



HAL
open science

Mécanismes sous-jacents au redressement gravitropique et autotropique chez le peuplier et le blé

Alexandre Caulus

► **To cite this version:**

Alexandre Caulus. Mécanismes sous-jacents au redressement gravitropique et autotropique chez le peuplier et le blé. Biologie végétale. Université Clermont Auvergne, 2024. Français. NNT: . tel-04831415

HAL Id: tel-04831415

<https://hal.inrae.fr/tel-04831415v1>

Submitted on 11 Dec 2024

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 Clermont Auvergne

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE –
SANTÉ – AGRONOMIE – ENVIRONNEMENT

THÈSE

Présentée par

Alexandre CAULUS

Pour l'obtention du grade de

Docteur d'Université

Spécialité : **Biologie végétale**

Mécanismes sous-jacents au redressement gravitropique et autotropique chez le peuplier et le blé

Soutenue publiquement le 3 avril 2024

Présidente du jury :

Valérie LEGUÉ, Professeure, Université Clermont-Auvergne, Clermont-Ferrand

Rapporteur-e-s :

Annabelle DÉJARDIN, Directrice de Recherche, INRAE, Orléans

Patrick HEURET, Chargé de Recherche, INRAE, Montpellier

Godfrey NEUTELINGS, Professeur, Université de Lille, Lille

Examinatrices :

Jana DLOUHA, Chargée de Recherche, INRAE, Nancy

Directeur de thèse :

Bruno MOULIA, Directeur de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand

Co-encadrante :

Mélanie DECOURTEIX, Maître De Conférences, Université Clermont-Auvergne, Clermont-Ferrand

Remerciements

Dans un premier temps, je tiens à remercier mes encadrants, Mélanie Decourteix et Bruno Moulia.

Tout d'abord merci à Mélanie. D'avoir eu confiance en moi et de m'avoir offert l'opportunité de réaliser cette thèse. C'est vrai que ce n'était pas simple au départ, de se remettre dans le bain du travail et de la recherche, surtout après plusieurs mois d'attente pour obtenir un financement ! Tout au long de ma thèse, tu as été présente, à me conseiller, à m'aider dans les moments compliqués. Je ne compte pas les innombrables discussions sur les résultats, mais aussi sur mon état d'esprit, mon manque de confiance et le fait que je ne sois jamais satisfait de mon travail. Tu as été toujours là, en toutes circonstances, et cela m'a beaucoup aidé. Merci pour tout, pour ta présence durant ces 3 ans.

Un grand merci à Bruno. Merci de m'avoir fait rentrer dans le monde de la biomécanique des plantes.. ironie ? Absolument pas ! Au début de ma thèse, avec mon cursus de biologie, il est vrai qu'une thèse comportant de la physique.. des formules et équations.. n'étant sans doute pas le meilleur choix pour une adaptation parfaite ! Je ne compte pas le nombre de fois où tu as réécrit les formules encore et encore. Tu as dû avoir une très grande patience avec moi.. enfin j'imagine. Je me souviens également de tes reprises sur mes graphiques.. d'ailleurs j'attends ton RIB pour le dernier versement ! Bien que ça a été compliqué, j'ai vraiment apprécié ces moments, durant ces 3 ans. Comme Mélanie, tu as été à mon écoute et j'ai eu la possibilité de discuter avec toi sur tous les sujets possibles et inimaginables. Sans tout ça, je n'aurais pas pu réaliser tout ce travail et progresser autant ! Tu as toujours été à l'écoute, et ça a été la chose la plus importante ! Merci encore Bruno.

Je tenais aussi à remercier mon jury de thèse, d'avoir accepté d'évaluer cette thèse, notamment Monsieur Patrick Heuret, Monsieur Godfrey Neutelings et Madame Annabelle Déjardin d'avoir accepté d'être rapporteur-e-s ainsi que Madame Jana Dlouha et Madame Valérie Legué d'avoir accepté d'être rapportrices. Je remercie également Monsieur Bruno Clair, Madame Annaïg Bouguennec et Monsieur Simon Hawkins pour leur participation à mon comité de suivi de thèse et pour leurs conseils.

Je souhaite également remercier le soutien financier du CNES pour la réalisation de mes expérimentations ainsi que l'I-SITE et Clermont Auvergne Métropole pour le financement global de la thèse.

Cette thèse s'est déroulée au sein de l'UMR PIAF, je tiens donc à remercier toutes les personnes avec qui j'ai pu partager des moments que ce soit pour le travail ou autre. Globalement, je me souviendrai des pauses-café de 10h30... puis de 13h... puis de 16h. Une journée de travail sans PLUSIEURS pauses-café n'est pas une bonne journée.. Pour tous ces moments de partage, je remercie l'ensemble du personnel de l'UMR PIAF (et GDEC-Cézeaux).

Ma thèse n'aurait pas été possible sans l'aide sans failles de Norbert Frizot et d'Amélie Coston. Norbert, je te remercie pour ta gentillesse, ta bienveillance et tes mots pour rire. Encore navré d'avoir grillé un ordinateur par la chute (in)volontaire d'un chocolat chaud. Merci à Amélie pour la centaine de peupliers et de blé durant cette thèse, mais aussi des sorties collectives que tu as pu initier ! Je tiens également à remercier Sylvie Vayssie, Dominique Tiziani, Sandrine Meyniel et Lucie Savoca pour l'aide importante et précieuse des gestionnaires d'unités, qui ont été d'une présence et d'une grande importance durant ma thèse.

Nicole, il est évident que nos marches matinales sous le soleil.. sous la pluie.. sous la neige et le froid resteront des souvenirs gravés. Je ne compte pas le nombre de pulvini prélevés, inclinés, sacrifiés au nom de la science, ni le nombre d'heures en serre ou devant un microtome. Pendant 3 ans, tu as partagé ton laboratoire de cytologie, de microscopie et ton savoir-faire avec moi. Mais aussi ton sens du rangement et de l'organisation. Dès mes premières heures et jours, tu as été d'une grande présence et gentillesse que ce soit au coin café, au laboratoire ou à nos sorties. Ma thèse n'aura pas été la même sans ta présence et ton aide. Tu es quelqu'un que j'apprécie énormément et nos discussions et moments de travail resteront très longtemps dans ma mémoire.

Stéphane, je te considère un peu comme mon ange gardien durant cette thèse. On a de suite eu un bon feeling dès mon arrivée. D'abord d'un point de vue professionnel avec le dispositif sphère où on a su trouver une organisation, une façon de travailler et de faire tourner ce dispositif de façon harmonieuse. Mais aussi d'un point de vue personnel, avec des discussions très vastes et variées. Tu as toujours été là pour moi, à prendre des nouvelles. Et pour ça, je te remercie infiniment. Tu es quelqu'un de très bien.

Félix, ou devrais-je dire l'un des investigateurs d'Interakt. Ce logiciel m'a donné de nombreuses sueurs froides durant ma thèse. Mais tu as été là pour retenir mes pulsions. Je te remercie pour

ta patience envers moi, durant ces 3 ans, ça n'a pas dû être simple ! Mais aussi pour ta présence, tes mots et blagues à la pause café.. thé, de ton Kougelhopf si parfait et alcoolisé !

Je tenais aussi à remercier tous mes collègues non contractuels (allant du stagiaire au post-doc) pour les bons moments, les bonnes truffades, les bons verres. Bref, la vie.

Je remercie Bamba. On se connaît depuis un certain temps, depuis le master précisément où j'étais en 2^{ème} année et lui en première. Je me souviendrai de nos discussions sur le meilleur sport au monde (à quand un 1v1 d'ailleurs ?), mais aussi de l'ensemble de nos sorties (À quand le karting ? le paintball ?). Mais surtout de notre montée mémorable au Puy-De-Dôme avec Vassanti, dans un sale temps ! Tu as toujours été pour discuter, dans la bonne humeur et dans les sorties. Et ça a été vraiment très appréciable.

Je tenais également à remercier Maxime. Étant son parrain de thèse, je pense être légitime à le critiquer. Il m'a déçu plusieurs fois d'abord en passant de l'UMR PIAF à l'UMR GDEC (pour du blé, quelle idée ?), pour son pull démodé des Sonics dont on attend toujours le retour. Malgré ces épisodes gravissimes, le suivant depuis son stage de M2 où j'ai eu l'opportunité de partager, ça a été l'une des plus belles rencontres de ma thèse. Des moments en terrasse, au bar, en pause-café, à la soirée fléchette chez toi en les balançant par la fenêtre... bref, oublions ce passage. Tu es une très belle personne, sache le, qui mérite d'être ici.

Enfin, je tiens à remercier Aldo. Sans le savoir, nous avons suivi le même module de l'école doctorale sur Les brevets. Module étant tout à fait intéressant à mes yeux et absolument pas long. Grâce à toi, j'ai gagné de l'expérience au niveau linguistique avec l'apprentissage de nombreux mots et insultes en espagnol.

Plus généralement, je tiens à remercier également Tsiky, Erwan, Mahaut, Arnoul, Arnaud, Florian, Cyril, Virgile, Vassanti, Nicolas, Lucas, Elizabeth, Lucie, Bastien, Kinza, Alexandre, Marylou, Marianne, Ludovic, Caroline. Merci pour tout.

Enfin, un merci à ma famille. Je pense tout d'abord à ma mère et mon beau-père, Joelle et Gérard, qui ont toujours été là pour moi, dans les bons et mauvais moments. Avec qui j'ai dû traverser des moments très compliqués, et qui ont toujours là pour moi. Un grand merci également à mon grand frère Fabien, et toute sa petite famille avec Adeline (Léana, Paul et Louise, mes nièces et neveu), d'avoir été à l'écoute, été là en toute circonstances.

Enfin, et c'est quelque chose d'important pour moi, je dédie tout mon travail à mon père et oncle partis beaucoup trop tôt dans une vie d'un jeune adolescent, Jean-Claude et Guy.

Résumé

Les arbres, dans leur environnement, subissent de nombreuses perturbations pouvant altérer leur posture et architecture. Cette altération peut engendrer des phénomènes d'inclinaison chez les arbres ou de verse chez les graminées notamment par le biais du vent ou de la pluie. Dans un contexte de changement climatique, ces conséquences seront d'autant plus importantes. Pour la rectifier, les plantes sont capables de mettre en place des mouvements actifs tropiques, induits par des stimuli environnementaux tels que la gravité et la lumière. Ces mécanismes sont impliqués dans le contrôle postural. La réponse de la tige implique non seulement un mouvement de courbure vers le haut, mais aussi une autorégulation permettant de contrebalancer les courbures. Ces deux phases permettent à la plante de restaurer sa posture. Cette autorégulation est possible via l'autotropisme, lié à la perception de sa propre forme. On parle alors de proprioception. Au cours de cette travaux de thèse, l'utilisation d'un dispositif expérimental original et innovant nous ont permis d'étudier spécifiquement l'autotropisme et d'analyser les mécanismes sous-jacents de ce tropisme et plus généralement du contrôle postural chez le blé et le peuplier (pilotage des mouvements par le modèle AC). L'étude de la cinématique de mouvement, en condition autotropique stricte, a démontré que le peuplier et le blé montrent des mouvements actifs de décourbure. Chez le peuplier, ce retour est permis par la production de bois de tension sur la face inférieure de la tige, remettant en cause la définition historique de la formation de ce bois spécialisé. Dans les travaux de cette thèse, et pour la première fois, la capacité proprioceptive du blé a été démontrée. Notre dispositif permet également de quantifier les sensibilités graviperceptives et proprioceptives ainsi que le nombre B pour la première fois. De plus, l'analyse de la cinématique du blé a montré que le redressement est réalisé par l'action des pulvini, avec une activité de courbure qui décroît en fonction du stade de développement et de la position du pulvinus sur la talle. Ces différences sont expliquées par l'état de lignification notamment. En effet, nous montrons que l'état de lignification progresse au fil du stade de développement et bloque petit à petit l'activité des pulvini lorsque la lignification est conséquente. Enfin, nous montrons l'implication d'un gradient d'auxine dans cette structure au niveau des pulvini montrant une importante activité de courbure.

