jeu de données concerne différents fonds génétiques et différents protocoles expérimentaux, cette analyse a permis de mettre en évidence quelques réponses robustes. Par exemple, l'ubiquiste *PtPIP1.3* n'est quasiment jamais régulé, *PtPIP1.2* et *PtPIP2.7* sont quasi systématiquement induits en réponse au déficit hydrique et *PtXIP1.2* est fortement induit dans les racines en réponse à la mycorhization. Enfin, en comparant l'expression des paralogues issus de duplication, nous avons montré que l'expansion de la famille a été accompagnée d'une forte divergence d'expression et de régulation de la plupart de ses membres.

Figure 10 : niveaux d'expression des aquaporines dans différents tissus chez le peuplier, établis à partir d'une méta-analyses de micro-réseaux Affymetrix. (issu de A17).



Développement d'un robot d'irrigation contrôlée pour de jeunes arbres en pot

Les différents projets de recherche présentés précédemment ont nécessité un contrôle fin du déficit hydrique appliqué, que nous avons effectué manuellement par pesée. Très consommateur de temps et de personnel, et face au développement de robots de phénotypage, nous nous sommes engagé dans un projet d'automatisation de l'arrosage compatible avec nos plans expérimentaux. Fruit d'un travail collectif, j'ai cependant très fortement contribué à la

mise en place en 2010 d'un robot contrôlant l'arrosage et la transpiration de 72 jeunes arbres : réflexion sur les besoins, interface avec les entreprises lors de la mise en place du projet, rédaction du cahier des charges, procédure d'achat et interface avec les entreprises lors des ajustements techniques après livraison (fig. 11). J'ai récemment aussi conduit la phase de négociation et la procédure d'achat d'un second robot, doublant ainsi notre capacité d'expérimentation (installé en février 2013 dans la chapelle voisine). Depuis, avec le concours précieux de C. Buré (AT, UMR EEF), nous gérons le fonctionnement et le développement technique de ces équipements (amélioration du programme de pilotage, du système d'alarme, gestion des pannes, etc ...).

Ces automates seront le support de prochaines expérimentations étudiant les effets de la sécheresse sur le fonctionnement des arbres, dont celles qui sont menées dans Watbio (cf. projet scientifique).



Figure 11 : Le robot « Pollux » permettant l'irrigation automatique et contrôlée et le phénotypage de la transpiration de 72 jeunes arbres en pot (10L) avec une fréquence élevée.

Développement d'une équipe de biologie intégrative écophysiologie-génomique fonctionnelle

En 2000, mon DU m'a demandé de prendre en charge l'interface entre la génomique fonctionnelle et l'écophysiologie. Assez rapidement, je me suis rendue compte que l'essor de ces approches dans notre Unité était freiné par l'absence de compétences internes dans le domaine de la génomique fonctionnelle, la difficulté de mobiliser des partenaires extérieurs compétents en biologie moléculaire sur un sujet (la sécheresse) et/ou une espèce (un ligneux, le peuplier) loin de leur centre d'intérêt scientifique. Plus de 10 ans après mes premiers pas dans cette thématique de recherche et, après de nombreux doutes et difficultés, la thématique est maintenant ancrée.

Au cours de ces années, j'ai travaillé au développement d'une mini-équipe et de la structure nécessaire à une semi-autonomie en biologie moléculaire. L'obtention de projets (Région Lorraine, ANR, Europe) a permis l'acquisition de l'équipement minimum, initialement installé au sein de la structure de l'UMR1136 IAM puis dans un laboratoire de biologie moléculaire propre à l'UMR du nouveau bâtiment LEGF. Le recrutement dans notre UMR d'Irène Hummel (CR, avec pour objet le développement de la génomique fonctionnelle) et celui de David Cohen (IE CDD

Popsec puis Feder et maintenant AI permanent) ont beaucoup contribué à ce développement. Ont aussi compté l'investissement de Nathalie Ningre (AT, UMR EEF), responsable qPCR et culture *in vitro*, celui de David Cohen, responsable du laboratoire de biologie moléculaire et investi dans les analyses bio-informatiques et celui de Cyril Buré, qui assure efficacement la mise en place et le suivi des expérimentations de sécheresse (en serre et au laboratoire). L'ensemble a conduit au développement d'une réelle dynamique au sein de notre UMR.

Notre autonomie technique et la dynamique scientifique de l'équipe permet d'avancer efficacement sur nos questions de recherche et constitue finalement une base solide pour le développement de nos collaborations avec des équipes internationales. Pas à l'origine intellectuelle mais à l'origine tout de même de cette histoire, je coordonne actuellement les activités de cette mini-équipe.

3. Contrôle de la croissance de la racine sous déficit hydrique

Plasticité du développement racinaire en réponse au déficit hydrique

Chez les plantes, la croissance s'ajuste aux conditions environnementales, conduisant à l'optimisation de l'efficacité d'utilisation des ressources (Walter *et al.*, 2009). Au début d'une sécheresse, la croissance des parties aériennes est limitée alors que celle des racines est maintenue tant que la contrainte reste modérée (Westgate and Boyer, 1985; Hsiao, 2000). Cette réponse « générique » contribue, en changeant le rapport entre surface absorbante et surface transpirante, à maintenir un équilibre hydrique favorable au niveau de la plante entière. La densité racinaire peut être augmentée par le maintien de la croissance des axes mais aussi par l'émission de latérales qui, selon Babé *et al.* (2012), est un des processus majeurs affectant le développement du système racinaire en réponse aux variations locales de l'environnement. Cette plasticité du développement racinaire en réponse à l'environnement rhizosphérique présente une certaine variabilité génétique. Le meilleur comportement de *Populus deltoides* x *P. nigra* par rapport à *P. trichocarpa* x *P. deltoides* en réponse à une sécheresse a été attribué à une plus forte augmentation de la densité racinaire rapportée au volume de tige (Tschaplinski *et al.*, 1998). Chez la vigne, il a été montré qu'un porte-greffe vigoureux présente une plus grande plasticité de développement racinaire en réponse à des variations latérales d'humidité du sol (émission de latérales dans la zone humide, diamètre des racines) qu'un porte greffe moins vigoureux (Bauerle *et al.*, 2008).

Les niveaux de potentiel hydrique affectant la croissance ont été étudiés chez diverses espèces en système « artificiel ». Chez la plantule de maïs, la croissance a été réduite dès -0.26 MPa (système mini-rhizotron-vermiculite) (Sharp *et al.*, 1988). Chez la plantule de soja, la croissance n'a pas été significativement affectée par -0.3 MPa (Creelman *et al.*, 1990). Chez la plantule de pin maritime et le peuplier cultivés en hydroponie et chez *Arabidopsis* en culture *in vitro*, un déficit hydrique modéré appliqué à l'aide de PEG (en solution ou pré-appliqué sur le gel d'agar) a induit une augmentation de la vitesse de croissance de la racine (-0.15 MPa, -0.20 MPa, -0.25 MPa, respectivement) (Triboulot *et al.*, 1995; van der Weele *et al.*, 2000; Merret, 2010). Lorsque l'intensité du déficit hydrique était plus forte, la vitesse de croissance a été diminuée par rapport aux témoins (-0.66 MPa, -0.63 MPa, -0.80 MPa, respectivement). D'autre part, l'émission et la croissance des racines latérales a répondu similairement à la vitesse de croissance des axes primaires chez *Arabidopsis* (van der Weele *et al.*, 2000). Ces seuils de potentiel affectant la croissance sont toutefois à considérer avec précaution car *in situ*, dans un sol qui se dessèche, l'augmentation de la résistance mécanique affecte probablement la croissance plus fortement que le déficit hydrique. Une résistance mécanique à la pénétration de 0.8 à 2 MPa réduit la vitesse d'élongation racinaire de moitié et cette impédance est atteinte pour beaucoup de sols alors que son potentiel hydrique (matriciel) est encore supérieur à -0.2 MPa, c'est-à-dire bien avant les -0.5 à -1 MPa qui réduisent l'élongation racinaire similairement (Bengough *et al.*, 2011).

Les patrons de la croissance, réalisés par des processus physiologiques, intègrent les interactions entre contrôles internes (gènes) et stimuli externes (de l'environnement). Cependant, le développement des parties aériennes est beaucoup moins réactif aux variations spatiales et temporelles de l'environnement que le développement du système racinaire

(résistance mécanique, humidité du sol, richesse minérale). Alors que la croissance des feuilles de dicotylédones montre des rythmes endogènes très marqués, parfois modifiés par des stimuli externes, la vitesse de croissance de l'axe racinaire dépend beaucoup plus fortement des fluctuations de son environnement (Walter *et al.*, 2009). En réponse au stress osmotique, cette forte réactivité de la vitesse de croissance des racines à l'environnement trouve quelques explications au niveau biophysique. L'ajustement osmotique et donc la récupération de turgescence se produit beaucoup plus rapidement dans les apex de racines que dans les feuilles. De plus, un ajustement important et favorable de l'extensibilité des parois dans ces apex contribue également à une récupération rapide de la vitesse croissance par rapport aux parties aériennes. Enfin, l'isolement hydraulique des zones de croissance (immaturité des vaisseaux conducteurs) permettrait aux apex racinaires de bénéficier de l'eau du sol nouvellement prospecté indépendamment du potentiel hydrique du reste du système racinaire et de la partie aérienne (Hsiao, 2000).

Cette plasticité implique aussi l'existence de réseaux de régulateurs moléculaires interconnectés permettant la perception et la transduction des signaux environnementaux, leur intégration et la coordination des réponses à l'échelle de la plante. Les mécanismes cellulaires et moléculaires à la base de cette plasticité développementale sont quasi inconnus (Den Herder *et al.*, 2010).

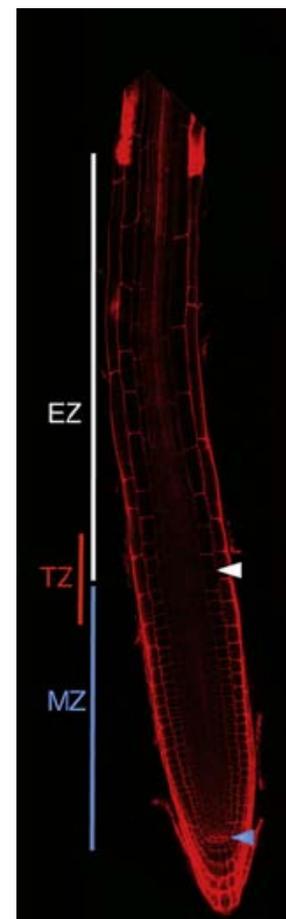
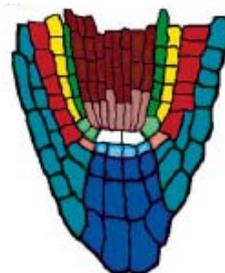
La croissance de la racine

Anatomie de l'apex

Qualitativement, la nature de la croissance en longueur de la racine a été comprise avec les expériences de marquage de von Sachs en 1873 (Sachs, 1873). En déposant une série de marques sur la racine, il a pu mettre en évidence une zone en expansion rapide, ce qui a conduit ultérieurement à la définition des zones de division cellulaire, d'expansion cellulaire et de maturation (ou différenciation) le long de l'apex (fig. 12). Dans la zone de transition (entre zone de division et zone d'élongation), les cellules, en plus de présenter une architecture particulière, auraient également des propriétés physiologiques et métaboliques particulières et, en particulier, une très forte sensibilité aux stimuli externes et internes (Ishikawa and Evans, 1995; Baluska *et al.*, 2010).

Figure 12 : Coupe longitudinale d'un apex d'*Arabidopsis* en microscopie confocale. Les zones de division (MZ), transition (TZ) et élongation (EZ) sont indiquées (Tsukagoshi *et al.*, 2010).

Figure 13 : Schéma de la zone apicale du méristème racinaire d'*Arabidopsis* illustrant les files de cellules des différents tissus de la racine issues des initiales entourant le centre quiescent (blanc) : épiderme (orange), cortex (jaune), endoderme (vert), stèle (rouge), coiffe latérale (turquoise) et collumelle (bleu) (Nawy *et al.*, 2005).



Le méristème primaire de la racine, responsable de l'allongement, est simple par rapport au méristème apical de la tige, au sens où il produit seulement l'apex de la racine, sans organogenèse additionnelle (les racines latérales sont initiées au-delà de la zone d'élongation). Au cœur de ce méristème apical de la racine, le centre quiescent est un centre organisationnel, qui peut également, suite à un stress, restaurer la population de cellules souches qui l'entourent (fig. 13). Ces cellules souches, en se divisant, produisent des lignées de cellules qui se divisent pendant leur phase méristématique puis quittent cet état prolifératif pour entrer en élongation rapide puis en maturation une fois l'expansion terminée. L'élongation cellulaire, incluant une vacuolisation, peut être considérée comme une première phase de différenciation.

Il est important de noter que selon la communauté scientifique, le terme « méristème apical » prend des significations différentes. Ce peut être le centre quiescent + les cellules souches (pour ceux travaillant sur l'organogenèse de la racine) ou le centre quiescent + les cellules souches + toute la zone méristématique (pour les biophysiciens).