Mots-clefs : Contrôle Postural – Bois de Tension – Pulvinus – Autotropisme – Anatomie – Proprioception - Auxine

Abstract

Trees, in their environment, undergo numerous disturbances that can alter their posture and architecture. This alteration can lead to tilting in trees or lodging in grasses, particularly due to wind or rain. In the context of climate change, these consequences will be even more significant. To rectify this, plants are capable of implementing active tropic movements induced by environmental stimuli such as gravity and light. These mechanisms are involved in postural control. The stem's response involves not only an upward bending movement but also self-regulation to counterbalance the bends. These two phases enable the plant to restore its posture. This self-regulation is possible through autotropism, linked to the perception of its own shape, known as proprioception. During this thesis work, the use of an original and innovative experimental device allowed us to specifically study autotropism and analyze the underlying mechanisms of this tropism and postural control in wheat and poplar (movement control by the AC model). The study of movement kinematics, under strict autotropic conditions, demonstrated that poplar and wheat exhibit active movements to return to straightness. In poplar, this return is facilitated by the production of tension wood on the lower side of the stem, challenging the historical definition of the formation of this specialized wood. In this thesis work, and for the first time, the proprioceptive capacity of wheat has been demonstrated. Our device also allows the quantification of graviperceptive and proprioceptive sensitivities as well as the B number for the first time. Furthermore, the analysis of wheat kinematics showed that straightening is achieved by the action of pulvini, with a bending activity that decreases depending on the developmental stage and the position of the pulvinus on the stem. These differences are explained by the lignification state, showing that lignification progresses throughout the developmental stage and gradually blocks pulvinus activity when lignification is substantial. Finally, we demonstrate the involvement of an auxin gradient in this structure at the pulvinus level, indicating significant bending activity.

Keywords : Postural Control – Tension Wood – Pulvinus – Autotropism – Anatomy – Proprioception – Auxin

Table des matières

Remerciements.....	1
Résumé.....	5
Abstract.....	6
Table des matières.....	7
Index des figures.....	12
Index des équations.....	16
Index des tableaux.....	18
Liste des abréviations.....	19
Introduction.....	20
Chapitre I : Synthèse Bibliographique.....	25
I/ Approche biomécanique du contrôle postural.....	27
1) Les mouvements tropique : une approche biomécanique.....	27
A. Géométrie de la forme d'un axe.....	27
B. Cinématique du mouvement : quantification et terminologie.....	29
C. Les sollicitations mécaniques subies par les axes et leurs conséquences mécaniques et mécanobiologiques.....	31
2) Tropismes et contrôle postural : une vue en détail de la boucle de régulation sensori-motrice.....	32
A. La composante perceptive du contrôle postural.....	32
B. La composante motrice du contrôle postural.....	33
C. Intégration des tropismes : Posture control loop.....	34
3) Modélisation du contrôle postural.....	35
A. Le modèle « Angle » - Modèle A.....	36
B. Le modèle « Angle et Courbure » - Modèle AC.....	37
C. Les modèles combinant les composantes perceptives et motrices.....	39
II/ La composante perception du contrôle postural.....	40
1) Le phototropisme : perception du signal lumineux.....	40
A. Mécanismes moléculaires de la perception du signal lumineux.....	41
1. Phototropines 1 et 2 : Photorécepteurs de la lumière bleue.....	41
i. Structure, découverte et composition.....	41
ii. Autophosphorylation du domaine kinase : Étape clé de la perception et de la voie de transduction.....	43
2. Les autres récepteurs.....	43

B. Signalisation cellulaire.....	44
C. Rôle spécifique des hormones dans la transduction du signal phototropique.....	45
2) Le gravitropisme : perception du signal gravitropique	45
A. Perception du signal gravitropique.....	46
1. Les statocytes : capteur de position.....	46
i. Localisation des statocytes.....	46
ii. Rôle et impact des statolithes.....	47
iii. Les modèles de perception.....	48
2. Rôle du cytosquelette dans la perception gravitropique.....	50
B. Signalisation cellulaire de la voie de transduction lié au gravitropisme.....	51
1. Rôle des hormones.....	51
2. Signalisation lipidique dans la réponse gravitropique.....	52
i. Phosphoinositide-specific phospholipase C et inositol-3-phosphate.....	52
ii. Phosphatidylinositol phosphate kinases et Phospholipase D.....	53
3. Calcium.....	53
4. Déphosphorylation / phosphorylation des protéines.....	54
5. pH.....	56
6. ROS.....	56
3) L'autotropisme : perception de sa propre courbure	57
A. Perception du signal.....	58
1. Hypothèse du cytosquelette.....	58
2. LOCUS ELKAMI : Hypothèse de la proprioception verticale.....	60
B. Transduction du signal.....	60
III/ L'auxine : Régulateur du contrôle postural.....	61
1) Rôle de l'auxine dans la voie de signalisation à la suite de la perception des signaux	61
A. Les transporteurs de l'auxine.....	62
B. Mise en évidence du rôle de l'auxine.....	64
1. Phototropisme.....	64
2. Gravitropisme.....	65
C. Impact de l'auxine sur la mise en place des mouvements.....	66
1. Dans le cadre de l'élongation différentielle des organes en croissance primaire.....	66
2. Dans le cadre du moteur en croissance secondaire.....	67
3. Dans le cadre d'une structure spécialisée des Poacées : le Pulvinus.....	68

IV/ Les moteurs du contrôle postural.....	69
1) Moteur en zone d'élongation : implication de la croissance différentielle et de la pression de turgescence	70
A. Moteurs des mouvements : Élongation différentielle et pression de turgescence	70
B. Cas des zones en croissance primaire des ligneux.....	71
2) Moteur en dehors de la zone d'élongation : Moteur par croissance secondaire par production de bois de réaction.....	72
A. La croissance radiale chez les arbres	72
1. Formation du bois chez les angiospermes.....	73
2. Anatomie du bois chez les angiospermes.....	73
3. Hormones impliquées dans la formation du bois	75
4. Gènes impliqués dans la formation du bois.....	76
B. Bois spécialisé permettant les mouvements : Le bois de tension.....	77
1. Anatomie du bois de tension	78
i. Caractéristiques anatomiques des fibres du bois de tension	78
ii. Focus sur les fibres à couche G.....	78
2. Gènes impliqués dans la formation du bois de tension	79
3. Rôle des hormones dans la formation du bois de tension	80
4. Fonctionnement du bois de tension comme moteur.....	83
i. Modèle de Fournier.....	83
ii. Les contraintes de traction des fibres gélatineuses permettant le mouvement	86
iii. Hypothèses et modèles de la génération des contraintes.....	86
C. Rôle de l'écorce comme force motrice chez les ligneux.....	90
3) Moteur en dehors de la zone d'élongation : Moteur par croissance différentielle sur une zone particulière et localisée : le Pulvinus chez les Poacées.....	91
A. Anatomie du pulvinus	91
1. Découverte de cette structure	91
2. Anatomie interne du pulvinus	92
i. La gaine parenchymateuse	93
ii. Les amas de fibres collenchymateuses.....	94
iii. Les statolithes.....	96
B. Fonctionnement du moteur pulvinus.....	96
1. Phase de maturation et développement du pulvinus.....	96
2. Cinématique de courbure des tiges de graminées <i>via</i> les pulvini.....	97
3. Fonctionnement interne du pulvinus lors du redressement après inclinaison .	98

i.	Rôle des gènes.....	99
ii.	Dynamique hormonale dans le pulvinus	100
iii.	Les voies de signalisation biochimiques	101
iv.	Développement du pulvinus et de sa compétence sensorimotrice ...	104
Objectifs de thèse.....		105
Chapitre II : Mécanismes sous-jacents au redressement gravi- et autotropique du peuplier.....		109
Autotropism Drives Active Movements Through Tension Wood Formation, Unveiling the Balance Between Graviperceptive and Proprioceptive Sensitivities (Caulus et al., non publié).....		111
Chapitre III : Mécanismes sous-jacents au redressement gravi- et autotropique du blé		149
I/ Matériel et Méthodes.....		157
1) Matériel végétal et conditions de culture.....		157
2) Méthodes d'analyses et protocoles		160
A. Étude de la cinématique de redressement		160
1. Dispositifs expérimentaux et prise de vue.....		160
2. Traitements d'images et phénotypage assisté par modèle au moyen du logiciel Interekt.....		162
3. Analyse de la cinématique des mouvements du blé : Courbure des pulvini .		163
B. Étude de l'état de lignification du pulvinus		166
1. Protocole expérimental.....		166
2. Méthode d'analyse.....		168
C. Suivi de l'auxine au sein des pulvini en réponse à la gravistimulation		170
1. Dosage de l'indole-3-acetic acid : protocole expérimental		170
2. Immunolocalisation de l'auxine		171
3. Analyse statistique des données de dosage		173
D. Étude de l'allongement des fibres au sein d'un pulvinus stimulé.....		174
1. Protocole expérimental.....		174
2. Méthode d'analyse.....		175
II/ Résultats		176
1) Étude de la cinématique de redressement du blé en serre.....		176
A. Analyse de l'angle au bout des talles de blé		176

B. Évolution de la variation de courbure.....	179
1. Comparaison entre nos deux génotypes.....	179
2. Comparaison de la variation de courbure au niveau de chaque pulvinus ...	180
i. Pulvinus Basal.....	182
ii. Pulvinus Médian	183
iii. Pulvinus Apical.....	185
iv. Conclusion	185
2) Allongement des fibres collenchymateuses	186
A. Entre la face supérieure et inférieure du pulvinus basal	186
B. Entre la face supérieure et inférieure du pulvinus médian.....	187
3) Étude de l’auxine chez un pulvinus gravistimulé	188
A. Dosage de l’indole-3-acetic acid.....	188
B. Immunolocalisation de l’auxine.....	190
4) Capacité proprioceptive chez le blé	191
5) Étude de l’état de lignification des fibres collenchymateuses et de son impact lors de la phase de courbure vers le haut du blé.....	193
A. Rôle de la lignification des fibres collenchymateuses dans la courbure des pulvini	193
B. Effet de la gravistimulation sur la lignification des amas de fibres collenchymateuses	195
1. Pulvinus apical et médian	195
2. Pulvinus basal	195
III/ Discussion du chapitre III.....	199
Discussion générale	213
Bibliographie.....	227

Index des figures

Manuscrit :

Figure 1 : Représentation schématique de la courbure comme le taux de variation d'angle par unité de longueur, $C = dA/dS$ (p.28)

Figure 2 : Représentation de l'utilisation de l'angle au bout pour caractériser le redressement (p.29)

Figure 3 : Représentation dynamique de la composante perceptive du contrôle postural (p.33)

Figure 4 : Représentation dynamique de la composante motrice du contrôle postural (p.33)

Figure 5 : Représentation dynamique du contrôle postural (p.34)

Figure 6 : Évolution de la forme du tronc durant le redressement (p.35)

Figure 7 : Représentation du modèle graviperceptif ou modèle A (Angle) (a.) et du modèle graviproprioceptif AC (Angle & Courbure) (b.) (p.38)

Figure 8 : Distribution des photorécepteurs en fonction de la longueur d'onde de la lumière (p.41)

Figure 9 : Structure typique d'une phototropine (p.42)

Figure 10 : Mode d'activation des phototropines par la lumière (p.43)

Figure 11 : Modèle et chronologie des premières étapes de la signalisation menant au phototropisme (p.44)

Figure 12 : Mise en évidence des statolithes au niveau racinaire (p.47)

Figure 13 : Évolution de la sensibilité gravitropique en fonction de la force de la gravité (p.50)

Figure 14 : Suivi de l'activité des kinases dans un pulvinus de maïs à la suite d'une gravistimulation sur un suivi temporel de gravistimulation (p.55)

Figure 15 : Altération de la posture des inflorescences d'*Arabidopsis thaliana* avec des mutations en lien avec les filaments d'actine (p.59)

Figure 16 : Fonctions distinctes entre les ABCB et les Pin dans le transport de l'auxine (p.62)

Figure 17 : Schéma des étapes de la réponse phototropique, de la perception de la lumière à la flexion des organes (p.65)

Figure 18 : Effet de la stimulation gravitropique sur les teneurs en auxine (p.69)

Figure 19 : Courbure de la zone en croissance en primaire des tiges de peupliers (p.72)

Figure 20 : Coupe transversale d'une tige de peuplier (p.74)

Figure 21 : Paroi secondaire d'une fibre de bois de *Populus deltoides* au microscope à transmission (p.75)

Figure 22 : Anatomie du bois de tension à couche G (p.79)

Figure 23 : Modèle de référence pour une section excentrique hétérogène de diamètre D soumise à un accroissement de diamètre dD (p.84)

Figure 24 : Hypothèses de la génération des contraintes de tension dans les fibres à couche G (p.87)

Figure 25 : Modèle de la formation en treillis des microfibrilles de cellulose dans une paroi secondaire chez le bambou (p.88)

Figure 26 : Structure du pulvinus, élément percepteur et moteur chez les Poacées (p.92)

Figure 27 : Anatomie interne du pulvinus de blé (p.93)

Figure 28 : Coupe transversale de pulvinus de blé avec une coloration lugol (p.95)

Figure 29 : Coupe anatomique du pulvinus de *maïs* présentant les faisceaux vasculaires, les cellules collenchymateuses et les grains d'amyloplastés (p.95)

Figure 30 : Impact d'un inhibiteur OA sur la courbure gravitropique (a.) et sur la teneur en amidon (b.) (p.96)