Dynamique cellulaire au sein de l'apex

Les descriptions anatomiques de l'apex ou des propriétés des différentes zones à un temps donné ont le travers de virtuellement « figer » la structure et négliger la nature dynamique de cet organe (par exemple le transcriptome des types cellulaires le long de l'apex, Birnbaum *et al.*, 2003). Alors que la structure de l'apex racinaire est stable dans le temps, il y a un renouvellement permanent du matériau : les cellules fluent continuellement du méristème vers la zone de maturation (Silk, 1992). L'apex de la racine est donc un système dynamique dans lequel les cellules traversent de profonds changements morphologiques et physiologiques (Erickson and Sax, 1956). Comme on le verra plus loin, il est indispensable de garder à l'esprit ce flux de cellules pour faire une analyse non biaisée des propriétés cellulaires dans une zone de croissance. Alors qu'un observateur non averti « voit » l'apex de la racine avancer dans le substrat (où le référentiel est stationnaire, fixé au substrat), ces propriétés, stabilité de la structure et dynamique des éléments, ont amené les scientifiques s'intéressant à la croissance racinaire à utiliser un référentiel mobile, attaché à l'apex de la racine (plus précisément au centre quiescent), pour décrire de façon aisée les processus et les flux au sein de cette structure constante (Erickson, 1976; Silk and Erickson, 1979; Walter *et al.*, 2009).

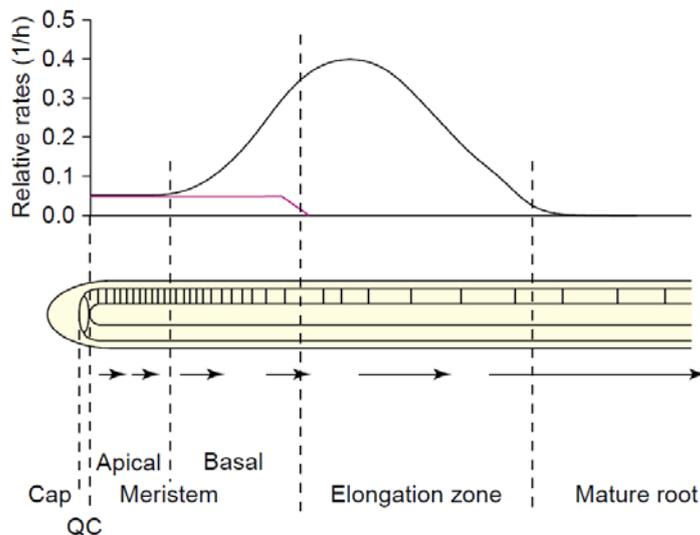


Figure 14 : Taux relatif des processus de croissance (division en rouge et élongation en noir) le long de l'apex (graphe supérieur) et schéma de la structure zonale le long de l'apex racinaire.

Dans la zone basale du méristème, l'élongation cellulaire démarre, augmentant la longueur des cellules. La zone de transition correspond à cette zone chevauchante. (d'après Beemster *et al.*, 2003).

Le long de l'apex, la croissance peut être quantitativement décrite par le **taux local de croissance relative ou taux de croissance élémentaire** (dont les acronymes courants sont REGR, pour relative elemental growth rate ou EER, pour elemental elongation rate) (fig. 14). REGR est par nature le gradient de vitesse en cette position (Richards and Kavanagh, 1943; Erickson and Sax, 1956).

L'analyse cinématique¹ de l'apex en croissance donne accès au champ de vitesse de déplacement (ou vitesse), et, si l'on accepte l'approximation raisonnable que la racine grandit essentiellement dans une dimension, la dérivée du profil de vitesse le long de l'apex donne le profil de REGR (fig X, Silk, 1992). La vitesse de croissance de la racine est donc l'intégrale du profil de REGR.

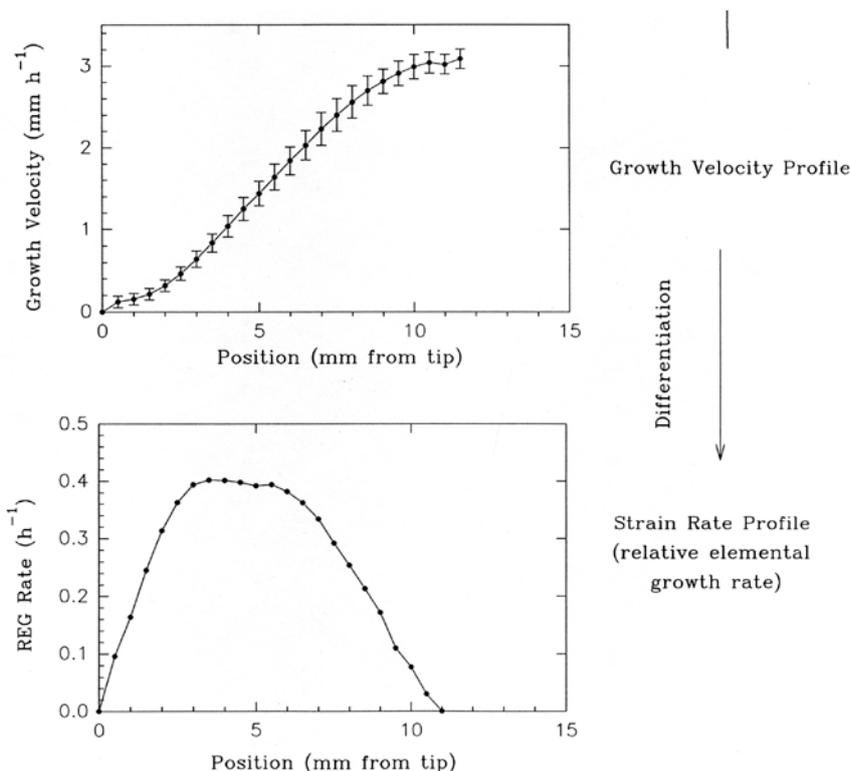


Figure 15 : Profil longitudinal de vitesse (en haut) et du taux local de croissance relative (en bas) le long de l'apex racinaire de maïs (Silk, 1992).

Au sein du méristème, au cours du cycle cellulaire, la cellule double de volume avant de se diviser (la taille des cellules méristématiques varie du simple au double). Cette expansion liée au cycle cellulaire est perçue par l'analyse cinématique et intégrée dans REGR. Le profil de REGR décrit ainsi la somme de l'expansion cellulaire relative au processus de division (croissance cytosolique) et de l'expansion cellulaire relative à l'auxèse, sans en différencier l'origine. Dans cette perception de la croissance, discutable comme nous le verrons plus tard, le processus de division cellulaire subdivise un continuum en extension, quelque soit l'origine de l'expansion. Pourtant, la croissance cytosolique et l'auxèse par vacuolisation sont bien différentes et ne sont pas régulées par les mêmes mécanismes moléculaires (Baskin *et al.*, 1995).

Le déséquilibre entre les proportions relatives de chacune des expansions a conduit à sous-estimer l'importance du taux de division dans le contrôle de la croissance. La recherche des mécanismes de contrôle biophysique de la croissance en général, de la racine en particulier, s'est ainsi focalisée sur les aspects biophysiques du grandissement cellulaire (auxèse), processus

¹ Cinématique : étude quantitative des déplacements et des déformations, sans référence aux forces qui les induisent.

« majoritaire » du REGR, et l'impact de différentes contraintes environnementales sur la croissance racinaire a été analysé à travers les variations des profils de REGR et des paramètres liés à l'expansion cellulaire (e.g., Pritchard *et al.*, 1987; Sharp *et al.*, 1988; Bengough *et al.*, 1997).

Contrôles biophysiques et moléculaires du grandissement cellulaire

Selon le modèle de Lockhart (1965), qui décrit les différents paramètres biophysiques contrôlant le grandissement d'une cellule, l'augmentation relative du volume cellulaire V dépend :

- du gradient de potentiel osmotique entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule $\Delta\Pi_{i,o}$, dont un estimateur est la pression de turgescence P ,
- de l'extensibilité des parois décrite par les 2 paramètres ϕ et Y ,
- de la conductance hydraulique L , qui est le produit de la conductivité hydraulique de la membrane cellulaire L_p par la surface de cette membrane A .

$$\frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} = \frac{L \phi}{L + \phi} \cdot (\Delta\Pi_{i,o} - Y)$$

La pression de turgescence est le moteur de l'expansion, en générant la tension dans les parois, l'extensibilité des parois et le flux entrant d'eau sont considérés comme deux rhéostats (Ray *et al.*, 1972). L'extensibilité des parois quantifie le relâchement pariétal. Ce relâchement a été perçu et analysé comme un comportement viscoélastique des parois même si l'idée de processus chimiques, impliquant que la vitesse d'expansion cellulaire dépend de vitesses de réactions biochimiques, ait été émise très tôt par Lockhart (1965) puis développée par Cosgrove (1993a). Parmi les différentes molécules impliquées, les expansines, petites protéines non enzymatiques, jouent un rôle prépondérant. Activées par l'acidification de la paroi, elles affaiblissent les liaisons hydrogène entre les polysaccharides pariétaux et les microfibrilles de cellulose. Deux groupes d'enzymes, les Xyloglucane endoTransglycosylases Hydrolases (XTH) et les endo-(1,4)- β -D-glucanases sont également impliquées mais leur rôle est moins bien défini. L'hypothèse de l'intervention de radicaux hydroxyl et de pectylmethylsterase (PME) a également été suggérée (synthèse dans Cosgrove, 2005). Ce relâchement des parois est à l'origine du gradient de potentiel hydrique nécessaire au flux d'eau entrant dans la cellule en croissance (Cosgrove, 1993b).

La limitation de la croissance par la conductance hydraulique a fait régulièrement débat (Boyer *et al.*, 1985; Cosgrove, 1993b; Frensch and Hsiao, 1995; Boyer and Silk, 2004). L'intensité du gradient de potentiel hydrique entre la source (les cellules matures, l'apoplasme environnant) et le puits (les cellules en croissance) dépend de la conductance hydraulique de la membrane / du tissu entre la source d'eau et les cellules en croissance. Elle reflète donc l'importance de cette limitation hydraulique. Le potentiel hydrique mesuré dans la zone de croissance de l'hypocotyl de ricin (Nonami *et al.*, 1987) et celle de la feuille de fétuque élevée (A5) a été trouvé de 0.15 à 0.30 MPa plus négatif que celui des zones matures ou du xylème environnant, indiquant une réelle limitation hydraulique de l'expansion cellulaire. Au contraire, dans les apex racinaires, aucun gradient de potentiel n'a été détecté entre cellules en croissance et cellules matures (Pritchard, 1994; Frensch and Hsiao, 1995; Triboulot *et al.*, 1995). Cependant, ce dernier résultat est peut-être un artefact. Les manipulations nécessaires pour fixer la racine dans la cuve (pour la mesure directe de P et Π cellulaire) provoquent très certainement un arrêt

de croissance et la turgescence et le potentiel osmotique ont, selon moi, probablement été mesurés dans des cellules dont la croissance était stoppée. Une limitation hydraulique de l'expansion dans l'apex racinaire n'est donc pas exclue. Plus récemment, l'origine de l'eau alimentant les cellules en expansion dans l'apex de racine en croissance et les conséquences sur les gradients de potentiel ont été revues (Boyer *et al.*, 2010). La part de la source phloémienne semble importante et les gradients de potentiel hydrique significatifs (Wiegers *et al.*, 2009), soutenant l'hypothèse d'une possible limitation hydraulique de la croissance dans cet organe. Parallèlement, la découverte des aquaporines, des protéines intra-membranaires facilitant les flux d'eau à travers les membranes (pores), a induit une re-visitation des processus physiologiques impliquant des flux d'eau, y compris l'expansion cellulaire (Maurel *et al.*, 2008). Plusieurs études ont mis en évidence l'implication d'aquaporines dans le contrôle des processus de croissance dans les zones de croissance de feuilles et de racines (Hukin *et al.*, 2002; Hachez *et al.*, 2006; Volkov *et al.*, 2007), apportant un élément de plus en faveur d'une limitation hydraulique de l'expansion et surtout l'idée d'une potentielle régulation de la croissance via la quantité et l'activité de ces pores transmembranaires. La multiplicité de ces protéines (famille multigénique) et leur potentielle redondance rendent complexe la détermination de leurs implications respectives.

L'expansion cellulaire a ainsi été très souvent analysée comme potentiellement limitée par l'extensibilité des parois et/ou par le flux entrant d'eau. D'autres études ont mis en évidence que le flux de solutés, nécessaire au maintien de la pression osmotique, doit être considéré comme un autre facteur potentiellement limitant (Meshcheryakov *et al.*, 1992; Fricke, 2002). Enfin, la synthèse de nouveaux composés pariétaux étant nécessaire au grandissement cellulaire, il est évident que la régulation des processus biochimiques associés à la synthèse des composés pariétaux sont autant de modulateurs potentiels de l'expansion cellulaire (Baskin, 2005). Enfin, dans le contexte d'organismes pluricellulaires complexes, il serait nécessaire de replacer l'expansion cellulaire au sein de son tissu. La pression de turgescence interne, le flux d'eau entrant et la vitesse de croissance de la cellule en expansion dépendent de la pression dans les parois et le xylème avoisinant (apoplasme), cette dernière dépendant de l'état de transpiration de la plante (Ortega, 2010).

J'ai débuté cette thématique de recherche « contrôle de la croissance racinaire en réponse au déficit hydrique » au cours de ma thèse, pendant laquelle j'ai étudié les relations hydriques et les aspects biophysiques du contrôle de l'expansion cellulaire dans la racine en réponse au stress osmotique et à la carence en potassium chez le pin maritime. Les réorientations thématiques que j'ai effectuées au cours de la décennie qui a suivi, m'ont amené à mettre cette thématique en veille pendant un certain temps bien que mon intérêt pour cette question perdurait. Une reprise en 2001 a été interrompue un an après avec l'arrêt de la thèse de C. Berthet pour raisons personnelles. En 2006, j'ai vraiment redémarré cette thématique en l'enrichissant de mon « expérience » en génomique fonctionnelle, à travers le Master 2 d'A. Hummel puis les thèses de R. Merret et de F. Bizet.