Figure 31 : Allongement amas fibres collenchymateuses et parenchymes entre face supérieure et inférieure d'un pulvinus de maïs (p.98)

Figure 32 : Effet de la stimulation gravitropique sur les teneurs en GA au sein des pulvinus d'orge (p.100)

Figure 33 : Graminées défaillantes au niveau de la courbure gravitropique (p.101)

Figure 34 : Hypothèse d'un modèle expliquant les voies de signalisation et les premières phase au sein du pulvinus lors d'une stimulation gravitropique, ici chez le maïs (p.103)

Figure 35 : Structure cellulaire et organisation du cytosquelette dans le pulvinus de maïs non stimulé (A) et gravistimulé (B). (p.104)

Article Scientifique :

Figure 1: Experimental setup for studying gravitropic and autotropic straightening of trees. (p.118)

Figure 2: Treatment applied to individuals in the T-tree (a.) or TtC-Tree (b.) condition. (p.119)

Figure 3: Method for measuring the G-layer thickness of tension wood fibers. (p.126)

Figure 4: Protocol for measuring the MFA of tension wood in poplar stems. (a) Determination of the 002 arc intensity from the diffraction pattern of a sample (p.127)

Figure 5: Kinematics of movement between control and clinostated individuals. (p.129)

Figure 6: Evolution of kinematic parameters between section 1 and section 3 of a clinostatic individual. (p.131)

Figure 7: Histological analysis of tension wood formation in poplar stems. (p.134)

Figure 8: Analysis of curvature variation (logarithm) versus time for the decurvature phase. (p.137)

Figure 9: Analysis of curvature variation versus time for the decurvature phase. (p.138)

Figure 10: Estimation of graviperceptive (a) and proprioceptive (b) sensitivities for section 1 and section 3 (p.139)

Manuscrit :

Figure 36 : Redressement des pulvini en degrés en fonction du temps thermique (p.156)

Figure 37 : Stade demi-épiaison d'une talle de blé (p.158)

Figure 38: Dispositif expérimental du blé en serre (p.159)

Figure 39 : Étude de la capacité proprioceptive du blé en sphère (p.161)

Figure 40 : Évolution de la forme du talle de blé au cours du temps. Exemple du génotype EM (p.163)

Figure 41 : Calcul des angles géométriques, longueurs du pulvinus de blé et angle supplémentaires (p.164)

Figure 42 : Méthode de quantification qualitative de l'état de lignification des amas de fibres collenchymateuses sur une coupe transversale de pulvinus de blé (p.169)

Figure 43 : Amas collenchymateux du pulvinus de blé (p.170)

Figure 44 : Isolement des fibres collenchymateuses du pulvinus (p.175)

Figure 45 : Cinétique d'évolution du redressement du talle de blé du génotype EM (temps exprimé en temps thermique) (p.176)

Figure 46 : Cinétique de l'évolution du redressement des talles de blé du génotype D (temps exprimé en temps thermique) (p.177)

Figure 47 : Effet du stade de développement et du génotype sur l'évolution de l'angle au bout du talle de blé (p.178)

Figure 48 : Effet du stade de développement du talle de blé au moment de la verse sur sa capacité de redressement (p.179)

Figure 49 : Effet du stade de développement du talle de blé au moment de la verse sur la variation de courbure des pulvini (p.180)

Figure 50 : Longueur des pulvini et angle d'inclinaison initiale des talles de blé (p.181)

Figure 51 : Variation de courbure (cm^{-1}) en fonction du temps thermique ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{J}$) du pulvinus basal en fonction du génotype (EM ou D) aux 3 stades de développement étudiés (p.182)

Figure 52 : Variation de courbure (cm^{-1}) en fonction du temps thermique ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{J}$) du pulvinus médian en fonction du génotype, aux 3 stades de développement étudiés (p.183)

Figure 53 : Variation de courbure (cm^{-1}) en fonction du temps thermique ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{J}$) du pulvinus apical en fonction du génotype EM ou D aux 3 stades de développement étudiés (p.185)

Figure 54 : Analyse de la longueur des fibres collenchymateuses entre la face supérieure et inférieure des pulvini basaux. (p.187)

Figure 55 : Analyse de la longueur des fibres collenchymateuses entre la face supérieure et inférieure des pulvini médians (p.188)

Figure 56 : Quantification de l'auxine en fonction de la face du pulvinus chez le blé (p.189)

Figure 57 : Immunolocalisation de l'auxine au sein des pulvini de talle versé du génotype EM (p.190)

Figure 58 : Etude de la capacité proprioceptive du talle de blé (p.191)

Figure 59 : Variation de courbure (cm^{-1}) en fonction du temps thermique ($^{\circ}\text{C}/\text{J}$) des 2 pulvinis en fonction de nos deux génotypes (p.193)

Figure 60 : État de lignification des amas de fibres collenchymateuses du pulvinus en fonction du génotype, de la position du pulvinus sur la talle et du stade de développement (p.194)

Figure 61 : État de lignification des amas du pulvinus basal en fonction du génotype et du stade de développement (p.196)

Figure 62 : Comparaison de l'état de lignification des amas de fibres entre la face inférieure et supérieure du pulvinus basal en fonction du génotype et du stade de développement (p.197)

Figure 63 : Coupes anatomiques de l'état de lignification des pulvini pour le génotype EM (a. à h.) et le génotype D (i. à p.) (p.198)

Figure 64 : Évaluation du redressement du pulvinus apical au stade J+7 du génotype D au sein du modèle gravi-proprioceptif AC (p.201)

Figure 65 : Hypothèse de modèle régulant l'activité de courbure des pulvini du génotype EM (p.203)

Figure 66 : Hypothèse de modèle régulant l'activité de courbure des pulvini du génotype D (p.204)

Figure 67 : Hypothèses des deux stratégies de courbure du pulvinus basal à la suite d'un gravistimulation (p.209)

Index des équations

Manuscrit :

Équation 1a : Forme de la plante via la distribution de l'angle $A(s,t)$ et la courbure $C(s)$ (p.28)

Équation 2 : Équation de la courbure (p.28)

Équation 1b : Équation de « l'angle de courbure » (p.30)

Équation 3 : Équation du modèle A (p.36)

Équation 4a : Équations du modèle AC (p.37-113-120)

Équation 4b : Équation du nombre B (p.38)

Équation 5 : Équation du modèle ACE (p.39)

Équation 6 : Pression de turgescence (p.71)

Équation 7 : Contrainte de maturation moyenne (p.84)

Équation 8 : Distribution du modèle d'élasticité générale (p.84)

Équation 9 : Distribution du modèle d'élasticité appliqué au moteur bois de tension (p.84)

Équation 10 : Épaisseur de l'anneau dR (p.85)

Équation 11 : Moment de flexion généré par la maturation d'un incrément de croissance (p.85)

Équation 12 : Taux de correction gravitropique (p.85)

Équation 13 : Efficacité du processus de maturation de l'incrément (p.85)

Équation 14 : Facteur f (p.85)

Article Scientifique :

Équation 4 et 5 : Équation de la courbure moyennée spatialement de la tige (p.121)

Équation 6 : Évolution de la courbure moyenne sur une section de l'arbre (p.121)

Équation 7 : Courbe de C avec la pente β (p.121)

Équation 8 : Estimation de la sensibilité proprioceptive à partir du modèle AC (p.121)

Équation 9 : Dérivée de la logarithme népérienne pour la phase de décourbure (p.122)

Équation 11-12-13-14 : Équation du modèle de Fournier (p.123)

Équation 15-16 : Équation du temps RDD (p.124)

Manuscrit :

Équation 15&16 : Calculer de l'angle moyen avant (15) et après (16) le pulvinus (p.165)

Équation 17 : Équation de la courbure du pulvinus (p.165)

Équation 18 : Calcul de la variation de courbure du pulvinus (p.165)

Équation 19 : Calcul du temps thermique (p.165)

Index des tableaux

Manuscrit :

Tableau I : Longueur des fibres collenchymateuses (en μm) en fonction de la face, du génotype et de la position du pulvinus sur la talle de blé à la suite d'une inclinaison de 2 jours au stade J+7 (p.186)

Article Scientifique :

Tableau I : Quantification of the graviperceptive sensitivity according to the different times (p.136)

Tableau II : Quantification of the proprioceptive sensitivity according to the different times (p.137)

Tableau III : Comparison of the number balance B in poplar (p.142)

Liste des abréviations

ABP	Auxin binding protein	RNC1	Reticulocalbin-1
ACT8	Actine8	Sgr1/scr1	shoot gravitropism/scarecrow
BAK1	Bri1-Associated Kinase 1	TBS	Tris-Buffered Saline
CMT	Microtubules corticaux	TIR1	Transport Inhibitor Response 1
DAG	Diacylglycérol	UV	Ultraviolet
FMN	Flavin Mononucléotide	XET	Xyloglucanes hydrolases
GA	Gibbérellines	gDW	gram by dry weight
GIEC	Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat		
GSA	Gravity Set-Point Angle		
IAA	Indole-3-Acetic Acid		
kDa	Kilodalton		
MAP	Mitogen-activated protein		
MFA	MicroFibril Angle		
MECA	Bio-Mécanique Intégrative de l'Arbre		
MOE	Module d'élasticité de Young		
NIMA	Never In Mitosis A-related kinase 6 (NEK6)		
Nph	no phototropic hypocotyls		
PAR	Photosynthetically Active Radiation		
PBS	Phosphate-Buffered Saline		
PGM	Phosphoglucomutase		
Phot1/2	Phototropines 1 et 2		
phyA,B,C	Phytochromes A, B, C		
PI-PLC	Phosphoinositide specific phospholipase C		
PIP2	Phosphatidylinositol monophosphate 5-kinase		
QSP	Quantité suffisante pour		
R/FR	Red/Far Red		

Introduction

Le laboratoire d'accueil de cette thèse est l'UMR PIAF (Physique et Physiologie Intégrative de l'Arbre en environnement fluctuant) à Clermont-Ferrand. Ce laboratoire, fort d'une expérience de 35 ans, se démarque par une interdisciplinarité alliant notamment physique et biologie. Cette interdisciplinarité a permis de faire émerger ce laboratoire au très haut niveau scientifique dans le cadre de l'étude de l'arbre face au changement climatique. Les principales thématiques de recherche portent sur la sécheresse des forêts et l'arbre face au vent.

Ma thèse s'est déroulée au sein de l'équipe MECA (bioMECAnique intégrative de l'arbre), équipe fortement interdisciplinaire pour étudier la réponse des arbres au vent et à la gravité. Nos recherches ont pour but de répondre à la question suivante : Comment les arbres font-ils pour tenir debout alors qu'ils développent et mettent en place leur architecture dans un environnement mécanique très fluctuant ?

Ce travail a été réalisé sur deux sites proches de l'agglomération clermontoise, avec 2 dispositifs expérimentaux distincts permettant d'étudier nos deux espèces en fonction de conditions tropiques différentes. J'ai participé à la mise en place des expérimentations, leur suivi et à l'analyse de plusieurs paramètres mettant en œuvre différentes approches à l'aide importante du personnel ingénieur et technique du laboratoire.

Les végétaux sont des organismes sessiles, et la vie fixée est une contrainte majeure qui implique une dépendance des plantes aux conditions de leur environnement proche. Elles peuvent être la cible de nombreuses perturbations pouvant être de nature externe (comme le vent, la pluie, l'ensoleillement ou la neige) mais aussi de nature interne (différences de croissances cellulaires entraînant des contraintes mécaniques internes). Pour se développer et survivre dans cet environnement fluctuant, les plantes doivent avoir la possibilité de percevoir les signaux des différentes perturbations de leur milieu proche, mais aussi d'y apporter des réponses adéquates par des modifications anatomiques, biochimiques ou moléculaires.

L'une des perturbations majeures pour les plantes est l'effet du vent. Le climat venteux est très hétérogène sur le globe, avec des habitats très exposés et d'autres plus abrités et protégés. En un même lieu, on peut observer une alternance météorologique d'épisodes calmes puis ventés, avec des intensités elles-mêmes variables allant de la simple brise à la tempête déchaînée. Cette exposition au vent peut changer au cours de la vie d'une plante. Soit parce que son environnement proche est modifié par la présence d'un relief ou par d'autres d'arbres soit car

sa nouvelle architecture et posture l'expose plus aux vents (Moulia et al., 2006). Ces nombreuses perturbations ont engendré le développement chez les plantes de mécanismes de résistance et de résilience aux effets mécaniques provoqués par le vent, qui sont cruciaux pour leur survie (Eloy et al., 2017).