Ma contribution aux recherches sur le contrôle de la croissance de la racine en réponse au déficit hydrique a été façonnée par ma sensibilité à la biophysique et par les approches écophysiologie - génomique fonctionnelle développées par ailleurs. Les travaux, menés sur le peuplier, ont été initiés à partir ces questions :

La croissance dans l'apex racinaire est-elle limitée par la conductance hydraulique membranaire ? Quelle est l'implication des aquaporines et comment le déficit hydrique affecte leur expression ?

Quelle est l'importance relative de la prolifération cellulaire et de l'expansion cellulaire dans les variations de croissance induite par le déficit hydrique ? Les réponses de ces deux processus sont elles coordonnées ?

Pour mener à bien ces questions, nous avons été amenés à réfléchir à comment analyser la régulation transcriptionnelle dans un organe en croissance. Nous avons développé des méthodes de phénotypage de la croissance à haute résolution spatiale (pour l'analyse cinématique) ainsi que différents milieux d'application de stress osmotique compatibles avec le monitoring de la croissance.

Croissance et expression de gènes candidats en réponse à un stress osmotique

Dans le cadre d'un Master 2 (A. Hummel, 2006), nous avons mis en place un cadre de travail adapté à l'analyse de la croissance de la racine adventive de boutures de peuplier (système de culture hydroponique, mesure de croissance, anatomie, récolte des tissus). Nous avons testé l'impact de différents niveaux de stress osmotique sur la vitesse de croissance de racines du peuplier euraméricain *Populus deltoides x nigra* cv Lambro. L'application d'un stress à 120 g l⁻¹ PEG 3500 g mol⁻¹ (soit 0.26 MPa) a induit une chute de la vitesse de croissance de la racine d'environ 50% après 24h. Après 3 jours, la croissance avait repris le niveau des plants témoins (fig. 16). L'application d'un stress à 200 g l⁻¹ PEG (0.63 MPa) a réduit très fortement la croissance qui n'a que très partiellement repris, même après 4 jours de contrainte.

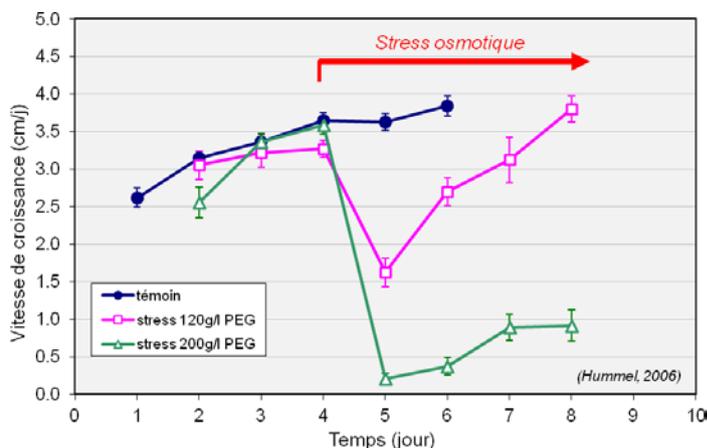


Figure 16 : Vitesse de croissance de racines adventives de peuplier « Lambro » cultivé en hydroponie et soumis à deux niveaux de stress osmotique à l'aide de PEG 3500.

En collaboration avec A. Kohler (UM1136 IAM, Nancy), nous avons mis en place un protocole pour analyser l'expression de gènes candidats sur des « mini-échantillons ». Des PCR quantitatives ont été menées sur des ARNs extraits de demi-cylindres de racine de 2 mm de long sur 5 gènes choisis *a priori* après 6 h et 4 jours de stress. Après amplification de ce même type de « mini-échantillons », des hybridations sur micro-réseaux d'ADNc (15k, 4600 gènes) ont également été réalisées.

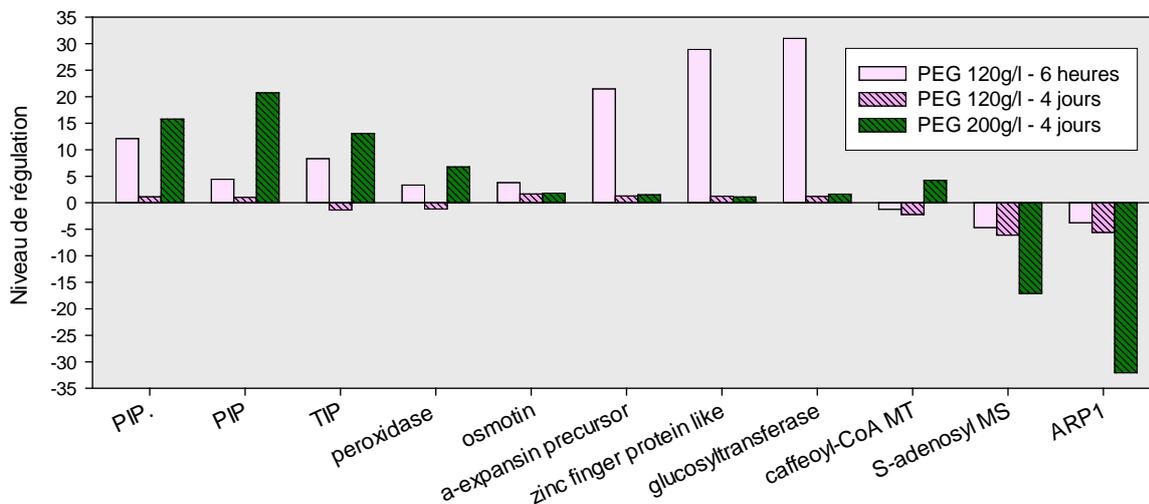


Figure 17 : Niveau de régulation de l'expression de quelques gènes dans le segment [2-4 mm] d'apex des racines adventives de peuplier cv Lambro cultivé en hydroponie et soumises à 6 h / 4 jours de stress osmotique de 120 ou 200 g/l PEG 3500 (issu d'analyses sur micro-réseaux d'ADNc).

L'analyse du transcriptome sur micro-réseaux a montré des groupes de gènes caractéristiques du temps d'application et/ou du niveau de la contrainte. Par exemple, la variation de l'expression de plusieurs aquaporines et d'une peroxidase était inversement corrélée à la vitesse d'élongation de la racine (fig. 17). Cette étude a aussi mis en évidence l'importance de mesurer l'expression des gènes avec une résolution spatiale très fine, millimétrique. En effet, les niveaux de régulation mesurés différaient fortement selon qu'ils étaient mesurés dans les 20 mm apicaux ou dans le segment 2-4 mm (distance par rapport à l'apex, zone où la vitesse d'élongation cellulaire est maximum).

Ce travail préliminaire a été présenté aux BML (P12) et poursuivi dans le cadre de la thèse de R. Merret dans lequel nous avons étudié l'expression de toute la sous-famille des gènes codant les aquaporines TIP1 et leur régulation en réponse au stress osmotique.

Stress osmotique et expression des aquaporines TIP1 dans l'apex de la racine

Sur un autre génotype de peuplier euraméricain, Soligo, nous avons retrouvé les réponses contrastées de la croissance racinaire aux deux niveaux de stress osmotique : une où la croissance est accélérée après 3 jours de stress osmotique modéré (100 g l^{-1} PEG 3500, 0.20 MPa) et une où elle reste réduite après 3 jours de stress fort (200 g l^{-1} PEG, 0.61 MPa) (fig. 18A). L'analyse cinématique a confirmé la sensibilité différentielle du taux local d'allongement relatif (REGR) selon le niveau de stress et la position le long de l'apex (fig. 18B).

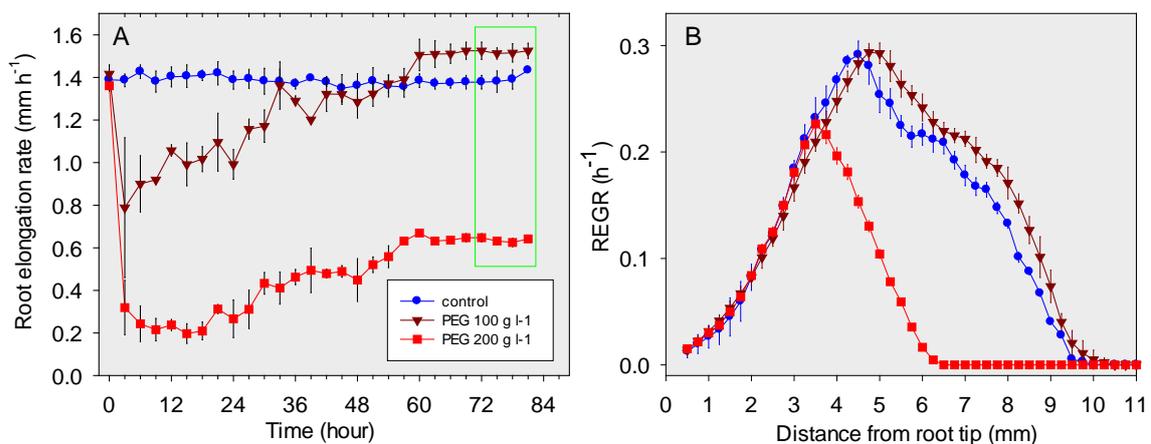


Figure 18 : (A) Vitesse de croissance de racines adventives de peuplier « Soligo » cultivé en hydroponie, soit sans contrainte, soit soumis à un stress osmotique à l'aide de PEG 3500 à partir de $t=0$. (B) Profil longitudinal du taux local de croissance relative dans l'apex de racine déterminés en phase de régime permanent (carré vert, après 72h de contrainte).

A la suite de la caractérisation cinématique, les apex ont été découpés en tronçons de 1mm et les patrons spatiaux d'expression des 8 *TIP1* et de quelques autres gènes ont été déterminés (fig. 19). Globalement, les niveaux d'expression variaient fortement d'un paralogue à l'autre ainsi que les profils spatiaux d'expression. Il apparaît également que pour la plupart des membres, les niveaux d'expression relative sont extrêmement plus forts dans la zone de croissance par rapport à la zone de maturation (dernier segment), illustrant le statut particulier de la zone de croissance. *PtTIP1.5* et *PtTIP1.6* sont préférentiellement exprimés dans la zone de division, *PtTIP1.4* dans la zone d'expansion et *PtTIP1.2* dans la partie distale de cette zone d'expansion. Dans le traitement où la croissance est plus que rétablie, les profils spatiaux d'expression ne sont quasiment pas affectés par rapport aux profils témoins. Dans celui où la croissance est réduite,

les pics d'expression relative de la plupart des *TIP1s* sont décalés vers l'apex et le niveau d'expression relative est non affecté ou légèrement diminué, à l'exception des *PtTIP1.1* et *PtTIP1.8* qui présentent des niveaux d'expression relative faibles et insensibles au stress osmotique.

Dans le contexte de la question qui nous intéresse, la limitation hydraulique de la croissance, *PtTIP1.4* montre, dans toutes les conditions, un profil spatial de niveau d'expression proche du profil de REGR, suggérant un lien potentiel entre la protéine codée par ce gène et l'expansion cellulaire. D'autre part, la forte surexpression de *PtTIP1.2* dans la partie apicale de la zone de croissance sous le stress fort est également intéressante et, si on considère le niveau de transcription comme un proxy de la fonction, pourrait contribuer au maintien du niveau de REGR dans cette zone. Nous avons donc identifié deux *TIP1* qui pourraient intervenir dans le contrôle hydraulique de la croissance et dont la fonction doit être plus amplement creusée (P19, C10, C11, C14, C16).

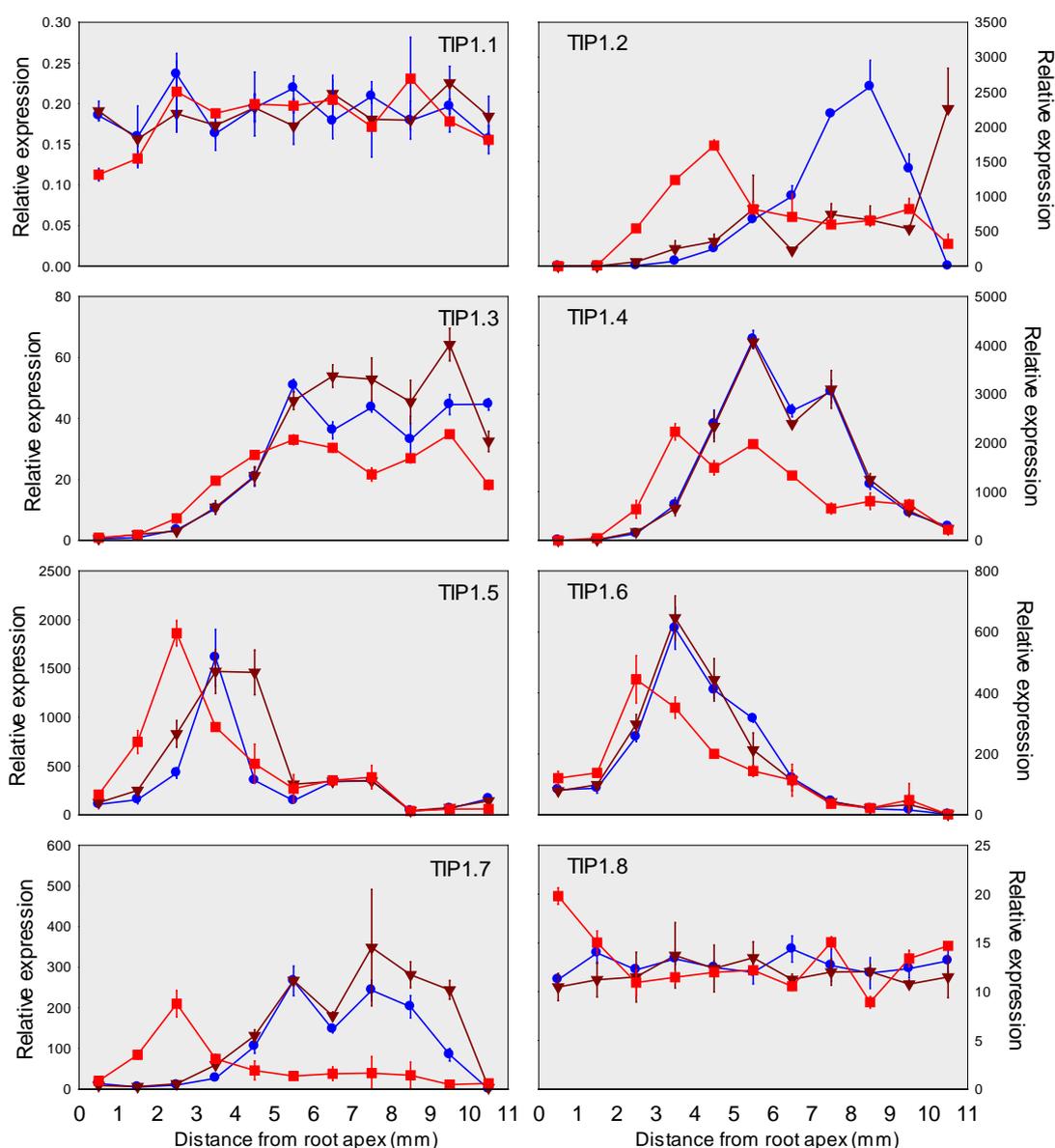


Figure 19 : Profils spatiaux d'expression relative des 8 *TIP1* le long d'apex de la racine adventive de peuplier « Soligo » poussant en régime permanent sous 3 régimes hydriques : sans contrainte (bleu), sous 100 g l⁻¹ PEG 3500 (triangle marron) ou sous 200 g l⁻¹ PEG 3500 (carré rouge).

Régulation transcriptionnelle dans l'apex de la racine

La détermination de profils d'expression de gènes le long de l'apex de la racine nous a conduits à nous poser la question de la régulation de l'expression au sein de cet organe en croissance. En effet, d'une manière générale, la régulation de l'expression des gènes (*i.e.* transcription – dégradation) est déterminée à partir de mesures instantanées sur des échantillons discontinus. Dans les tissus en croissance, cette approche est biaisée car les cellules sont déplacées et augmentent de volume entre deux temps de mesure. Cependant, la racine en développement pouvant être considérée comme un milieu continu, ces composantes convective et dilutive peuvent être prises en compte par un formalisme de la mécanique des fluides : l'équation de continuité (Silk, 1984)

$$d = \frac{\partial \rho}{\partial t} + \rho \frac{\partial v_z}{\partial z} + v_z \frac{\partial \rho}{\partial z}$$

où d est le taux net d'accumulation, ρ la densité, v la vitesse, z la distance à l'apex et t le temps. Nous avons appliqué ce formalisme de la mécanique des fluides pour la première fois à la densité locale de transcrits en combinant des techniques de PCR quantitative et d'imagerie *in vivo* du champ de vitesse d'expansion. Ainsi, à partir du profil de la densité de transcrit (fig. 20A) et du profil de vitesse le long de la zone de croissance, il est possible de calculer la vitesse de variation de densité de transcrit, c'est-à-dire le taux net d'accumulation de transcrit. Ce taux illustre la dynamique d'expression du gène dans la zone de croissance de la racine et révèle ainsi les zones d'induction et de répression de l'expression, comme ici pour le gène *Actin11* (fig. 20B).

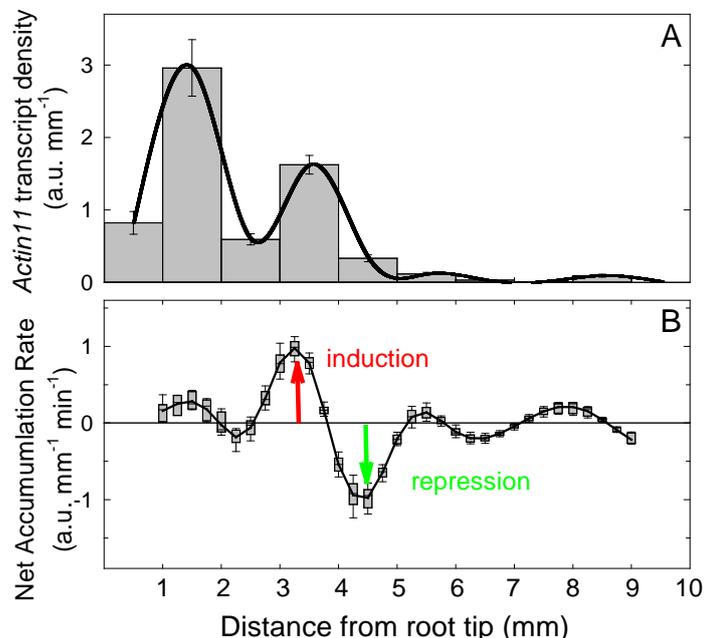


Figure 20 : (A) Profil de densité de transcrit d'*Actin 11* le long de l'apex de racine de peuplier (Soligo) et (B) taux net d'accumulation de transcrit d'*Actin 11*, illustrant les phases d'induction et de répression actives de l'expression.

L'approche cinématique de la croissance nécessaire à ce travail nous a aussi amené à considérer l'espace temps. Sous l'hypothèse du régime permanent, la trajectoire d'une particule

(ou d'une cellule) « traversant la zone de croissance » au cours du temps peut aisément être calculée à partir du profil de vitesse. Dans le cadre de cette étude, la croissance était en revenue à un régime permanent depuis une période suffisamment longue pour que le pool de cellules dans la zone d'élongation soit entièrement issu de la période « régime permanent », autorisant ce calcul. Sous l'hypothèse de stabilité du profil moléculaire, grâce à la trajectoire, il est alors possible de déterminer les variations du taux net d'accumulation de transcrite au sein de cette particule (cellule) au cours de sa « traversée » de la zone de croissance. C'est un profil lagrangien, c'est-à-dire qui concerne une particule au cours de son déplacement dans l'espace et le temps, par opposition aux profils eulériens précédemment établis, qui décrivent une variable le long d'un gradient spatial (concernant une multitude de particules) à un temps donné. Nous avons ainsi déterminé le profil lagrangien 3D de la régulation de l'expression de l'*Actin 11* dans une cellule au cours de sa traversée de la zone de croissance la racine (fig. 21). Cette approche révèle que le pic de densité de transcrite d'*Actin 11* positionné au segment [1-2] (fig 20A) est dû à une induction très modérée mais très prolongée de l'expression de ce gène.

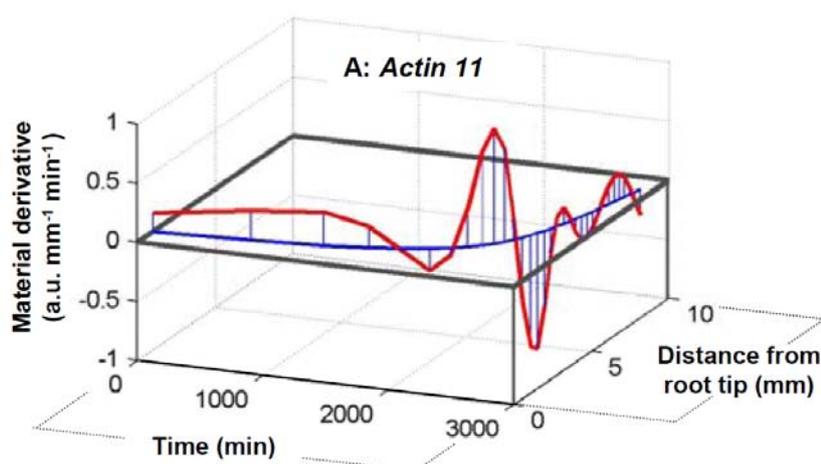


Figure 21 : Profil spatio-temporel du taux net d'accumulation de transcrite d'*Actin 11* dans l'apex de la racine (issu de A15).

Ce travail a permis l'émergence d'une méthode originale et robuste pour caractériser la régulation spatio-temporelle de l'expression des gènes (durée de développement, position des cellules et intensité de répression/induction) dans un tissu en croissance (thèse R. Merret, P15, A15). Ce travail a été effectué en collaboration avec B. Moulia (UMR PIAF Clermont-Ferrand) et I. Hummel et a fait objet d'un fait marquant retenu par l'INRA pour le rapport annuel 2010 : « La mécanique des fluides s'invite dans l'expression des gènes ».

Ce cadre d'analyse a été appliqué à l'analyse de la régulation des aquaporines *TIP1* et de quelques autres gènes dans l'apex de la racine sous différents régimes de croissance induits par différents niveaux de stress osmotique (thèse de R. Merret). En calculant le profil lagrangien du REGR pour les 20h qui précèdent l'arrêt de l'expansion cellulaire (c'est-à-dire le temps nécessaire à une cellule pour traverser la zone d'élongation, i.e. le segment [2-10 mm]), nous avons montré que bien que la zone de croissance soit plus courte sous forte contrainte osmotique, le temps d'élongation cellulaire est similaire (fig. 22B). En ce qui concerne la régulation de l'expression des gènes, trois exemples montrent des profils spatiaux de régulation très différents entre traitements (fig. 22 C, E, G). Cependant, lorsqu'on considère la régulation au cours du temps, il

apparaît que la régulation de l'expression de *PtTIP1.4* soit très synchronisée pour les 3 traitements (fig. 22D), de même que pour le gène *PtAPL*, codant un facteur de transcription impliqué dans la différenciation du protofloème (fig. 22H). Cette synchronie de la régulation au cours de la phase d'expansion suggère que ces deux gènes sont probablement impliqués dans ce processus développemental. Au contraire, la régulation de l'expression de *PtTIP1.7* n'est pas « synchronisée » par la considération du tempo de l'expansion cellulaire, suggérant son implication dans un autre processus (fig. 22F).

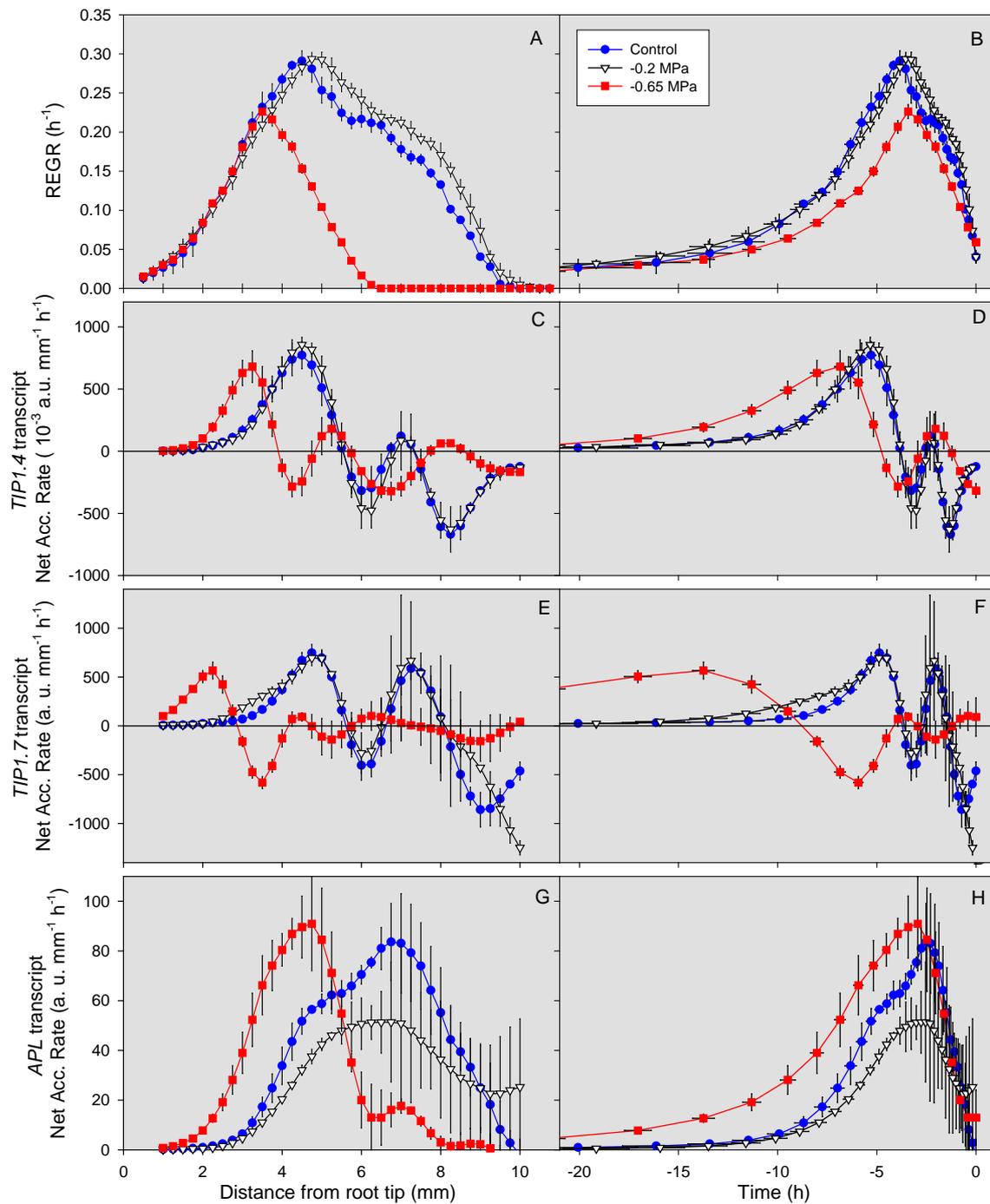


Figure 22 : Profils lagrangiens spatiaux (à gauche) et temporels (à droite) du taux local de croissance relative et du taux net d'accumulation de transcrit des gènes *PtTIP1.4*, *PtTIP1.7* et *PtAPL* dans l'apex de la racine poussant en régime permanent sous 3 régimes hydriques : sans contrainte (bleu), sous 100 g l⁻¹ PEG 3500 (triangle blanc) ou sous 200 g l⁻¹ PEG 3500 (carré rouge).