Cette thèse s'inscrit également dans un contexte de changement climatique mondial, qui entraînera d'importantes et nombreuses modifications du climat. Le premier élément est la hausse des températures au niveau du globe. Les différentes modélisations provenant des derniers rapports du GIEC montrent une hausse entre 2°C et 7°C en fonction des scénarios. Cette hausse sera accompagnée par un changement du régime global de précipitation. Certaines régions de la Terre, proche de l'équateur et des tropiques verront une hausse des précipitations. À contrario, dans les zones tempérées, les précipitations seront en baisse. Ces deux éléments engendreront des canicules et sécheresses importantes.

Mais ces deux composantes ne seront pas les seules à être modifiées par le dérèglement climatique. Dans les prochaines décennies, les vents et tempêtes subiront des modifications en termes de fréquence et d'intensité. Durant ces épisodes météorologiques venteux, les principales conséquences seront une hausse importante des précipitations et des vents de plus grande intensité. Comme pour la température et les précipitations, les modèles prédisent des disparités régionales. Dans les zones tempérées, on constatera une augmentation du risque de tempêtes, notamment en dehors de la saison hivernale, pendant des périodes plus inhabituelles comme le printemps ou l'été. Le risque de cyclones extratropicaux pour les zones tempérées, c'est-à-dire des cyclones se développant entre la ligne des tropiques et le cercle polaire, augmentera de façon significative. Ces modifications majeures du régime des vents et tempêtes apporteront des perturbations mécaniques beaucoup plus fortes, nombreuses et fréquentes pour les végétaux. Ces derniers étant des organismes fixés, ils subiront de plein fouet ces modifications. L'impact de ces phénomènes sur les végétaux sont multiples et touchent de nombreux aspects. D'un point de vue sociétal et agricole, les pertes de rendement des grandes cultures (comme le blé par exemple) provoquées par le vent augmenteront significativement et pourront provoquer des crises alimentaires voire géopolitiques. Les dégâts provoqués par les tempêtes hivernales sont à l'origine de la perte de production sur plusieurs millions d'hectares chaque année en Europe de l'Ouest et Centrale (Doll et al., 2000). Les arbres de plantation n'échappent pas à cette réalité ; pour le peuplier, le Conseil National du Peuplier enregistre une perte d'environ 1000 hectares en 2023. À l'échelle d'un individu, l'altération de la posture provoquée par le vent affectera son développement et sa possibilité de survivre dans son milieu.

Il est donc nécessaire de mieux comprendre comment les plantes peuvent rectifier leur posture après une perturbation et quels sont les mécanismes qui y participent.

Le vent provoque 3 conséquences mécaniques différentes au niveau de la plante. La première est que l'individu peut osciller de manière élastique, sans rompre, avec un aspect réversible. Dans ce cas, l'impact de la perturbation est limité avec une acclimatation des arbres par une augmentation de la croissance radiale, une réduction de la croissance en hauteur et une modification de la qualité du bois. La seconde conséquence est que la posture et son architecture sont altérées significativement, d'une manière réversible ou non en fonction de l'espèce et de l'intensité de la perturbation. Dans ce cas, les arbres subissent une inclinaison et les graminées une verse. Enfin, la dernière conséquence, est la casse possible à divers emplacements de l'arbre (branches, troncs, racines). Pour les arbres forestiers, on parle de volis pour la casse du tronc et de chablis pour le déracinement.

Les connaissances scientifiques concernant les réponses des plantes face à une altération de leur posture montrent que ces organismes peuvent mettre en œuvre deux stratégies distinctes : la résistance ou la résilience. Dans le premier cas, la résistance est une stratégie qui implique des mécanismes permettant à la plante de résister à la perturbation, de la supporter sans altération de la posture. Le phénomène de résilience permet à la plante de restaurer sa posture et ses fonctions de son état de référence après la perturbation, avec une altération de la posture transitoire. À ce jour, il n'est pas encore clairement établi quel mécanisme, entre la résistance et la résilience, est privilégié par les plantes en réponse à une altération de leur posture. Par exemple, en vieillissant, l'arbre devient de plus en plus massif et rigide, et ne peut plus se redresser s'il subit une perturbation importante. Dans ce cas, le phénomène de résilience n'est plus possible car la force motrice des mouvements de l'arbre a atteint sa limite de fonctionnement. Au cours de la vie d'un individu, les deux stratégies pourraient au final être mise en œuvre de façon simultanée, ou l'une après l'autre en fonction du stade de développement ou des conditions environnementales.

L'étude de la résilience est étroitement liée avec celle du contrôle postural. Chez l'Homme, le contrôle postural est la base de l'ensemble des activités motrices. Chez les plantes, le contrôle postural implique l'ensemble des mécanismes permettant la redirection de la croissance des organes végétaux. Ces mécanismes sont nommés tropismes. Les réorientations tropiques sont une forme de motricité active spécifiques aux plantes, permettant la reconfiguration de l'architecture existante et l'orientation de l'incrément de croissance. Mais ici, les moteurs ne

sont pas des muscles, mais des modes de croissance et de différenciation des tissus. Le contrôle de ces mouvements est lié à la perception des différents signaux. Ceux-ci peuvent être de nature externe à la plante (orientation du signal lumineux pour le phototropisme, le vecteur de gravité pour le gravitropisme, l'eau pour l'hydrotropisme), mais aussi de nature interne (sa propre courbure pour l'autotropisme). Les connaissances scientifiques ne sont pas homogènes en fonction des tropismes. Historiquement, le gravitropisme et le phototropisme ont été les principaux tropismes étudiés, notamment grâce aux premières expérimentations de Darwin au 19^{ème} siècle. Ces deux tropismes ont d'abord été désignés comme étant les principaux tropismes participant au contrôle postural.

En 2013, une approche combinant de la modélisation mathématique et des expérimentations dédiées incluant un suivi de la cinématique de mouvement et des signaux perçus a montré que l'autotropisme avait un rôle essentiel au sein du contrôle postural (Bastien et al., 2013).

Ma thèse a pour objectif d'approfondir nos connaissances concernant les mécanismes impliqués dans le rétablissement de la posture suite à une perturbation, avec un focus sur l'autotropisme. Les mouvements liés à ce tropisme sont encore peu connus. Les principales connaissances proviennent des parties racinaires. La résilience a été suivie sur 2 plantes modèles angiospermes. La première est une plante dicotylédone ligneuse de la famille des Salicacées, le peuplier (hybride *Populus tremula x Populus alba*) qui est une espèce modèle pour la génomique et dans notre laboratoire pour les travaux concernant l'arbre. Le second modèle est une plante monocotylédone de la famille des Poacées, le blé (*Triticum aestivum*). Ces deux plantes représentent au sein des angiospermes terrestres deux types architecturaux et morphologiques très contrastés. Elles utilisent le contrôle postural pour restaurer leur architecture et posture, avec des mécanismes de régulation et perception probablement identiques mais peu caractérisés. Les mécanismes moteurs entre nos deux modèles sont différents : bois de tension chez le peuplier avec un système continu et les pulvini chez le blé avec un système articulé (Moullia et al., 2006). Dans cette thèse, la caractérisation de la cinématique et des mouvements de rectification de la posture en lien avec les tropismes, notamment l'autotropisme, sera un point essentiel. Pour effectuer cette caractérisation, nous avons utilisé une méthode de référence, qui se compose d'un logiciel permettant de suivre les mouvements de la tige dans le temps et dans l'espace (Hartmann et al., 2022), ainsi que d'un dispositif original et unique constitué de sphères isotropes et agravitropes (Coutand et al., 2019). Outre la caractérisation de la cinématique et des mouvements, les travaux réalisés pendant ma thèse ont eu pour but de mieux caractériser les mécanismes moteurs permettant la restauration de la posture, notamment dans un cadre autotropique stricte.

Pour le peuplier, une analyse approfondie de l'anatomie a été réalisée permettant le suivi de la formation et de la caractérisation du bois de tension, moteur des mouvements chez les ligneux angiospermes. Pour le blé, plusieurs expérimentations ont été réalisées pour approfondir nos connaissances sur le pulvinus, structure permettant le redressement chez les Poacées.

La finalité de cette thèse apporte ainsi des connaissances scientifiques à la fois sur la caractérisation des moteurs permettant la restauration de la posture, mais aussi une meilleure compréhension de l'impact de l'autotropisme sur les plantes.

Ce manuscrit de thèse est composé de trois chapitres. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique amenant l'ensemble des connaissances scientifiques nécessaires pour la compréhension du sujet d'étude. Cette synthèse sera divisée en 4 sous-parties avec d'abord une introduction de la biomécanique des plantes et du contrôle postural, puis un état de l'art de la perception des signaux internes et externes liés aux tropismes chez les végétaux. La troisième sous-partie est un focus sur le rôle régulateur de l'auxine au sein de la composante perceptive et motrice du contrôle postural. Enfin, la dernière sous-partie abordera les différents types de moteurs existants permettant les mouvements dans le monde végétal.

Les deux chapitres suivants seront dédiés aux résultats obtenus durant ma thèse. Le premier chapitre présentera les résultats concernant l'étude du redressement gravitropique et autotropique chez le peuplier. Ces résultats comporteront notamment une étude approfondie de la cinématique de redressement ainsi que la quantification des sensibilités graviperceptives et proprioceptives ainsi que le nombre B. De plus, une analyse anatomique et cytologique poussée de la production du bois de tension durant nos expérimentations a été réalisée. Il sera présenté sous forme d'un article scientifique. Le troisième chapitre portera sur les résultats concernant le blé. Ces résultats décriront le comportement du blé en réponse à une inclinaison mais aussi dans un cadre autotropique stricte. Ce chapitre comportera également des analyses anatomiques du pulvinus, et des études sur les mécanismes pouvant impacter le redressement du blé.

À la suite de ces trois chapitres, une discussion générale reprendra les principaux résultats et ouvrira sur plusieurs voies d'études, sur plusieurs questions et plusieurs perspectives.

Chapitre 1 :

Synthèse Bibliographique

I/ Approche biomécanique du contrôle postural

La recherche d'une architecture stable par les organismes végétaux est un élément clé de leur survie. Les organismes végétaux sont fixés dans leur environnement, et subissent donc de nombreuses perturbations de nature externe ou interne. Ces perturbations peuvent notamment altérer leur posture et engendrer des phénomènes de verse ou d'inclinaison de leur tige ou tronc. Face à cela, les végétaux ont la capacité de percevoir les signaux de ces perturbations et d'adapter leur croissance et leur développement en conséquence. Cette adaptation permet notamment la mise en place et le maintien de cette architecture durant la vie des organismes végétaux. Cette adaptation est un processus clé, qui est le contrôle postural.

Le contrôle postural est la capacité des organismes végétaux à maintenir une architecture stable par régulation de leur croissance *via* la perception des signaux des perturbations de leur environnement. Ce processus agit *via* les tropismes, qui impliquent des redirections de croissance en fonction des signaux internes ou externes à la plante (Esmon et al., 2005). Le contrôle postural comprend une étape de perception, et une phase de réponse motrice de la plante. Ces différentes phases seront détaillées au fil de cette synthèse bibliographique. De plus, il implique une boucle de régulation spatio-temporelle qui n'a pu être mise en évidence que quand on s'est donné des outils de quantification géométrique et d'analyse cinématique et biomécanique.