A travers cette étude, nous avons montré que les conclusions tirées de l'analyse de processus dynamiques, tels que l'expansion cellulaire et l'expression des gènes, sont influencées par la façon dont le temps et l'espace sont considérés. Ces derniers résultats ne sont pas encore publiés mais l'expertise acquise au cours de ce travail m'a permis de co-écrire avec W. Silk, une revue sur l'utilisation de l'équation de continuité pour calculer les taux de déposition nette dans les organes en croissance (A18).

Phénotypage de la cinématique de croissance dans l'apex racinaire

Les résultats présentés ci-avant sont le fruit du développement de l'expertise en imagerie *in vivo* de la croissance et en analyse cinématique des champs de croissance. La détermination du champ de vélocité requiert le suivi du déplacement de marques sur la zone de croissance. Au cours de la thèse de R. Merret, nous avons effectué ce suivi par prise de photos séquentielles d'apex marqués avec de la poudre de carbone sous lumière verte (fig. 23). Le dépôt de cette poudre induit une réponse thigmomorphogénique (un ralentissement de la croissance) exigeant une phase de récupération avant le monitoring et n'est pas compatible avec des suivis longs (l'espace grandissant entre les marques réduit la résolution spatiale nécessaire au cours du temps). Dans le cadre de la thèse de F. Bizet, et en collaboration avec A. Peaucelle (Université Diderot), nous avons développé au laboratoire l'imagerie sous lumière infrarouge. Cet éclairage révèle des marques naturelles stables à la surface et en profondeur dans la racine (fig. 23). Cette technique supprime l'artefact thigmomorphogénique et permet un suivi « permanent », les marques se renouvelant au cours de la croissance.

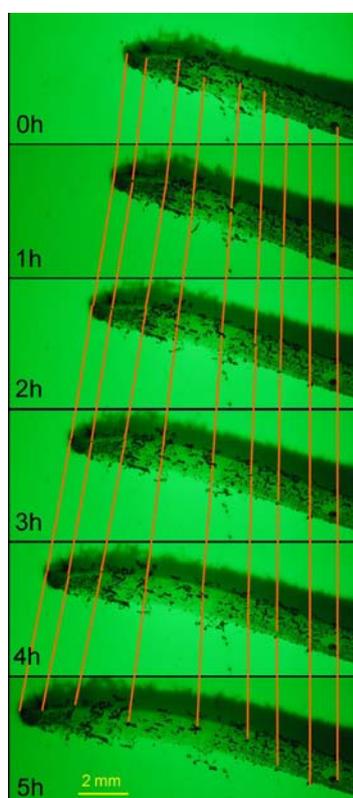


Figure 23 : Suivi cinématique de la croissance par marquage carbone sous lumière verte (gauche), apex de racine photographié sous lumière infrarouge révélant les marques naturelles (ci-dessus).

Cette avancée technologique a permis le phénotypage à haut débit temporel, générant une quantité de données difficilement exploitable manuellement. Dans le cadre de sa thèse, F. Bizet a ainsi aussi développé un processus semi-automatisé de traitement des images (recadrage, amélioration du contraste) et de calcul du profil de vitesse (via l'ajustement d'un modèle). Il a par ailleurs amélioré la résolution spatiale, accédant ainsi au taux de croissance relative dans la zone de division (très faible). Ce développement du potentiel de phénotypage cinématique de la croissance a ouvert la possibilité de caractériser la phase de transition suite à l'application d'une contrainte. En effet, le marquage naturel « permanent » permet des suivis longs et l'automatisation permet le traitement de jeux de données conséquents. Ainsi, le calcul d'un profil lagrangien en situation de régime non-permanent, qui requiert i) une caractérisation des profils de vitesse et de la variable considérée à un pas de temps suffisant pour calculer le terme $\delta\rho/\delta t$ et ii) la détermination de la trajectoire en tenant compte des variations temporelles du profil de vitesse, devient possible.

Enfin, alors que ces suivis cinématiques ont jusqu'alors été réalisés en hydroponie, nous avons réussi à les mener sur des jeunes plants de peuplier en culture *in vitro*. La taille des racines de vitro-plants est très faible (diamètre et longueur de la zone de croissance) et nécessite un grossissement conséquent pour obtenir la résolution nécessaire. Avec l'appui de N. Ningre (AT, UMR EEF), nous avons développé la compétence de culture *in vitro*, y compris l'application de stress osmotique, au sein de notre UMR (stage BTS de S. Lieger) ainsi que le suivi de croissance à partir de scans des boîtes de Pétri et SmartRoot (Lobet *et al.*, 2011). La combinaison de ces deux champs de compétences ouvre la perspective d'analyse de lignées marqueurs ou transgéniques avec une approche cinématique.

Au cours des dernières années et en collaboration avec I. Hummel, nous avons donc réussi à mettre en place un laboratoire de caractérisation de la cinématique de croissance et une petite équipe interdisciplinaire motivée par l'étude de la croissance racinaire.

Projet de recherche

En situation de déficit hydrique et/ou de compétition pour l’approvisionnement en eau, le maintien de la croissance racinaire permet la prospection d’horizons éloignés, potentiellement plus humides, constituant un avantage pour la plante qui en est capable. La meilleure tolérance de certains génotypes/espèces de peuplier au déficit hydrique édaphique pourrait dépendre en partie d’une différence de sensibilité du développement racinaire au déficit hydrique. Placé sous cette hypothèse, mon projet de recherche concerne le développement racinaire sous sécheresse. Le premier volet est axé sur les contrôles biophysiques et moléculaires de la croissance primaire chez le peuplier, à l’échelle cellulaire. Un second volet vise à analyser le développement à l’échelle du système racinaire.

1. Contrôle de la croissance primaire de la racine sous contrainte hydrique

Sensibilité des processus division et élongation cellulaire et coordination

Dans la communauté des biophysiciens, les recherches sur les mécanismes de contrôle de la croissance en général, de la racine en particulier, ont longtemps été focalisées sur les aspects biophysiques du grandissement cellulaire, processus responsable de la majeure partie de l’augmentation de volume/longueur de l’organe. L’impact de différentes contraintes environnementales sur la croissance racinaire a ainsi été analysé à travers les variations du profil du taux local de croissance relative (REGR) et des paramètres liés à l’expansion cellulaire (e.g., Pritchard *et al.*, 1987; Sharp *et al.*, 1988; Bengough *et al.*, 1997).

Parallèlement, deux théories sur le rôle des divisions dans la croissance des organismes pluricellulaires ont été émises : la première, dite « organismale » défend l’idée que l’unité cellule n’est pas importante, la « matrice de l’organisme » grandit et il y a séparation d’entités (les cellules) ou non (Beemster *et al.*, 2003). La perception de la croissance « REGR-orientée » des biophysiciens, où le processus d’expansion est primordial, s’adapte bien à cette première vision. L’autre théorie, dite « cellulaire », met le processus de division comme point initial de la croissance, qui résulte alors de l’expansion de la somme des entités produites (les cellules). La croissance dépend alors de la production de cellules (via les divisions au sein du méristème) et de la somme de leur croissance considérée individuellement (Silk, 1992; Beemster *et al.*, 2002). Cette perception alternative enrichit considérablement l’analyse de la régulation de la croissance en intégrant le fait que la vitesse de croissance peut être régulée via le taux de production de cellules et/ou par le potentiel d’expansion de ces cellules. Ainsi, une analyse prenant en compte la diversité de la croissance racinaire entre accessions naturelles d’*Arabidopsis* a montré que la variabilité de la durée du cycle cellulaire explique près de la moitié de la variabilité de vitesse de croissance observée dans différents fonds génétiques (Beemster *et al.*, 2002). Il apparaît que pour établir un modèle mécaniste du contrôle de la croissance de la racine il faut à la fois prendre en compte les régulations du processus d’expansion et celles du processus de division. Ainsi Beemster *et al.* (2003) plaident pour une régulation de la croissance de type mixte, incluant la prise en compte du niveau cellulaire et des communications intensives à l’échelle de l’organe

contrôlant l'expansion. De la prise en considération de ces deux processus, naît la question de leur responsabilité respective dans les variations enregistrées mais aussi de leur coordination, en particulier au cours des variations de la croissance induites par des stimuli environnementaux.

Les mécanismes moléculaires contrôlant la sortie de l'état prolifératif des cellules méristématiques impliquent divers acteurs dont la balance auxines-cytokinines et la concentration en gibbérellines (Dello Iorio *et al.*, 2007; Ubeda-Tomas *et al.*, 2009; Perilli *et al.*, 2012; Muraro *et al.*, 2013). En réponse au stress osmotique, l'éthylène ralentirait la prolifération en mettant le cycle cellulaire en « pause », permettant une reprise au retour de conditions hydriques favorables (Skirycz *et al.*, 2011). Parallèlement, de nombreux acteurs contrôlant l'expansion cellulaire ont été identifiés. Plusieurs enzymes, protéines et autres métabolites contrôlent la plasticité des parois (Cosgrove, 2005) et la plupart sont régulées, via leur expression ou leur activité, par les hormones (Ubeda-Tomas *et al.*, 2012). Par exemple, les gibbérellines favorisent la prolifération et l'expansion cellulaires en favorisant la dégradation des protéines DELLA (Achard *et al.*, 2009) et la chute de concentration en gibbérellines induite par l'expansion cellulaire et du catabolisme constituerait un rétrocontrôle de l'expansion (Band *et al.*, 2012; Nelissen *et al.*, 2012).

La régulation de la croissance inclut vraisemblablement une coordination spatiale et temporelle complexe de ces processus, actuellement non décryptée (Gonzalez *et al.*, 2010). Par ailleurs, cette coordination est peu décrite. Il apparaît que les deux processus peuvent être affectés indépendamment (Rahman *et al.*, 2007). Selon Silk (2006), la température affecte division et élongation de façon coordonnée alors que le déficit hydrique semble désynchroniser ces processus. Récemment, Tardieu *et al.* (2011) défendent aussi l'idée d'une indépendance de la réponse au stress hydrique des 2 processus à l'échelle de l'organe. Ces perceptions divergentes sont sans doute liées à des échelles de temps différentes et à la difficulté de caractériser le taux de division, qui exige une résolution spatiale importante ; les données sont rares et parfois peu précises. Les avancées technologiques associées aux concepts de la cinématique (imagerie à haute résolution et traitement d'images) permettent maintenant de caractériser finement les paramètres de la croissance tant au niveau spatial que temporel (Walter *et al.*, 2009; Rymen *et al.*, 2010).

Déterminer comment division et élongation cellulaires sont modulées lors de variations de la croissance des axes racinaires induites par le déficit hydrique est nécessaire pour comprendre l'importance respective des deux processus dans le maintien ou la réduction de la croissance de la racine. Une analyse de la diversité de sensibilité de la croissance racinaire et de ses processus élémentaires au sein du genre *Populus* apportera des éléments sur la variabilité des réponses rencontrées. D'autre part, l'étude des phases de transition de la vitesse de croissance (réduction/accélération induite par un changement de régime hydrique) pourra aider à comprendre la coordination entre les processus.

Ces questions sont l'objet des recherches menées dans le cadre de la thèse de François Bizet (2011-2014), en collaboration avec I. Hummel (EEF), B. Moulia (UMR PIAF) et A. Peaucelle (U. Diderot).

Interaction entre signalisation « croissance » et signalisation « déficit hydrique »

Etant convaincue que les approches multidisciplinaires apportent de nouveaux éléments pour comprendre la régulation des processus individuellement et leurs interactions, le volet

biophysique de la régulation présenté ci-dessus sera associé à une approche moléculaire de la même problématique.

Les approches de transcriptomique et de protéomique, en fournissant une vue intégrée du fonctionnement cellulaire, sont un outil puissant pour analyser la réponse au déficit hydrique (Poroyko *et al.*, 2007; Spollen *et al.*, 2008; Yamaguchi and Sharp, 2010; Yamaguchi *et al.*, 2010). Chez le peuplier, nous avons montré la forte réactivité du transcriptome de la zone de croissance de la racine en réponse à la sécheresse, soulignant l'existence d'une forte plasticité moléculaire, qui est de surcroît génotype-dépendante (A16). Nos résultats suggèrent, en autres, qu'un déficit énergétique pourrait se produire dans la zone de croissance racinaire. Dans cette étude, nous n'avons pas séparé les zones de division et d'élongation et nous n'avons pas d'information sur l'impact du déficit hydrique sur les taux de division et d'élongation.

Pour avancer dans notre prise en compte de l'importance de la prolifération dans la croissance en réponse au déficit hydrique, nous allons caractériser le remodelage du transcriptome dans la zone de division et dans la zone d'élongation et le mettre en regard de l'analyse cinématique de la réponse de la croissance au déficit hydrique. L'objectif est de déterminer les interactions entre les voies de signalisation « croissance » (prenant en compte les deux processus) et voies de signalisation « déficit hydrique ». Cette approche sera menée sur un génotype de *P. nigra*. L'importance de gènes ou de réseaux de gènes identifiés par cette approche sans *a priori* pourra être testée par une analyse comparative de leur expression par qPCR au sein de génotypes dont la réponse de croissance diffère significativement. Cette diversité pourrait être exploitée pour définir des marqueurs fonctionnels et des gènes impliqués dans la régulation de la croissance.

Ce volet sera traité dans le cadre du projet européen Watbio, avec le soutien d'une post-doctorante (M. Royer), en collaboration avec I. Hummel et certains partenaires du projet (IGATs, Université de Gottingen).

Régulation transcriptionnelle dans les cellules souches de l'apex

En amont de la zone de division, les cellules souches, cellules adjacentes au centre quiescent, donnent naissance aux différents types cellulaires (tissus vasculaires, endoderme, cortex, épiderme) et alimentent les différentes files de la zone méristématique (Dolan *et al.*, 1993). Dans la zone de division, sur une file de cellule, la cellule fille issue d'une cellule souche génèrent un certain nombre de cellules filles via des divisions successives, c'est la prolifération cellulaire au sein du méristème. Dans sa partie distale, au niveau de la zone de transition, ces cellules perdent leur caractère méristématique et entrent en élongation. La persistance / l'activité d'un méristème productif nécessite son « alimentation » par de nouvelles cellules filles issues des cellules souches. Des mécanismes impliqués dans la maintenance de ces cellules souches ont été identifiés chez *Arabidopsis* (Terpstra and Heidstra, 2009). Ainsi une très forte concentration en auxine au niveau du centre quiescent participe à la maintenance de ce statut. D'autre part, chez *Arabidopsis*, il est montré que l'activité des cellules souches est sous le contrôle de plusieurs facteurs de transcription (Terpstra and Heidstra, 2009) dont par exemple Plethora (PLT), Short-Root (SHR), Scarerow (SCR) et Wuschel-related homeodomain (WUS). Chez le peuplier, on ne connaît pas l'implication des paralogues de ces gènes.

Dans le contexte d'une vitesse de croissance modifiée par un déficit hydrique, il est intéressant de se demander dans quelle mesure l'activité des cellules souches est affectée et si un lien existe entre cette activité et la prolifération cellulaire dans le méristème. Dans ce

contexte, nous avons débuté une collaboration avec V. Legué (UMR IAM) afin de caractériser l'expression de ces facteurs de transcription en réponse à un déficit hydrique et à un signal biotique, la présence d'un champignon ectomycorhizien, qui va lui aussi affecter la croissance racinaire. En effet, avant la pénétration des hyphes entre les cellules corticales de la racine, la croissance de l'apex est ralentie fortement puis s'arrête. Nous allons caractériser la croissance par cinématique et les variations de l'expression de ces facteurs de transcription dans les apex de racines en réponse à un stress osmotique et lors de la phase de mycorhization.

Ce projet est en cours grâce à une post-doctorante, R. Teixeira, encadrée par V. Legué, I. Hummel et moi, (bourse Région - Laboratoire d'Excellence ARBRE) et un soutien financier d'ARBRE (projet Rootex).

Prise en compte de l'impédance du sol, interaction impédance sécheresse

Alors que la plupart des études sur la croissance dans l'apex racinaire sont menées sur des plantes poussant en milieu artificiel comme le gel d'agarose ou l'hydroponie, il est connu que la résistance mécanique du sol ralentit la croissance (Bengough *et al.*, 2006). Chez le pois, la réduction de croissance induite par une augmentation de la résistance mécanique a été imputée à une réduction de la prolifération cellulaire et de l'élongation cellulaire (Croser *et al.*, 1999). Une étude récente sur le maïs montre une réorganisation de l'anatomie du méristème apical, avec une augmentation du nombre de couches de cellules liée à une réorientation des plans de division (Potocka *et al.*, 2011). D'autre part, lorsqu'un sol se dessèche, son impédance augmente, d'environ un ordre de grandeur pour une chute du potentiel matriciel de -0.5 kPa à -1.5 MPa (Bengough *et al.*, 2006).

Considérant le maintien de la croissance des racines sous déficit hydrique comme un avantage, il paraît important pour ne pas tirer de conclusions erronées, de comparer les effets du déficit hydrique et de l'impédance mécanique et d'étudier leur interaction. Dans ce contexte, je travaille à la mise en place d'une collaboration avec le laboratoire de G. Bengough (James Hutton Institute, Dundee), spécialiste reconnu de l'impact des stress physiques des sols (et en particulier de l'impédance mécanique) sur le développement racinaire. Plusieurs projets ont émergé d'une première discussion. Nous envisageons de caractériser la vitesse de croissance des racines de boutures de peuplier en rhizotron, dans des sols plus ou moins compactés et en interaction avec deux niveaux d'alimentation hydrique. La faisabilité d'une caractérisation cinématique sous IR reste à tester. Un autre aspect important de la résistance mécanique est la réponse de la racine face à un obstacle. L'analyse de la modulation des processus de division et d'élongation dans un apex rencontrant un obstacle qu'il doit déplacer ou contourner et sa modélisation constituent une autre piste en cours.

Cette collaboration démarrera concrètement par un séjour d'environ 6 mois de F. Bizet au JHI courant 2014, dans le cadre de sa thèse. Son séjour sera financé par le labex ARBRE, Agreenium dans le cadre de l'École Internationale de Recherche en Agronomie (EIRA) et potentiellement par le département EFPA.

Le cas des phréatophytes

Les phréatophytes développent un système racinaire suffisamment profond pour atteindre la nappe phréatique, leur permettant ainsi de pousser dans des zones très arides sans être tolérantes à la sécheresse pour autant (Gries *et al.*, 2003). L'établissement des phréatophytes

reposerait sur une croissance racinaire extrêmement rapide (Vonlanthen *et al.*, 2010) bien que le drageonnage contribue à la propagation de ces espèces. Différents travaux illustrent la plasticité des systèmes racinaires des phréatophytes en réponse aux conditions hydriques du sol et ses variations, en terme d'extension latérale et verticale mais aussi de vitesse de développement (Vonlanthen *et al.*, 2010; Canham *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013). Alors que l'écologie et l'écophysiologie de ces plantes sont étudiées dans le cadre de la limitation de la progression des déserts, l'étude du développement de leur système racinaire *in situ* est encore plus difficile, et donc rare, que celui d'espèces « classiques ». A ma connaissance, la croissance à l'échelle de l'apex racinaire n'a pas non plus été étudiée.

Populus euphratica est un peuplier phréatophyte poussant en Asie Centrale, y compris dans des zones désertiques (Gries *et al.*, 2003). Cette espèce, sur laquelle j'ai travaillé dans le projet Establish, me paraît un bon modèle pour répondre aux questions suivantes :

La vitesse de croissance d'un axe racinaire de *P. euphratica* est-elle vraiment plus forte que celle des racines d'autres espèces de peuplier ?

Sur quelles bases repose la capacité du système racinaire d'une phréatophyte à atteindre des nappes profondes ? Qu'en est-il des processus élémentaires ?

La croissance est-elle moins sensible à l'impédance des couches profondes ? (si c'est le cas dans les déserts)

Est-ce que cette espèce a un hydrotropisme différent des autres peupliers ? Alors que la physiologie et la génétique moléculaire de l'hydrotropisme sont activement étudiées chez *Arabidopsis* (Moriwaki *et al.*, 2013), à ma connaissance, aucune étude n'a été menée chez le peuplier.

Ce projet n'est pas encore commencé. Il pourrait être mené sous la forme d'une étude comparative entre cette espèce et une/plusieurs autres(s) espèce(s) de peuplier en utilisant les différentes compétences développées dans notre groupe.

2. Importance du compartiment racinaire dans le fonctionnement de l'arbre sous contrainte hydrique

Parallèlement à mes travaux à l'échelle de l'axe racinaire, il me semble important de considérer aussi le système racinaire par rapport au fonctionnement de la plante entière, en particulier sous contrainte hydrique.

Importance du système racinaire dans la compétition inter-spécifique

Au cours des dernières décennies, de nombreuses études ont mis en évidence que la biodiversité impacte positivement le fonctionnement et la croissance des espèces en mélange (Hooper *et al.*, 2005). Bien qu'il existe des résultats divergents, les travaux ont globalement montré des effets positifs de la richesse spécifique sur la productivité ou l'efficacité d'utilisation de l'eau d'écosystèmes forestiers (Paquette and Messier, 2011; Forrester and Smith, 2012). La complémentarité fonctionnelle est considérée comme le principal mécanisme responsable des effets positifs. Les espèces occupent des niches écologiques différentes, maximisant l'utilisation des ressources disponibles. L'utilisation complémentaire des ressources peut se produire quand

des espèces voisines utilisent soit différentes ressources, soit différentes formes de la ressource, soit la même ressource mais à un moment différent où issue d'une zone différente.

En ce qui concerne l'importance de la biodiversité sur la productivité des forêts, le compartiment souterrain est encore une « boîte noire ». La difficulté d'accès aux racines, et donc à leur fonctionnement, limite le nombre d'études et les connaissances concernant l'impact du fonctionnement du compartiment souterrain sur la productivité aérienne, et ce, dans les forêts monospécifiques ou mixtes (Leuschner *et al.*, 2001). D'autre part, les études de l'impact de la biodiversité sur la productivité aérienne sont nombreuses mais les effets positifs de la richesse spécifique sur la productivité du compartiment racinaire beaucoup moins (Meinen *et al.*, 2009).

En collaboration avec D. Bonal (UMR EEF) et C. Collet (UMR Lerfob, INRA Nancy), nous démarrons une étude du développement racinaire d'espèces forestières en interaction avec d'autres espèces forestières ou de la végétation herbacée, et ce sous un régime hydrique limitant ou non. L'objectif est de comprendre comment les interactions souterraines en combinaison avec des ressources plus ou moins limitantes influencent la croissance et le fonctionnement global des espèces en présence (photosynthèse, conductance stomatique, efficacité d'utilisation de l'eau). Nous envisageons de prendre en compte le rôle des champignons et bactéries dans l'assimilation des ressources dans certaines parties de ce programme de recherche.

Ce programme est financé par les projets QL-SPIMS et RootMix (dans le cadre du labex ARBRE). Il a démarré à travers la thèse d'A. Fruleux (2013-2016 ; co-encadrement D. Bonal et moi) qui est co-financée par le labex et la Région Lorraine.

Développer le phénotypage du compartiment racinaire

Les différentes questions scientifiques constituant mon projet de recherche requièrent la caractérisation de la croissance des racines et ce, à différentes échelles. Parallèlement, les études comparatives et la multiplicité des facteurs testés augmentent rapidement le nombre d'individus à caractériser. Ce constat, vrai également pour ce qui concerne des paramètres « aériens », a conduit au développement de plateforme de phénotypage, de différente taille, avec des capacités particulières (taille des plantes accueillies, traits phénotypés, capacité globale, ...). En France, il y a des plateformes à l'INRA de Versailles, au Lepse à Montpellier, dans notre UMR à Nancy (cf. bilan partie 3) et l'INRA de Dijon. Seule cette dernière a mis l'accent sur le phénotypage du système racinaire avec le même poids que celui de la partie aérienne. En Europe et aux USA, des robots dédiés au phénotypage de la croissance racinaire existent déjà (GROWSCREEN-Rhizo, Jülich Plant Phenotyping Centre ; Phenotype Screening Corporation, Knoxville, USA). Mon objectif est de mettre en place à Nancy une capacité de phénotypage de la croissance des racines, à différentes échelles selon les besoins.

A l'échelle de l'apex, j'ai développé un laboratoire où nous pouvons caractériser la croissance dans l'apex racinaire avec une approche cinématique (à partir d'imagerie IR) sur des jeunes plants cultivés en hydroponie ou sur boîte de Pétri. Notre potentiel s'est accru récemment mais doit encore être développé, et peut-être partiellement automatisé si on veut pouvoir mener des études comparatives à plus grande échelle.

A l'échelle du système racinaire, je projette de développer une structure capable de faciliter le suivi de la croissance sur de jeunes plants, à l'aide de minirhizotrons. Pour le moment, nous ne sommes que dans la phase d'exploration. La forme des rhizotrons devra être adaptée à l'espèce

d'intérêt : le peuplier a des racines plagiotropes, le chêne plutôt gravitropes. L'idée serait de multiplier les systèmes d'acquisition d'images (scanner) et la collecte des images ou d'automatiser le déplacement des rhizotrons vers une station d'acquisition. Le choix du système et les spécifications techniques associées restent à définir.

La mise en place d'une telle structure a été retenue dans le cadre du développement du « plateau d'expérimentation et de phénotypage de jeunes arbres » pour la proposition du Contrat de Plan Etat-Région en Lorraine 2014-2017 et serait finançable dans la seconde période de ce contrat.