1) Les mouvements tropiques : une approche biomécanique

A. Géométrie de la forme d'un axe

Définir ce qu'est un axe, ce qu'est une forme et la quantifier est important en biomécanique végétale. La forme d'un axe, par exemple d'une tige ou d'une branche, est définie par sa représentation spatiale (Mouliat et al., 2022). La forme peut être décrite à la fois par la distribution le long de l'axe de l'angle d'inclinaison $A(s)$ par rapport à la verticale et par la distribution de la courbure $C(s)$ (Figure 1), où s est la coordonnée spatiale le long de l'axe (s a été choisi car il est l'initial de « space », et est appelé plus précisément l'abscisse curviligne). Ces deux grandeurs ne sont pas indépendantes. En effet, l'angle est lié au cumul spatial des courbures des segments en amonts, comme explicité dans l'équation :

$$A(s) = A(0) + \int_{\sigma=0}^{\sigma=s} C(\sigma) d\sigma \quad (1a)$$

Avec σ qui est la variable d'intégration fictive décrivant la position spatiale depuis la base de l'axe jusqu'au lieu réel des coordonnées spatiales où l'angle $A(s)$ est calculé. Bien entendu, si $C(s) = 0$, l'axe est droit et son angle est constant, c'est-à-dire que $A(s)=A(0)$ de $s = 0$ à $s = L$. L'angle A est sans dimension, avec une mesure en radian, qui est le rapport entre la longueur de l'arc tangent à la courbure et le rayon de courbure R_c (Figure 1). La courbure (équation 2) peut se définir par le taux de variation de l'angle entre deux positions 1 et 2 (dA), divisé par la longueur de l'arc de cercle tangent à la zone courbée (c'est-à-dire une déviation de sa croissance par rapport à une ligne droite). Cet arc est défini par deux extrémités s et s' aux positions 1 et 2 (avec $s'=s+ds$). La courbure a pour dimension une longueur⁻¹ (Figure 1).

$$C = \frac{dA}{ds} \quad (2)$$

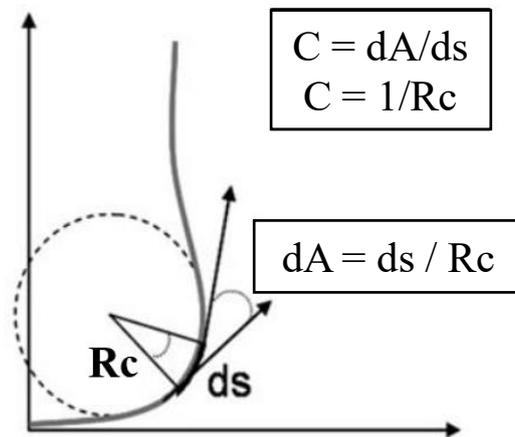


Figure 1 : Représentation schématique de la courbure comme le taux de variation d'angle par unité de longueur, $C = dA/dS$. dA mesuré en radian, est égal à la longueur de l'arc du cercle tangent au point s divisé par le rayon de courbure R_c . dA est sans dimension. La courbure est l'inverse du rayon de courbure et a pour unité l'inverse d'une longueur par exemple cm^{-1} (Repris de Moulia and Fournier, 2009)

Les modifications de l'angle A et de la courbure C vont engendrer une modification de la forme de la tige. Le suivi spatio-temporel de ces modifications est appelé une cinématique (de cinéma = mouvement). Il est généralement effectué par analyse d'image à partir de photographies montées dans un fil accéléré (time-lapse movie) (Hartmann et al., 2022).

B. Cinématique du mouvement : quantification et terminologie

Historiquement, la description des mouvements tropiques des plantes a souvent été faite en suivant la cinétique de l'angle au bout de la tige (avec pour référence la verticale ou l'horizontale). Toutefois, comme décrit par Firn and Digby en 1980 puis par Coutand et al. en 2007, une tige de plante peut atteindre la même valeur d'angle au bout mais avec différents motifs de réorientation (Figure 2) en forme de S (avec une courbure concentrée dans une partie de l'axe) ou en forme de C (avec une courbure concentrée à la base de l'axe). L'étude des tropismes par le biais de la cinétique de l'angle au bout, souvent retenue dans les études biologiques, n'est donc pas suffisante car elle ne décrit pas la cinématique du mouvement globale de l'ensemble de la tige. Pour éviter ce biais, la réponse tropique doit être analysée comme le champ spatio-temporel de courbure $C(s,t)$, c'est-à-dire comme les variations de la courbure dans l'espace (le long de la tige, d'un segment au suivant) et dans le temps (au cours du mouvement) (Coutand et al., 2007).

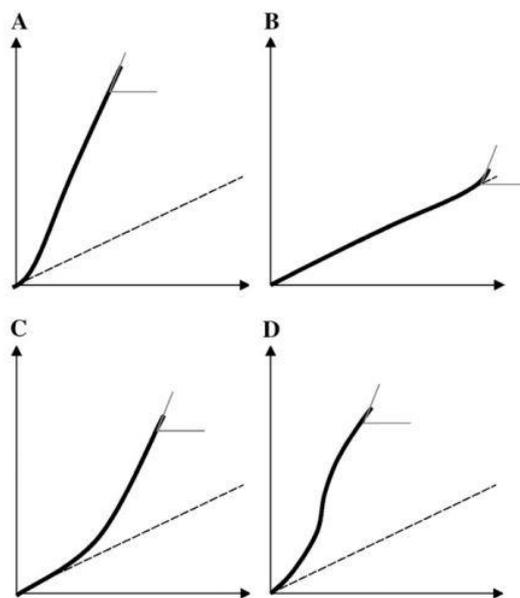


Figure 2 : Représentation de l'utilisation de l'angle au bout pour caractériser le redressement.

La ligne en pointillée représente la forme initiale d'un axe incliné. La ligne noire pleine représente la forme finale observée durant une réponse gravitropique. Les lignes grises montrent l'angle au bout. Les 4 formes conduisent au même angle au bout, avec des réactions gravitropiques différentes le long de l'axe. A et B représentent une forme avec une courbure dans une partie de l'axe (à la base pour A et à l'extrémité pour B), alors que C et D représentent une forme avec une courbure répartie le long de l'axe (Repris de Coutand et al., 2007)

Une autre expression qui est encore d'usage dans la littérature biologique sur les tropismes est celle « d'angle de courbure » ou de « courbure » pour désigner l'angle entre la base et l'apex.

Cet usage traduit la nécessité de prendre en compte le fait que la plante se courbe (et ne s'incline pas). Mais cet « angle de courbure » correspond en fait à la somme des courbures sur toute la longueur L de l'axe :

$$A(s = L) - A(0) = \int_{\sigma=0}^{\sigma=L} C(\sigma) d\sigma \quad (1b)$$

Et pour des axes ayant des longueurs différentes ($L_1 \neq L_2$) à même courbure $C(s)$, on aura des « angles de courbures » différents, ce qui crée de la confusion (par exemple si la courbure est homogène $C(s) = C$, et identique entre les deux axes, traduisant une même action, on aura des « angles de courbure » $A(L_1) - A(0) = L_1 * C$ et $(L_2) - A(0) = L_2 * C$ différents). Cette dénomination doit donc être abandonnée.

La description des cinématiques associées aux tropismes et au contrôle postural nécessite d'ailleurs de préciser un certain nombre de notions, généralement utilisées de façon floue dans le langage courant.

Prenons l'exemple de la courbure. En Français, comme dans la plupart des langues européennes, « courbure » peut désigner un état (ex : la courbure de la Terre) mais aussi un changement d'état (cette tige a subi une courbure sous son poids, ou elle s'est courbé), c'est-à-dire une variation de courbure positive (une flexion). Ceci est lié à une tendance assez forte dans nos sociétés à supposer (souvent à tort en ce qui concerne les formes naturelles) que la forme naturelle des choses allongées est la forme droite, rectiligne (pour une discussion plus approfondie de cette question, voir Moulia et al., 2019). La définition géométrique de la courbure C supprime cette ambiguïté en définissant la courbure comme une variable d'état. Pour le changement d'état, nous parlerons donc de variation de courbure. Pour une variation de courbure négative ramenant l'axe vers une configuration rectiligne (moins courbée), le Français utilise le mot décourbure, qui lui ne présente pas d'ambiguïté. Nous pourrions parler ainsi d'une phase de décourbure pour décrire une période de temps pendant laquelle la courbure se réduit, ce qui est plus léger que l'expression « phase de variation de courbure négative allant jusqu'à l'annulation de la courbure, mais pas au-delà », ou phase de diminution de la courbure. Pour des raisons de concision, nous avons considéré que nous pouvions nous autoriser à parler symétriquement de « phase de courbure » (pour une phase d'augmentation de la courbure), en pensant que comme le syntagme avec « phase de » implique la notion de temporalité, l'ambiguïté était levée. Un problème identique se pose avec l'usage de « droit » et de « rectiligne ». La définition de « droit » s'appliquant à une ligne donnée par le Centre National

de Ressources Textuelles et Lexicales (<https://www.cnrtl.fr/definition/droit>) est « qui ne présente ni angle, ni courbure ». Ainsi une ligne droite peut avoir n'importe quelle orientation. Mais, appliquée à un objet, la définition devient « Debout, dressé, vertical », c'est-à-dire que la référence pour l'angle n'est plus le fait de ne pas faire de coude, mais d'être aligné sur la verticale (pour des raisons anthropomorphiques évidentes). Pour lever cette ambiguïté, nous utiliserons par la suite le mot « rectiligne » (et la propriété associée de « rectitude ») pour décrire précisément une forme ne présentant pas de courbure. Et nous accepterons que « droit » signifie à la fois « rectiligne et dressé vers la verticale ». Les mots « droit » et « rectiligne » désignent par contre sans ambiguïté un état. Pour un processus se traduisant par un retour vers une configuration droite ou rectiligne, on peut parler de « redressement », ou de « rectification ». En cohérence avec les choix sémantiques précédents, nous parlerons de rectification pour un mouvement de décourbure. Le redressement, lui, décrira un « mouvement de variation de courbure qui vise à aligner une partie subapicale plus ou moins longue dans la direction de la verticale (et dans le sens opposé à la gravité) ». Cette désambiguïté des termes cinématiques étant effectuée, nous pouvons maintenant étudier les causes des cinématiques observées

C. Les sollicitations mécaniques subies par les axes et leurs conséquences mécaniques et mécanobiologiques

La plante subit de nombreuses sollicitations d'origines multiples de natures diverses. Il existe deux classifications distinctes. La première classification se base sur l'origine (externe ou interne) de la sollicitation impactant la plante. Par exemple, la sollicitation due au poids propre est une sollicitation interne, et celle due au vent une sollicitation externe.

La seconde classification se base sur la nature de la sollicitation. Ces sollicitations peuvent être de nature mécanique comme le vent ou de nature physico-chimique (où l'état physico-chimique des matériaux constitutifs est modifié ; par exemple via la mise en place de contraintes de maturations dans le bois). Les conséquences de ces sollicitations vont notamment dépendre de leur intensité. À faible intensité, il n'y a, sur le plan mécanique, que des déformations élastiques (réversibles) et donc pas de dommage. Par contre, ces déformations peuvent être perçues par la plante et des actions dites mécanobiologiques vont être alors mises en place au sein de la plante, par exemple des modifications physiologiques telle qu'une modification de la croissance et de la différenciation des tissus. À plus forte intensité, la sollicitation va entraîner des endommagements qui auront des conséquences plus importantes allant de la chute d'une

branche à la casse du tronc. Sur le plan mécanobiologique, les blessures résultantes sont perçues et déclenchent tout un ensemble de réactions protectrices. On peut aussi observer parfois des déplacements permanents (ou plus précisément spontanément non réversibles par la simple mécanique et qui durent plus longtemps que des oscillations élastiques). Ces déplacements permanents, consistent en des inclinaisons qui sont appelées « verse » (en anglais lodging chez les herbacées, topling chez les ligneux (Rajkumara, 2008)). Du point de vue mécanobiologique, ces inclinaisons (et les déformations qui les accompagnent) sont perçues par la plante, ce qui donne lieu à un ensemble de réactions tropiques, appelé « Contrôle Postural » (Bastien et al., 2013 ; Moulia et al., 2019, 2021).

2) Tropismes et contrôle postural : une vue en détail de la boucle de régulation sensori-motrice

Le contrôle postural peut être considéré comme une boucle de régulation active au sein de la plante. La Figure 5, empruntée à Moulia et al. 2022, représente cette boucle qui permet de lier la perception des signaux par la plante (suites à des perturbations mécaniques provoquées par des sollicitations externes à l'organisme), les réponses motrices apportées par la plante (incluant la mise en place des réactions mécaniques internes), et l'auto-régulation de ce processus. Les mécanismes impliqués dans cette boucle de régulation seront détaillés dans les parties suivantes.

A. La composante perceptive du contrôle postural

Les plantes disposent de systèmes de perception multiples leur conférant la capacité de percevoir des signaux internes (ex : poids propre) ou externes (ex : neige ou vent) pour moduler leur croissance et leurs mouvements. Parmi ces nombreux signaux, deux concernent spécifiquement l'orientation : l'orientation par rapport à la lumière et l'orientation par rapport au vecteur de la gravité. Ces derniers permettent le pilotage des mouvements actifs orientés (tropismes). Cette étape de « perception de l'orientation » est la composante perceptive du contrôle postural (Figure 3). Nous reviendrons plus en détail dans les parties suivantes sur les systèmes de perceptions de ces deux signaux d'orientations.

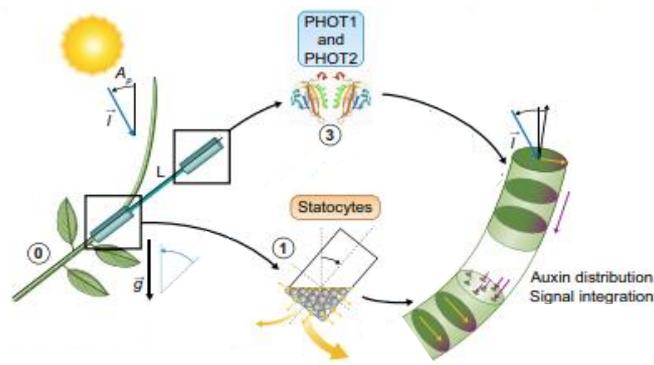


Figure 3 : Représentation dynamique de la composante perceptive du contrôle postural. Une tige subissant une inclinaison ou une verse va à la fois percevoir le signal lumineux via les phototropines 1 et 2 (numéro 3) et son inclinaison par rapport au vecteur de la gravité via les statocytes (numéro 1). Ces deux perceptions vont piloter une intégration du signal, qui pourrait impliquer une redistribution de l’auxine, puis des mouvements (Repris de Moulia et al., 2022).