3. Biologie intégrative de la réponse à la sécheresse chez le peuplier

Bien que souhaitant mettre l'accent sur le thème de la croissance, je continuerai l'analyse combinée écophysiologie-génomique fonctionnelle de la réponse du peuplier à la sécheresse, à l'échelle de la plante entière. Ce volet sera conduit en forte interaction avec I Hummel et D. Cohen et s'appuie sur leurs compétences en biologie moléculaire et génomique.

Dans le cadre du projet Watbio (2012-2017), notre équipe est impliquée dans l'étude comparative de la réponse au déficit hydrique de géotypes contrastés de *P. nigra* et de *P. tremula*, en termes de croissance, physiologie des échanges gazeux, transcriptomique, protéomique et métabolomique (y compris volatomique). Au sein de chaque espèce, des géotypes de tolérance contrastée au déficit hydrique ont été/seront choisis. De plus *P. tremula* est plus tolérant à la sécheresse que *P. nigra* (riparien). L'idée, comme dans Popsec, est d'utiliser cette approche comparative pour discriminer les gènes qui sont des marqueurs de déficit hydrique de ceux qui contribuent à maintenir la croissance sous déficit hydrique.

Notre expérience en matière de « core-expérience », où de multiples partenaires travaillent sur un dispositif expérimental commun et le développement à Nancy des deux robots d'irrigation contrôlée ont conduit A. Polle (leader du premier workpackage) à nous confier cette tâche. Dans la première « core-expérience » sur *Populus nigra* que nous avons menée au printemps 2013, j'ai pris en charge, la mise en place de l'expérience, le contrôle du déficit hydrique et le phénotypage de la croissance. Nous serons impliqués dans l'analyse du remodelage des transcriptomes (par RNASeq) en interaction avec l'Université de Göttingen et l'IGATS (M. Morgante). Suite à ce premier volet, un second sur *P. tremula* sera mené en 2014. Nous continuons ainsi à nous investir dans un programme de recherche en directe continuité avec celui de Popsec.

Ce projet est une occasion d'établir de nouvelles collaborations avec des partenaires étrangers de renom dans les domaines de l'écophysiologie du peuplier (G. Taylor, Université de Southampton ; A. Polle, Université de Göttingen) et de la génomique (M. Morgante, IGATS, Udine). Par ailleurs, le projet « Interaction entre signalisation 'croissance' et signalisation 'déficit hydrique' », décrit en 3.1.2. fait le lien entre la thématique croissance racinaire et la thématique « génomique fonctionnelle ».

Références bibliographiques

- Achard P, Gusti A, Cheminant S, Alioua M, Dhondt S, Coppens F, Beeemster GTS, Genschik P.** 2009. Gibberellin Signaling Controls Cell Proliferation Rate in Arabidopsis. *Current Biology* 19, 1188-1193.
- Alder NN, Sperry JS, Pockman WT.** 1996. Root and stem xylem embolism, stomatal conductance, and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* 105, 293-301.
- Auge RM, Stodola AJW, Tims JE, Saxton AM.** 2001. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant & Soil* 230, 87-97.
- Aussenac G.** 2000. Interactions between forest stands and microclimate: Ecophysiological aspects and consequences for silviculture. *Annals of Forest Science* 57, 287-301.
- Babe A, Lavigne T, Severin JP, Nagel KA, Walter A, Chaumont F, Batoko H, Beeckman T, Draye X.** 2012. Repression of early lateral root initiation events by transient water deficit in barley and maize. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 367, 1534-1541.
- Baena-Gonzalez E.** 2010. Energy Signaling in the Regulation of Gene Expression during Stress. *Molecular Plant* 3, 300-313.
- Baluska F, Mancuso S, Volkmann D, Barlow PW.** 2010. Root apex transition zone: a signalling-response nexus in the root. *Trends in Plant Science* 15, 402-408.
- Band LR, Ubeda-Tomas S, Dyson RJ, Middleton AM, Hodgman TC, Owen MR, Jensen OE, Bennett MJ, King JR.** 2012. Growth-induced hormone dilution can explain the dynamics of plant root cell elongation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 7577-7582.
- Baskin TI.** 2005. Anisotropic expansion of the plant cell wall. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 21, 203-222.
- Baskin TI, Cork A, Williamson RE, Gorst JR.** 1995. STUNTED PLANT 1, A Gene Required for Expansion in Rapidly Elongating but Not in Dividing Cells and Mediating Root Growth Responses to Applied Cytokinin. *Plant Physiology* 107, 233-243.
- Bauerle TL, Smart DR, Bauerle WL, Stockert C, Eissenstat DM.** 2008. Root foraging in response to heterogeneous soil moisture in two grapevines that differ in potential growth rate. *New Phytologist* 179, 857-866.
- Beemster GTS, De Vusser K, De Tavernier E, De Bock K, Inze D.** 2002. Variation in growth rate between Arabidopsis ecotypes is correlated with cell division and A-type cyclin-dependent kinase activity. *Plant Physiology* 129, 854-864.
- Beemster GTS, Fiorani F, Inze D.** 2003. Cell cycle: the key to plant growth control? *Trends in Plant Science* 8, 154-158.
- Bengough AG, Bransby MF, Hans J, McKenna SJ, Roberts TJ, Valentine TA.** 2006. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. *Journal of Experimental Botany* 57, 437-447.
- Bengough AG, Croser C, Pritchard J.** 1997. A biophysical analysis of root growth under mechanical stress. *Plant & Soil* 189, 155-164.
- Bengough AG, McKenzie BM, Hallett PD, Valentine TA.** 2011. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. *Journal of Experimental Botany* 62, 59-68.

- Birnbaum K, Shasha DE, Wang JY, Jung JW, Lambert GM, Galbraith DW, Benfey PN.** 2003. A gene expression map of the Arabidopsis root. *Science* 302, 1956-1960.
- Boyer JS, Cavalieri AJ, Schulze ED.** 1985. Control of the rate of cell enlargement: Excision, wall relaxation, and growth-induced water potentials. *Planta* 163, 527-543.
- Boyer JS, Silk WK.** 2004. Hydraulics of plant growth. *Functional Plant Biology* 31, 761-773.
- Boyer JS, Silk WK, Watt M.** 2010. Path of water for root growth. *Functional Plant Biology* 37, 1105-1116.
- Bray EA.** 2002. Classification of genes differentially expressed during water-deficit stress in Arabidopsis thaliana: an analysis using Microarray and differential expression data. *Annals of Botany* 89, 803-811.
- Canham CA, Froend RH, Stock WD, Davies M.** 2012. Dynamics of phreatophyte root growth relative to a seasonally fluctuating water table in a Mediterranean-type environment. *Oecologia* 170, 909-916.
- Carvajal M, Cooke DT, Clarkson DT.** 1996. Responses of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water-channel function. *Planta* 199, 372-381.
- Charrier A, Boemare N, Bouchez D, Glaszmann JC, Lemaire G, Morot-Gaudry JF, Pouzet A, Saugier B.** 2005. La biologie intégrative végétale In: l'INRA DGd, ed, 43.
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS.** 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30, 239-264.
- Chrispeels M, Maurel C.** 1994. Aquaporins: The Molecular Basis Of Facilitated Water Movement Through Living Plant Cells ? *Plant Physiology* 105, 9-13.
- Cosgrove DJ.** 1993a. How do plant cell walls extend? *Plant Physiology* 102, 1-6.
- Cosgrove DJ.** 1993b. Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake, and hydraulic conductance. *International Journal of Plant Sciences* 154, 10-21.
- Cosgrove DJ.** 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6, 850-861.
- Creelman RA, Mason HS, Bensen RJ, Boyer JS, Mullet JE.** 1990. Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. Analysis of growth, sugar accumulation, and gene expression. *Plant Physiology* 92, 205-214.
- Croser C, Bengough AG, Pritchard J.** 1999. The effect of mechanical impedance on root growth in pea (*Pisum sativum*). I. Rates of cell flux, mitosis, and strain during recovery. *Physiologia Plantarum* 107, 277-286.
- Dello Iorio R, Linhares FS, Scacchi E, Casamitjana-Martinez E, Heidstra R, Costantino P, Sabatini S.** 2007. Cytokinins determine Arabidopsis root-meristem size by controlling cell differentiation. *Current Biology* 17, 678-682.
- Den Herder G, Van Isterdael G, Beeckman T, De Smet I.** 2010. The roots of a new green revolution. *Trends in Plant Science* 15, 600-607.
- Dolan L, Janmaat K, Willemsen V, Linstead P, Poethig S, Roberts K, Scheres B.** 1993. Cellular organisation of the Arabidopsis thaliana root. *Development* 119, 71-84.
- Dubos C, Le Provost G, Pot D, Salin F, Lalane C, Madur D, Frigerio JM, Plomion C.** 2003. Identification and characterization of water-stress-responsive genes in hydroponically grown maritime pine (*Pinus pinaster*) seedlings. *Tree Physiology* 23, 169-179.
- Erickson RO.** 1976. Modeling of Plant Growth. *Annual Review of Plant Physiology* 27, 407-434.
- Erickson RO, Sax KB.** 1956. Elemental growth rate of the primary root of zea mays. *Proceedings of the American Philosophical Society* 100, 487-498.
- Forrester DI, Smith RGB.** 2012. Faster growth of Eucalyptus grandis and Eucalyptus pilularis in mixed-species stands than monocultures. *Forest Ecology and Management* 286, 81-86.

- Frensch J, Hsiao TC.** 1995. Rapid response of the yield threshold and turgor regulation during adjustment of root growth to water stress in *Zea mays*. *Plant Physiology* 108, 303-312.
- Fricke W.** 2002. Biophysical limitation of cell elongation in cereal leaves. *Annals of Botany* 90, 157-167.
- Gonzalez N, De Bodt S, Sulpice R, Jikumaru Y, Chae E, Dhondt S, Van Daele T, De Milde L, Weigel D, Kamiya Y, Stitt M, Beemster GTS, Inze D.** 2010. Increased Leaf Size: Different Means to an End. *Plant Physiology* 153, 1261-1279.
- Gries D, Zeng F, Foetzki A, Arndt SK, Bruelheide H, Thomas FM, Zhang X, Runge M.** 2003. Growth and water relations of *Tamarix ramosissima* and *Populus euphratica* on Taklamakan desert dunes in relation to depth to a permanent water table. *Plant Cell and Environment* 26, 725-736.
- Guehl JM, Picon C, Aussenac G, Gross P.** 1994. Interactive effects of elevated CO₂ and soil drought on growth and transpiration efficiency and its determinants in 2 european forest tree species. *Tree Physiology* 14, 707-724.
- Gupta AB, Sankararamkrishnan R.** 2009. Genome-wide analysis of major intrinsic proteins in the tree plant *Populus trichocarpa*: Characterization of XIP subfamily of aquaporins from evolutionary perspective. *BMC Plant Biology* 9.
- Hachez C, Moshelion M, Zelazny E, Cavez D, Chaumont F.** 2006. Localization and quantification of plasma membrane aquaporin expression in maize primary root: A clue to understanding their role as cellular plumbers. *Plant Molecular Biology* 62, 305-323.
- Hamanishi ET, Raj S, Wilkins O, Thomas BR, Mansfield SD, Plant AL, Campbell MM.** 2010. Intraspecific variation in the *Populus balsamifera* drought transcriptome. *Plant, Cell & Environment* DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02179.x.
- Hooper DU, Chapin FS, Ewel JJ, Hector A, Inchausti P, Lavorel S, Lawton JH, Lodge DM, Loreau M, Naeem S, Schmid B, Setälä H, Symstad AJ, Vandermeer J, Wardle DA.** 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75, 3-35.
- Hsiao TC.** 2000. Leaf and root growth in relation to water status. *Hortscience* 35, 1051-1058.
- Huang B, Nobel PS.** 1993. Hydraulic conductivity and anatomy along lateral roots of cacti: changes with soil water status. *New Phytologist* 123, 499-507.
- Hukin D, Doering-Saad C, Thomas CR, Pritchard J.** 2002. Sensitivity of cell hydraulic conductivity to mercury is coincident with symplasmic isolation and expression of plasmalemma aquaporin genes in growing maize roots. *Planta* 215, 1047-1056.
- Ishikawa H, Evans MI.** 1995. Specialized zones of development in roots. *Plant Physiology* 109, 725-727.
- Kavanagh KL, Bond BJ, Aitken SN, Gartner BL, Knowe S.** 1999. Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings. *Tree Physiology* 19, 31-37.
- Kreps JA, Wu YJ, Chang HS, Zhu T, Wang X, Harper JF.** 2002. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiology* 130, 2129-2141.
- Leuschner C, Hertel D, Coners H, Buttner V.** 2001. Root competition between beech and oak: a hypothesis. *Oecologia* 126, 276-284.
- Liu B, Zeng FJ, Arndt SK, He JX, Luo WC, Song C.** 2013. Patterns of root architecture adaptation of a phreatophytic perennial desert plant in a hyperarid desert. *South African Journal of Botany* 86, 56-62.
- Lobet G, Pages L, Draye X.** 2011. A Novel Image-Analysis Toolbox Enabling Quantitative Analysis of Root System Architecture. *Plant Physiology* 157, 29-39.
- Lockhart JA.** 1965. An Analysis of Irreversible Plant Cell Elongation. *Journal of Theoretical Biology* 8, 264-275.