B. La composante motrice du contrôle postural

La seconde composante du contrôle postural, suite à la perception des signaux, est la réponse motrice de la plante. C’est elle qui transforme l’énergie potentielle biochimique (ex : ATP) issue du métabolisme en mouvement actif. Cette réponse apporte une modification de la forme de l’organe *via* une variation de courbure (Figure 4), qu’on appelle en biologie « réactions tropiques ». Nous en détaillerons plus loin les mécanismes.

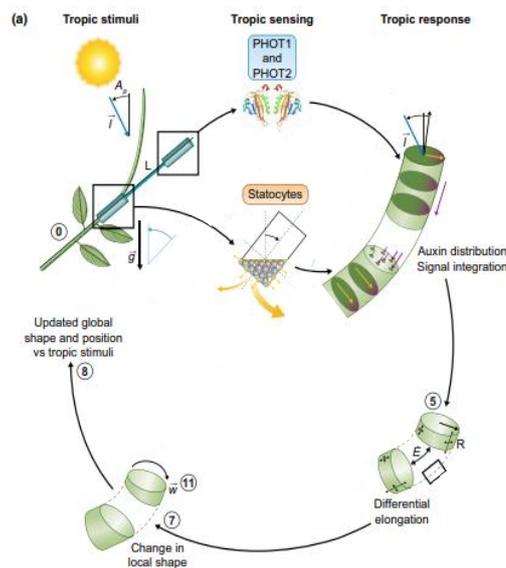


Figure 4 : Représentation dynamique de la composante motrice du contrôle postural. À la suite de la perception des signaux, l’intégration du signal et la distribution de l’auxine à travers la tige, une élongation différentielle se met en place entre les deux faces de l’organe (numéro 5), ce qui engendre un mouvement et des modifications locales de la forme (numéro 7). Ces changements locaux de forme engendrent une modification de la forme globale de la tige (numéro 8) et de la position de cette dernière par rapport aux différents stimuli de l’environnement. (Repris de Moulia et al., 2022).

C. Intégration des tropismes : Posture control loop

La composante perceptive (ou sensorielle) et la composante motrice (ou d'actionnement) des tropismes se combinent dans une boucle de régulation sensori-motrice. C'est grâce à cette boucle de rétroaction que la plante va pouvoir converger vers des orientations stationnaires et assurer le contrôle de sa posture. C'est ce qui se passe pour des tiges qui se trouvent inclinées à la suite d'une verse (Figure 5).

La perception des signaux par la plante permet les mouvements des différents segments de la tige, et plus largement des différents organes de la plante, et lui confère une nouvelle forme. Après ce premier mouvement élémentaire, la plante va percevoir des angles d'inclinaison par rapport à la gravité et à la lumière différents. Chaque segment de la tige aura donc une perception modifiée, engendrant alors une réponse motrice différente. Dans le cas où la tige tend vers la verticale (les botanistes parlent d'orthotropisme), moins la réponse motrice sera forte. Il y a donc une auto-régulation par la plante de son mouvement d'orientation qui permet la coordination des réactions de variation de courbure tout au long de l'axe et une convergence vers une orientation précise, assurant le contrôle postural. À l'articulation entre la composante perceptive et composante motrice, l'auxine joue un rôle clé. Ce rôle sera détaillé ultérieurement.

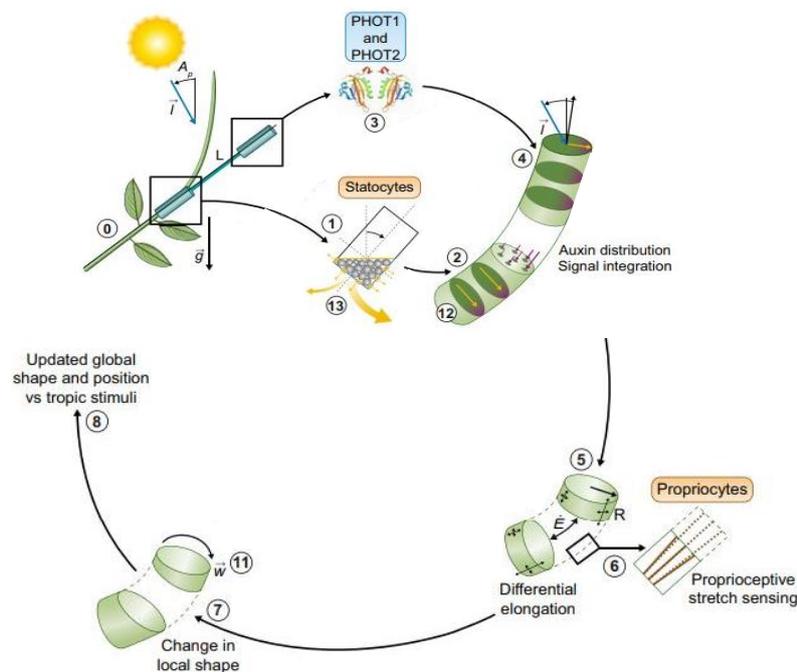


Figure 5 : Représentation dynamique du contrôle postural. La phase de perception et la phase motrice sont suivies par une phase d'auto-régulation par la plante elle-même. La modification de sa forme via une première phase motrice va modifier la perception par la plante des signaux environnants et donc des modifications des mouvements futurs (Repris de Mouliat et al., 2022).

3) Modélisation du contrôle postural

La compréhension de cette boucle de régulation est difficile sans l'aide d'une quantification de la cinématique et d'une modélisation biomécanique mathématisée.

Les analyses cinématiques des mouvements tropiques des organes aériens réalisées pour les deux types de zones sensorimotrices (primaire ou secondaire), et sur 15 espèces échantillonnant la phylogénie des angiospermes terrestres (herbacées et ligneux ; Coutand et al., 2017 ; Bastien et al., 2013, 2015 ; Moulia et al., 2019) ont permis de mettre en évidence un motif universel, qui peut être décomposé en 2 phases (motif biphasique, Figure 6).

La première phase est une phase de courbure vers le haut (se réalisant initialement de façon relativement homogène le long de la tige). À la fin de cette phase, la tige est plus courbée, mais sans orientation dans une direction privilégiée. La deuxième phase voit apparaître une décourbure (variation de courbure négative réduisant la courbure) qui commence vers l'apex et semble se propager vers la base. Cette phase de décourbure permet la rectification d'une partie de plus en plus importante de la tige (qui peut alors avoir une orientation définie), alors que la courbure se concentre à la base de la tige. Cette phase se termine alors que la forme de la tige ne varie plus dans le temps (état stationnaire). Ces deux phases sont retrouvées au niveau de l'ensemble des individus et des espèces, malgré des dynamiques de réorientations qui peuvent varier (Figure 6).

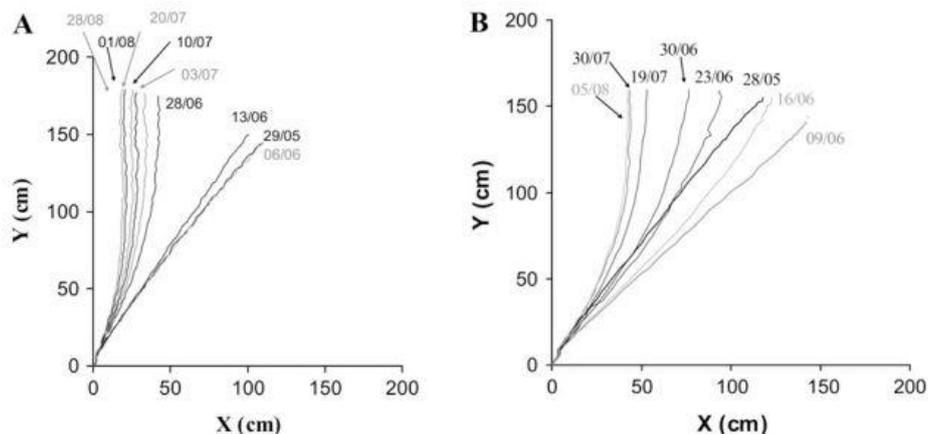


Figure 6 : Évolution de la forme du tronc durant le redressement. Chaque ligne représente une forme numérisée du tronc pendant la réponse gravitropique. A = Arbre issu d'une expérimentation de 2001 . B = Arbre issu d'une expérimentation 1999. Repris de Coutand et al., 2007.

Avec l'utilisation de la modélisation, il est possible de tester des hypothèses de contrôle, d'en réfuter certaines et éventuellement d'en valider une, permettant alors de progresser dans la

compréhension des processus. Ce travail a été réalisé par Bastien et al. en 2013. Dans cette étude pionnière, le phototropisme n'a pas été prise en compte pour éviter les interactions possibles entre ce tropisme et les tropismes étudiés (gravitropisme et autotropisme).

A. Le modèle « Angle » - Modèle A

La première étape de la modélisation du contrôle postural a consisté à tester l'hypothèse couramment admise dans la bibliographie, à savoir que la régulation du mouvement gravitropique résultait de la seule perception de l'angle d'inclinaison $A(s,t)$, par rapport à la verticale (et donc par rapport à la direction de la gravité). Pour simplifier, le calcul de référence a été pris avec la verticale vers le haut pour les tiges, donc $A(s,t)=0$ signifie que le segment de tige localisé en s au temps t est vertical.

Dans cette hypothèse donc, seul l'angle d'inclinaison par rapport à la gravité serait détecté par la plante. Cette seule perception permettrait le pilotage de la réaction motrice locale, sa coordination le long de la tige et au cours du temps. Elle permettrait donc ainsi le redressement biphasique de la tige. L'angle d'inclinaison A serait donc ressenti localement à chaque position s , le long de l'organe aérien et à chaque instant t . Cette détection se faisant sur toute la longueur de l'organe aérien par la présence des statocytes. Bastien et al. en 2013 proposent, pour évaluer cette hypothèse, le modèle A qui a pour équation :

$$\frac{\delta C(s,t)}{\delta t} = - \beta A(s,t) \quad (3)$$

Avec β , la sensibilité graviperceptive, $A(s,t)$ l'angle d'inclinaison de l'organe, dans le temps et l'espace, $\frac{\delta C(s,t)}{\delta t}$ la vitesse de variation de la courbure.

Comme nous l'avons vu, les expérimentations réelles montrent que les organes aériens présentent une courbure progressive vers le haut à la suite d'une inclinaison. Peu de temps après, les zones les plus apicales montrent une étape de rectification se répandant en direction de la base de l'organe. La courbure émise se concentre à la base de l'organe, et la plante atteint un état stationnaire (Bastien et al., 2013). Les résultats obtenus par la modélisation et le modèle A ne sont pas identiques (Figure 7a.). L'organe modélisé présente des « overshoots » (ou dépassement de la verticale) répétés et des oscillations successives sans jamais atteindre un état stationnaire. Les résultats modélisés au moyen de l'équation (3) et du modèle A ne correspondent donc pas du tout aux résultats expérimentaux. Il n'y ni gravitropisme (puisqu'il

qu'il n'y a pas de redressement), ni contrôle postural. Le modèle A ne peut donc pas être validé. L'hypothèse de départ doit être modifiée (Bastien et al., 2013).

B. Le modèle « Angle et Courbure » - Modèle AC

À la suite de la réfutation du modèle A, un second modèle a été proposé (Bastien et al., 2013), le modèle AC. La principale différence avec le modèle A est la prise en compte de la perception par la plante de ses propres courbures, $C(s, t)$ (à chaque position, le long de l'organe et dans le temps). Cette prise en compte par la plante de sa propre déformation locale est une hypothèse fondée car il a été prouvé expérimentalement que les plantes perçoivent une flexion imposée (Coutand et al., 2000 ; Moulia et al., 2011) et que la variation de courbure de l'organe engendre un effet direct sur l'orientation des microtubules qui peut alors modifier le taux de croissance différentielle d'un organe aérien (Fischer and Schopfer, 1998 ; Ikushima and Shimmen, 2005). L'hypothèse de ce second modèle est donc que le contrôle postural est une balance entre la perception de son angle d'inclinaison A par rapport au vecteur de gravité (= graviperception) et la perception de ses propres courbures par la plante (= proprioception).

L'équation de ce modèle AC est la suivante :

$$\frac{\delta C(s,t)}{\delta t} = -\beta A(s,t) - \gamma C(s,t) \quad (4a)$$

Avec β , la sensibilité graviperceptive ; $A(s,t)$ l'angle d'inclinaison dans le temps et l'espace ; γ , la sensibilité proprioceptive ; $C(s,t)$ la courbure locale dans le temps et l'espace ; $\frac{\delta C(s,t)}{\delta t}$ la vitesse de variation de la courbure.

Les oscillations sont diminuées et l'organe converge cette fois-ci vers un état stationnaire (Figure 7b.), avec une concentration de la courbure à la base de la tige ainsi qu'un port rectiligne et érigé pour le reste de l'organe. Ce modèle permet donc de reproduire des mouvements conformes à ceux observés expérimentalement sur l'ensemble de l'échantillon d'espèces étudiées. On peut valider ce modèle. Cet article a été le premier à démontrer le rôle majeur de l'autotropisme dans le contrôle postural, et à introduire et expliciter la notion de proprioception en biologie végétale (Moulia et al., 2021). Cette étude introduit également les sensibilités graviperceptives et proprioceptives. Ces sensibilités indiquent la capacité des plantes à détecter et réagir en percevant son inclinaison par rapport au vecteur de gravité (sensibilité β) et sa propre courbure (sensibilité γ). L'étude mathématique du modèle AC démontre qu'un seul nombre, noté B , définit complètement la dynamique de la réponse, ainsi que la forme finale

(stationnaire) de la tige (Bastien et al., 2013). B mesure le ratio entre les sensibilités graviperceptive et proprioceptive, en tant compte de la longueur de la zone active permettant les mouvements des plantes.

$$B = \frac{\beta L}{\gamma} \quad (4b)$$

Où L est la longueur de la zone active.

B a été appelé en anglais le « Balance Number », ce qui pourrait se traduire par « nombre d'équilibre postural ». Des plantes ayant des B identiques pour des sensibilités graviperceptives et proprioceptives ou des longueurs actives différentes auront exactement la même dynamique.

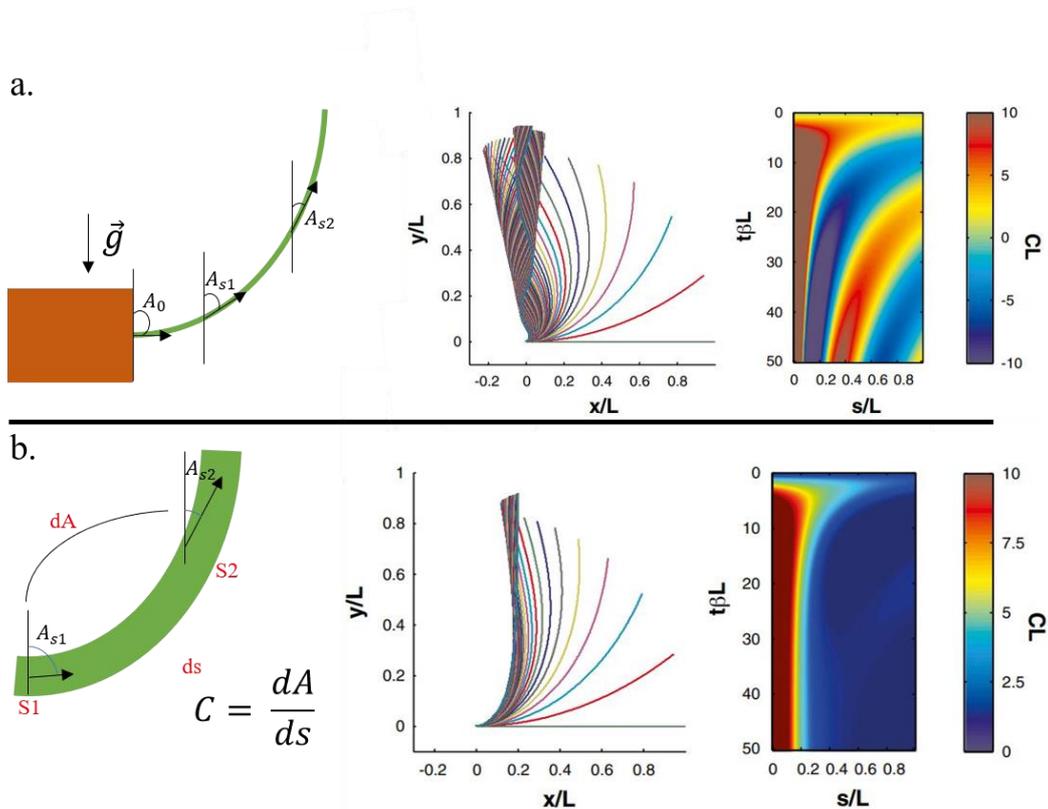


Figure 7 : Représentation du modèle graviperceptif ou modèle A (Angle) (a.) et du modèle graviproceptif AC (Angle & Courbure) (b.). (a) Le modèle A ne prend en compte que l'angle d'inclinaison A en tout point s de la tige. Le résultat montre des oscillations infinies, pas d'état stationnaire atteint et des courbures présentes tout le long de la tige. (b) Le modèle AC prend en compte la proprioception en plus de la graviperception. Dans ce cas, l'état stationnaire est atteint et la courbure est fixée à la base de la tige. Les différentes couleurs des graphiques 2a. et 2b. représentent les formes successives de la tige. Les figures 3a. et 3b. représentent les thermogrammes de courbure avec des fortes intensités de courbure représentées en jaune et en rouge et les plus faibles dans des teintes de bleu. (Repris de Bastien et al., 2013).

Les valeurs de B pour les coléoptiles de blé sont comprises entre 1 et 4 alors que la zone en croissance secondaire de la tige de peuplier montre une valeur de B en moyenne à 3 (Bastien et

al., 2013). Cependant, le nombre B, par son équation, ne permet de définir que le rapport entre la sensibilité graviperceptive et proprioceptive sans les quantifier, ce qui empêche de progresser dans les mécanismes sous-jacents aux deux voies de perception (qui sont distinctes).

C. Les modèles combinant les composantes perceptives et motrices

Les deux modèles présentés précédemment ne prennent pas en compte les effets du moteur au sein du contrôle postural. L'argument mise en avant pour justifier de cette approximation est que dans les conditions étudiées, les aspects moteurs ne sont probablement pas limitants et l'essentiel est dans le pilotage en lien avec la composante perceptive du contrôle postural, sans toutefois qu'il soit possible de dire dans quelle condition les aspects ne sont plus négligeables. Un modèle a été développé pour préciser ces aspects, le modèle ACÉ (Bastien et al., 2015). Ce modèle a été conçu dans le but d'étudier le contrôle postural pour des plantes utilisant un moteur en croissance primaire, et par élongation différentielle. On peut citer par exemple *Arabidopsis thaliana*, les coléoptiles de nombreuses monocotylédones comme le blé ou le riz.

L'équation de ce modèle est la suivante :

$$\frac{DC(s,t)}{Dt} R = \dot{\epsilon}mean(s,t)(-\tilde{\beta}A(s,t) - \tilde{\gamma}C(s,t)R) \quad (5)$$

Dans cette équation, la vitesse de courbure prend à la fois en compte l'aspect pilote des mouvements avec les deux sensibilités β et γ mais aussi l'aspect moteur $\dot{\epsilon}mean(s,t)$ qui correspond à l'élongation relative différentielle moyenne du segment de tige considéré. L'étude de ce modèle a montré que le contrôle du mouvement pouvait toujours être réalisé par un contrôle gravi-proprioceptif comme formalisé dans le modèle AC. Toutefois, l'existence d'une élongation a des effets déstabilisants qui rendent le contrôle postural plus difficile (d'autant plus que la zone de croissance est longue et la croissance active). Ce qui requiert une plus grande sensibilité.

Un modèle équivalent pour les zones où la motricité est assurée par la croissance secondaire et le bois de tension n'a pas encore été développé. Nous développerons ultérieurement la modélisation biomécanique de la partie purement motrice associée à la croissance secondaire au bois de tension. Mais nous pouvons dire ici que la partie motrice devient limitante quand le diamètre de la tige s'accroît, et quand la vitesse de croissance radiale diminue. Dans l'étude du peuplier de Coutand et al. en 2007 et Bastien et al. en 2013, par exemple, les tiges de peuplier

avaient un diamètre initial d'environ 2 cm à la base, et un accroissement annuel d'environ 1cm, ce qui a amené Bastien et al. à supposer que probablement la motricité n'était pas limitante (sans pouvoir toutefois le démontrer).

II/ La composante perception du contrôle postural

Les plantes dans leur environnement subissent de nombreuses perturbations de leur posture pouvant aller jusqu'à l'inclinaison ou la verse. Le processus de contrôle postural est donc utilisé en permanence. Il implique la perception de signaux externes et internes. Les signaux pouvant être perçus sont de natures différentes, impliquant des voies de signalisation et transduction impliquant des composés parfois identiques mais aussi différents.

1) Le phototropisme : perception du signal lumineux

En 1880, Darwin montre que le coléoptile de l'alpiste des Canaries (*Phalaris canariensis*) croît en direction d'une source de lumière unilatérale. En supprimant l'apex ou en disposant un capuchon sur l'apex, la variation de courbure ne se produit pas. Charles Darwin en conclut qu'il existe une influence de l'apex du coléoptile vers les parties inférieures pour permettre cette variation de courbure. Ce travail est la base des futures recherches et découvertes concernant le phototropisme.

Depuis Darwin et ses premières recherches, les connaissances scientifiques ont énormément progressé. On peut définir le phototropisme comme étant la réorientation de la croissance d'un organe (qui s'accompagne d'une variation de courbure) en direction ou à l'opposé d'une source de lumière directionnelle (Liscum and Stowe-Evans, 2002). Le phototropisme, comme de nombreux autres tropismes, présente différentes étapes allant de la perception du signal à la réalisation du mouvement via des moteurs (Correll and Kiss, 2002).

De manière globale, la lumière est perçue par la plante dans une large gamme de longueurs d'ondes allant de 350 nm pour les UV-B à 800 nm pour le rouge sombre (appelé aussi rouge lointain ou proche infra-rouge) (Figure 8).

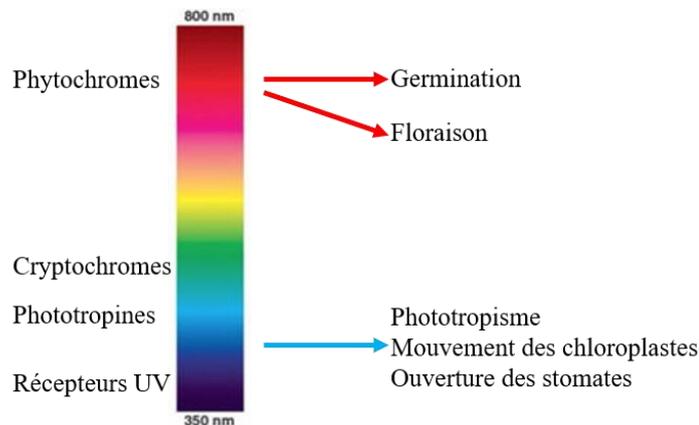


Figure 8 : Distribution des photorécepteurs en fonction de la longueur d'onde de la lumière (en nanomètres), et quelques rôles des récepteurs dans différents mécanismes

La perception de la lumière peut se faire au niveau de l'apex de la tige ou de la région apicale des coléoptiles (maïs, *Arabidopsis* ; Christie et al., 2011 ; Matsuda et al., 2011 ; Preuten et al., 2013) mais aussi au niveau des feuilles et cotylédons (Endo et al., 2005 ; Warnosooriya and Montgomery, 2005 ; Lam and Leopold, 1966). Dans le cadre du phototropisme, c'est la lumière bleue (350-500 nm) qui est perçue par la plante (du moins pour les conditions de faible éclairage, pour une discussion plus générale, voir Moulia et al., 2022).

La lumière bleue ne joue pas seulement un rôle dans le phototropisme mais aussi dans le mouvement des chloroplastes ou le rythme circadien (Baum et al., 1999). La perception phototropique est possible grâce à la présence de photorécepteurs spécifiques à la lumière bleue qui sont les phototropines (Briggs and Christie, 2002), qui sont seules impliquées dans la perception directionnelle. D'autres récepteurs permettent la perception de la lumière bleue sans participer au phototropisme. Ce sont les cryptochromes (cry1 et cry2). Ils peuvent toutefois permettre une stimulation et une amélioration de la réponse phototropique (Whippo and Hangarter, 2003, 2004 ; Goyal et al., 2013).