- Maillard P, Guehl JM, Muller JF, Gross P.** 2001. Interactive effects of elevated CO₂ concentration and nitrogen supply on partitioning of newly fixed C-13 and N-15 between shoot and roots of pedunculate oak seedlings (*Quercus robur*). *Tree Physiology* 21, 163-172.
- Maurel C, Verdoucq L, Luu DT, Santoni V.** 2008. Plant aquaporins: Membrane channels with multiple integrated functions. *Annual Review of Plant Biology* 59, 595-624.
- Meinen C, Hertel D, Leuschner C.** 2009. Root Growth and Recovery in Temperate Broad-Leaved Forest Stands Differing in Tree Species Diversity. *Ecosystems* 12, 1103-1116.
- Merret R.** 2010. Contrôle moléculaire de la croissance sous déficit hydrique : Analyse cinématique et régulation de l'expression des aquaporines TIP1 dans l'apex de la racine du peuplier, Nancy-Université, Nancy, 124.
- Meshcheryakov A, Steudle E, Komor E.** 1992. Gradients of turgor, osmotic pressure, and water potential in the cortex of the hypocotyl of growing *Ricinus* seedlings. Effects of the supply of water from the xylem and of solutes from the phloem. *Plant Physiology* 98, 840-852.
- Monclus R, Dreyer E, Villar M, Delmotte FM, Delay D, Petit JM, Barbaroux C, Le Thiec D, Brechet C, Brignolas F.** 2006. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* x *Populus nigra*. *New Phytologist* 169, 765-777.
- Moriwaki T, Miyazawa Y, Kobayashi A, Takahashi H.** 2013. MOLECULAR MECHANISMS OF HYDROTROPISM IN SEEDLING ROOTS OF ARABIDOPSIS THALIANA (BRASSICACEAE). *American Journal of Botany* 100, 25-34.
- Muraro D, Byrne H, King J, Bennett M.** 2013. The role of auxin and cytokinin signalling in specifying the root architecture of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Theoretical Biology* 317, 71-86.
- Nardini A, Salleo S, Tyree MT, Vertovec M.** 2000. Influence of the ectomycorrhizas formed by *Tuber melanosporum* Vitt. on hydraulic conductance and water relations of *Quercus ilex* L. seedlings. *Annals of Forest Science* 57, 305-312.
- Nawy T, Lee JY, Colinas J, Wang JY, Thongrod SC, Malamy JE, Birnbaum K, Benfey PN.** 2005. Transcriptional profile of the *Arabidopsis* root quiescent center. *Plant Cell* 17, 1908-1925.
- Nelissen H, Rymen B, Jikumaru Y, Demuynck K, Van Lijsebettens M, Kamiya Y, Inze D, Beemster GTS.** 2012. A Local Maximum in Gibberellin Levels Regulates Maize Leaf Growth by Spatial Control of Cell Division. *Current Biology* 22, 1183-1187.
- Nonami H, Boyer JS, Steudle E.** 1987. Pressure probe and isopiestic psychrometer measure similar turgor. *Plant Physiology* 83, 592-595.
- Ortega JKE.** 2010. Plant Cell Growth in Tissue. *Plant Physiology* 154, 1244-1253.
- Paquette A, Messier C.** 2011. The effect of biodiversity on tree productivity: from temperate to boreal forests. *Global Ecology and Biogeography* 20, 170-180.
- Perilli S, Di Mambro R, Sabatini S.** 2012. Growth and development of the root apical meristem. *Current Opinion in Plant Biology* 15, 17-23.
- Poroyko V, Spollen W, Hejlek L, Hernandez A, LeNoble M, Davis G, Nguyen H, Springer G, Sharp R, Bohnert H.** 2007. Comparing regional transcript profiles from maize primary roots under well-watered and low water potential conditions. *Journal of Experimental Botany* 58, 279-289.
- Potocka I, Szymanowska-Pulka J, Karczewski J, Nakielski J.** 2011. Effect of mechanical stress on *Zea* root apex. I. Mechanical stress leads to the switch from closed to open meristem organization. *Journal of Experimental Botany* 62, 4583-4593.
- Pritchard J.** 1994. The control of cell expansion in roots. *New Phytologist* 127, 3-26.
- Pritchard J, Tomos AD, Jones RGW.** 1987. Control of wheat root elongation growth. I. Effects of ions on growth rate, wall rheology and cell water relations. *Journal of Experimental Botany* 38, 948-959.

- Rahman A, Bannigan A, Sulaman W, Pechter P, Blancaflor EB, Baskin TI.** 2007. Auxin, actin and growth of the Arabidopsis thaliana primary root. *Plant Journal* 50, 514-528.
- Ray PM, Green PB, Cleland R.** 1972. Role of Turgor in Plant Cell Growth. *Nature* 239, 163-164.
- Richards W, Kavanagh AJ.** 1943. The analysis of the relative growth gradients and changing form of growing organisms: illustrated by the tobacco leaf. *American Naturalist* 77, 385-399.
- Rymen B, Coppens F, Dhondt S, Fiorani F, Beemster GTS.** 2010. Kinematic Analysis of Cell Division and Expansion. *Plant Developmental Biology: Methods and Protocols*, 203-227.
- Sachs J.** 1873. *Über das Wachstum der Haupt- und Nebenwurzeln.* Würzburg Arb. Bot. Inst. .
- Secchi F, Lovisolo C, Schubert A.** 2007. Expression of OePIP2.1 aquaporin gene and water relations of Olea europaea twigs during drought stress and recovery. *Annals of Applied Biology* 150, 163-167.
- Seki M, Narusaka M, Ishida J, Nanjo T, Fujita M, Oono Y, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Taji T, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y, Shinozaki K.** 2002. Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *Plant Journal* 31, 279-292.
- Sharma A, Dwivedi BN, Singh B, Kumar K.** 1999. Introduction of *Populus euphratica* in Indian semi-arid trans Gangetic plains. *Annals of Forestry* 7, 1-8.
- Sharp RE, Silk WK, Hsiao TC.** 1988. Growth of the maize primary root at low water potentials. I. Spatial distribution of expansive growth. *Plant Physiology* 87, 50-57.
- Silk WK.** 1984. Quantitative descriptions of development. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 479-518.
- Silk WK.** 1992. Steady form from changing cells. *International Journal of Plant Sciences* 153, S49-S58.
- Silk WK.** 2006. Moving with the flow: what transport laws reveal about cell division and expansion. *Journal of Plant Research* 119, 23-29.
- Silk WK, Erickson RO.** 1979. Kinematics of plant growth. *Journal of Theoretical Biology* 76, 481-501.
- Skirycz A, Claeys H, De Bodt S, Oikawa A, Shinoda S, Andriankaja M, Maleux K, Eloy NB, Coppens F, Yoo S-D, Saito K, Inze D.** 2011. Pause-and-Stop: The Effects of Osmotic Stress on Cell Proliferation during Early Leaf Development in Arabidopsis and a Role for Ethylene Signaling in Cell Cycle Arrest. *Plant Cell* 23, 1876-1888.
- Smith SE, Read DJ.** 1997. *Mycorrhizal symbiosis.* San Diego, US: Academic Press.
- Sperry JS, Saliendra NZ.** 1994. Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell & Environment* 17, 1233-1241.
- Spollen WG, Tao W, Valliyodan B, Chen K, Hejlek LG, Kim JJ, LeNoble ME, Zhu J, Bohnert HJ, Henderson D, Schachtman DP, Davis GE, Springer GK, Sharp RE, Nguyen HT.** 2008. Spatial distribution of transcript changes in the maize primary root elongation zone at low water potential. *BMC Plant Biology* 8.
- Steudle E.** 1994. Water transport across roots. *Plant & Soil* 167, 79-90.
- Steudle E, Meshcheryakov AB.** 1996. Hydraulic and osmotic properties of oak roots. *Journal of Experimental Botany* 47, 387-401.
- Tardieu F, Granier C, Muller B.** 2011. Water deficit and growth. Co-ordinating processes without an orchestrator? *Current Opinion in Plant Biology* 14, 283-289.
- Terpstra I, Heidstra R.** 2009. Stem cells: The root of all cells. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 20, 1089-1096.
- Triboulot MB, Pritchard J, Tomos D.** 1995. Stimulation and inhibition of pine root growth by osmotic stress. *New Phytologist* 130, 169-175.

- Tschaplinski TJ, Stewart DB, Norby RJ.** 1995. Interactions between drought and elevated CO₂ on osmotic adjustment and solute concentrations of tree seedlings. *New Phytologist* 131, 169-177.
- Tschaplinski TJ, Tuskan GA, Gebre GM, Todd DE.** 1998. Drought resistance of two hybrid *Populus* clones grown in a large-scale plantation. *Tree Physiology* 18, 653-658.
- Tsuda M, Tyree MT.** 1997. Whole-plant hydraulic resistance and vulnerability segmentation in *Acer saccharinum*. *Tree Physiology* 17, 351-357.
- Tsukagoshi H, Busch W, Benfey PN.** 2010. Transcriptional Regulation of ROS Controls Transition from Proliferation to Differentiation in the Root. *Cell* 143, 606-616.
- Tuskan GA, DiFazio S, Jansson S, Bohlmann J, Grigoriev I, Hellsten U, Putnam N, Ralph S, Rombauts S, Salamov A, Schein J, Sterck L, Aerts A, Bhalerao RR, Bhalerao RP, Blaudez D, Boerjan W, Brun A, Brunner A, Busov V, Campbell M, Carlson J, Chalot M, Chapman J, Chen GL, Cooper D, Coutinho PM, Couturier J, Covert S, Cronk Q, Cunningham R, Davis J, Degroeve S, Dejardin A, Depamphilis C, Detter J, Dirks B, Dubchak I, Duplessis S, Ehlting J, Ellis B, Gendler K, Goodstein D, Gribskov M, Grimwood J, Groover A, Gunter L, Hamberger B, Heinze B, Helariutta Y, Henrissat B, Holligan D, Holt R, Huang W, Islam-Faridi N, Jones S, Jones-Rhoades M, Jorgensen R, Joshi C, Kangasjarvi J, Karlsson J, Kelleher C, Kirkpatrick R, Kirst M, Kohler A, Kalluri U, Larimer F, Leebens-Mack J, Leple JC, Locascio P, Lou Y, Lucas S, Martin F, Montanini B, Napoli C, Nelson DR, Nelson C, Nieminen K, Nilsson O, Pereda V, Peter G, Philippe R, Pilate G, Poliakov A, Razumovskaya J, Richardson P, Rinaldi C, Ritland K, Rouze P, Ryaboy D, Schmutz J, Schrader J, Segerman B, Shin H, Siddiqui A, Sterky F, Terry A, Tsai CJ, Uberbacher E, Unneberg P, Vahala J, Wall K, Wessler S, Yang G, Yin T, Douglas C, Marra M, Sandberg G, Van de Peer Y, Rokhsar D.** 2006. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science* 313, 1596-1604.
- Ubeda-Tomas S, Beemster GTS, Bennett MJ.** 2012. Hormonal regulation of root growth: integrating local activities into global behaviour. *Trends in Plant Science* 17, 326-331.
- Ubeda-Tomas S, Federici F, Casimiro I, Beemster GTS, Bhalerao R, Swarup R, Doerner P, Haseloff J, Bennett MJ.** 2009. Gibberellin Signaling in the Endodermis Controls Arabidopsis Root Meristem Size. *Current Biology* 19, 1194-1199.
- van der Weele CM, Spollen WG, Sharp RE, Baskin TI.** 2000. Growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings under water deficit studied by control of water potential in nutrient-agar media. *Journal of Experimental Botany* 51, 1555-1562.
- Vandeleur RK, Mayo G, Shelden MC, Gilliam M, Kaiser BN, Tyerman SD.** 2009. The Role of Plasma Membrane Intrinsic Protein Aquaporins in Water Transport through Roots: Diurnal and Drought Stress Responses Reveal Different Strategies between Isohydric and Anisohydric Cultivars of Grapevine. *Plant Physiology* 149, 445-460.
- Volkov V, Hachez C, Moshelion M, Draye X, Chaumont F, Fricke W.** 2007. Water permeability differs between growing and non-growing barley leaf tissues. *Journal of Experimental Botany* 58, 377-390.
- Vonlanthen B, Zhang X, Bruelheide H.** 2010. On the run for water - Root growth of two phreatophytes in the Taklamakan Desert. *Journal of Arid Environments* 74, 1604-1615.
- Walter A, Silk WK, Schurr U.** 2009. Environmental effects on spatial and temporal patterns of leaf and root growth. *Annual Review of Plant Biology* 60, 279-304.
- Westgate ME, Boyer JS.** 1985. Osmotic adjustment and the inhibition of leaf, root, stem and silk growth at low water potentials in maize. *Planta* 164, 540-549.
- Wieggers BS, Cheer AY, Silk WK.** 2009. Modeling the Hydraulics of Root Growth in Three Dimensions with Phloem Water Sources. *Plant Physiology* 150, 2092-2103.
- Wilkins O, Waldron L, Nahal H, Provart NJ, Campbell MM.** 2009. Genotype and time of day shape the *Populus* drought response. *Plant Journal* 60, 703-715.

- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K.** 2006. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Review of Plant Biology* 57, 781-803.
- Yamaguchi M, Sharp RE.** 2010. Complexity and coordination of root growth at low water potentials: recent advances from transcriptomic and proteomic analyses. *Plant Cell and Environment* 33, 590-603.
- Yamaguchi M, Valliyodan B, Zhang J, Lenoble ME, Yu O, Rogers EE, Nguyen HT, Sharp RE.** 2010. Regulation of growth response to water stress in the soybean primary root. I. Proteomic analysis reveals region-specific regulation of phenylpropanoid metabolism and control of free iron in the elongation zone. *Plant Cell and Environment* 33, 223-243.