A. Mécanismes moléculaires de la perception du signal lumineux

1. Phototropines 1 et 2 : Potorécepteurs de la lumière bleue

i. Structure, découverte et composition

Les principaux photorécepteurs du phototropisme sont les phototropines 1 et 2, et sont présents chez l'ensemble des organismes végétaux (Fankhauser and Christie, 2015). Ces récepteurs sont

spécifiques du phototropisme car ils sont récepteurs et sensibles à la lumière bleue et que le phototropisme présente un spectre d'action proche de cette lumière (Briggs and Christie, 2002 ; Baskin and Iino, 1987 ; Correll and Kiss, 2002). Leur identification a été possible par l'utilisation de mutants *nph* (« no phototropic hypocotyls ») d'*Arabidopsis thaliana*, nommés ainsi d'après leur phénotype, à savoir une réponse phototropique altérée (Liscum and Briggs, 1995). Les protéines NPH ont ensuite été renommées en protéines phot pour être en adéquation avec leur rôle de photorécepteurs dans le cadre du phototropisme. Les photorécepteurs phot1 et phot2 fonctionnent à des intensités lumineuses différentes : faible pour phot1 et forte pour phot2 (Correll and Kiss, 2002 ; Briggs and Christie, 2002). Ce fonctionnement différentiel serait provoqué par une production de protéines différentes en fonction de l'intensité lumineuse perçue par la plante. Ce sont des protéines kinases, qui sont activées sous l'effet de la lumière bleue (Briggs and Huala, 1999 ; Briggs and Christie, 2002). Elles sont composées de plusieurs domaines importants (Figure 9), dont la région C-terminale de phot1 et phot2, qui est un domaine Sérine/Thréonine kinase (Briggs and Christie, 2002 ; Fankhauser and Christie, 2015). Ce domaine kinase semble être un élément important car les mutants *phot1*, sans capacité phototropique, présentent des mutations dans ce domaine.

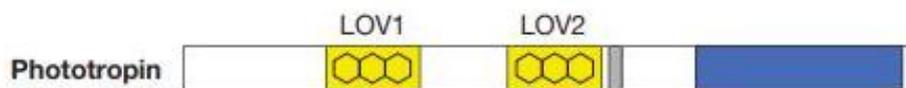


Figure 9 : Structure typique d'une phototropine. En jaune, les domaines LOV ; En gris, l'hélice α ; En bleu, le domaine Sérine/Thréonine kinase (Repris de Christie, 2007)

Les phototropines présentent également deux domaines LOV (Domaine Lumière, Oxygène et Voltage), nommés LOV1 et LOV2, se trouvant dans la partie N-terminale des phototropines. Ces deux domaines de 100 acides aminés chacun (Briggs and Christie, 2002 ; Christie and Murphy, 2013) lient le cofacteur dérivé de la vitamine B, la flavine mononucléotide (FMN), en tant que chromophore (partie d'une molécule pouvant absorber et interagir avec la lumière) absorbant la lumière bleue (Christie et al., 1999). Ces domaines agissent comme des capteurs de lumière, car ce sont eux qui permettent l'absorption de la source lumineuse.

ii. Autophosphorylation du domaine kinase : Étape clé de la perception et de la voie de transduction

La première étape de la perception du signal lumineux est l'absorption de ce signal par le domaine LOV2 (Christie, 2007). L'irradiation de ce domaine engendre la formation d'un adduit entre le chromophore FMN et l'atome de soufre d'un résidu cystéine (Fankhauser and Christie, 2015). Cela engendre la désorganisation de l'hélice J α permettant alors l'activation du domaine kinase en région C-terminale et conduisant à l'autophosphorylation du photorécepteur (Christie, 2007 ; Figure 10). Cette étape de phosphorylation est très importante pour la mise en place de la voie de transduction du phototropisme. Des mutants *phot1-7* d'*Arabidopsis* (mutation D806N ou Sérine au sein du domaine kinase) montrent une abolition de l'autophosphorylation et du phototropisme (Christie and Murphy, 2013 ; Inoue et al., 2008 ; Sullivan et al., 2008).

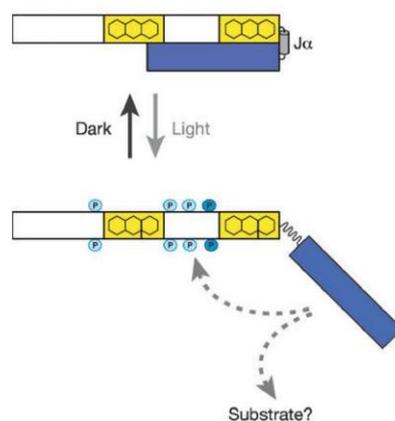


Figure 10 : Mode d'activation des phototropines par la lumière. À l'obscurité ou à l'état initial, le récepteur de la phototropine n'est pas phosphorylé et est inactif. L'absorption de la lumière par le capteur de lumière prédominant LOV2 entraîne une désorganisation de l'hélice J α et l'activation du domaine kinase C-terminal, ce qui conduit à l'autophosphorylation du photorécepteur et enfin à la phosphorylation d'un ou plusieurs substrat(s) protéique(s) qui n'a (n'ont) pas encore été identifié(s). (Repris de Christie, 2007)

2. Les autres récepteurs

Des expérimentations portant sur des plantules d'*Arabidopsis thaliana* montrent que des individus défailants au niveau des phototropines présentent un mouvement phototropique en direction de la lumière UV. Cette réponse est médiée par un récepteur spécifique aux UV chez les plantes, le locus de résistance à l'UV8 (UVR8). Le changement de conformation du récepteur permet l'activation d'une voie de signalisation spécifique (Wu et al., 2012). Les UV sont également à l'origine d'une répression des gènes répondant à l'auxine, suggérant alors que

le récepteur UVR8 pourrait réguler la variation de courbure directionnelle en affectant la signalisation de l'auxine (Vandenbussche et al., 2014). Le phototropisme peut également être régulé par la lumière rouge, *via* des récepteurs de type phytochromes (phyA, phyB, phyD ; Kawai et al., 2003), qui permettent la perception du rapport entre la quantité relative de lumière rouge et de lumière rouge lointaine (Red/Far Red ; R/FR) (Whippo and Hangarter, 2004).

B. Signalisation cellulaire

La voie de transduction par la signalisation cellulaire permet de transmettre et convertir un signal externe en une réponse cellulaire spécifique à travers une cascade comprenant de nombreux acteurs moléculaires.

La première étape de la voie de transduction du phototropisme est la perception de la lumière par le domaine LOV2. De nombreuses molécules et voies vont être mises en jeu pour permettre ensuite la transduction du signal (Figure 11).

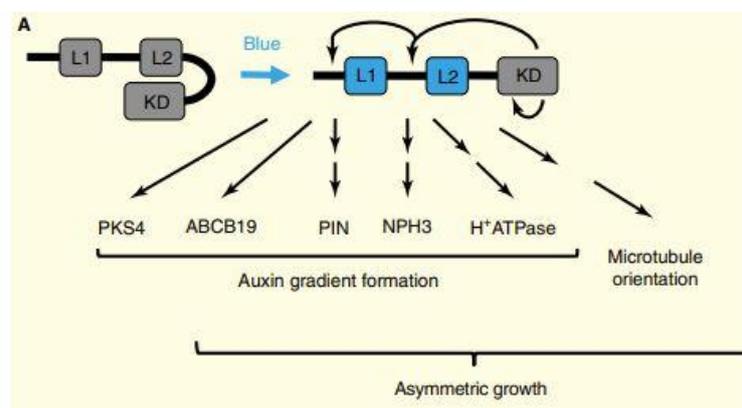


Figure 11 : Modèle et chronologie des premières étapes de la signalisation menant au phototropisme. En (A), Les phototropines contiennent deux domaines sensibles à la lumière (Domaine LOV1/LOV2), et un domaine protéine kinase (KD). Par la lumière, le chromophore FMN se lie à un résidu Cys des domaines LOV entraînant un changement de conformation et libérant le domaine protéine kinase de l'activité inhibitrice de LOV2. Cela provoque l'autophosphorylation des phototropines et la phosphorylation des composants de signalisation. La formation d'un gradient et la réorientation des microtubules corticaux conduisent à une croissance orientée de l'hypocotyle vers la source de lumière (Repris de Fankhauser and Christie, 2015).

Le calcium apparaît comme un messager secondaire important dans la voie de réponse phototropique. Il y a une hausse transitoire de la concentration en Ca^{2+} cytosolique chez *Arabidopsis* (Baum et al., 1999) *via* phot1 en réponse à une stimulation phototropique. La phosphorylation d'un canal Ca^{2+} de la membrane plasmique, proche de phot1, est l'hypothèse la plus probable pour expliquer cette hausse (Baum et al., 1999). Chez des mutants *phot1*

d'*Arabidopsis*, la hausse transitoire du calcium ne se met pas en place malgré la stimulation phototropique. Le blocage de la hausse transitoire de calcium au niveau d'hypocotyle d'*Arabidopsis thaliana* par l'utilisation d'un chélateur de Ca^{2+} a empêché l'inhibition de la croissance médiée par l'action de phot1, mais pas les différentes voies de transduction du phototropisme. La hausse du Ca^{2+} cytosolique semble donc être un processus intermédiaire dans l'une des voies de transduction de la signalisation médiée par phot1 (Folta et al., 2003).

C. Rôle spécifique des hormones dans la transduction du signal phototropique

L'éthylène a été découverte au début du 20^{ème} siècle. Elle module de nombreuses réponses des plantes aux stress tant biotiques qu'abiotiques, et est impliquée dans la floraison et stimule la maturation des fruits climactériques. Son implication a été montrée notamment par son inhibition entraînant une variation de courbure réduite chez le haricot mungo (Brennan et al., 1976).

Les brassinostéroïdes sont considérées comme le sixième groupe des phytohormones (Rao et al., 2002) et ont été découvertes par Mitchell et al. (1970) après analyse de pollen de soixante espèces. Les substances favorisant la croissance ont été nommées « brassines » (Mitchell et al., 1970). Des plantes d'*Arabidopsis thaliana* traitées avec cette hormone ou sur-exprimant BAK1 (BRI1-Associated Kinase 1 ; récepteur kinase impliqué dans la perception des brassinostéroïdes) présentent une atténuation de la réponse phototropique à faible lumière. Les mutants *elg* (hypersensibles aux brassinolides) ont une réponse accrue à forte lumière, tout comme les individus sauvages (Whippo and Hangarter, 2005). Les brassinostéroïdes, dans le cadre du phototropisme, pourraient à la fois réguler négativement l'expression de phot1 et donc influencer la perception du signal lumineux mais aussi réguler positivement les ARF et donc influencer positivement in fine l'expression des gènes permettant la synthèse et distribution de l'auxine (Nemhauser et al., 2004).

2) Le Gravitropisme : perception du signal gravitropique

Les expériences menées par Charles Darwin et Knight au 19^{ème} siècle ont joué un rôle fondamental dans l'établissement des bases de connaissances sur le gravitropisme. Ils ont montré que la gravité pouvait impacter la direction de croissance de la plante.

La gravité est une interaction qui s'applique sur l'ensemble des objets et organismes présents sur Terre. Elle est présente de manière continue, directionnelle et son intensité à la surface

de la Terre ne varie quasiment pas (Boonsirichai et al., 2002 ; Hangarter et al., 1997). La plante perçoit son inclinaison par rapport au vecteur de gravité et réagit si celle-ci diffère d'une orientation de « consigne », on parle alors de Gravity Set-Point Angle ou GSA (Firn and Digby, 1997 ; Digby and Firn, 1995). Ce GSA diffère entre système racinaire ou aérien. En effet, le gravitropisme est globalement négatif pour la tige (phase de courbure vers le haut, à l'opposé du vecteur de gravité ; en réponse à une inclinaison). Il est globalement positif pour la racine (phase de courbure vers le bas, dans le même sens que le vecteur de gravité ; en réponse à une inclinaison).

Chez de nombreux végétaux (mais pas tous, loin s'en faut), les axes principaux s'orientent pour s'aligner sur la verticale. On parle alors d'orthotropie. Mais les branches et racines latérales peuvent avoir des GSA différents de la verticale (ascendante ou descendante) : on parle alors de plagiotropie. Comme pour le phototropisme, le gravitropisme implique 3 étapes clés pour sa mise en place (Tasaka et al., 2001 ; Morita et al., 2004 ; Vandenbrink and Kiss, 2019) :

- Perception du signal gravité
- Transduction du signal
- Réponse de la plante

A. Perception du signal gravitropique

La perception du vecteur de gravité est liée à des cellules particulières, nommés statocytes. Ces cellules contiennent des plastes particuliers remplis d'amidon, contribuant à la perception, les statolithes. La mise en évidence du rôle de ces cellules a été rendue possible par plusieurs techniques, dont l'utilisation de mutants d'*Arabidopsis*.

1. Les statocytes : capteur de position

i. Localisation des statocytes

Les statocytes sont les cellules spécialisées permettant la perception d'une inclinaison par rapport au vecteur de la gravité chez les plantes (Harmer et al., 2018 ; Talts et al., 2016 ; Nakamura et al., 2019 ; Long et al., 2002 ; Sack et al., 1991 ; Chauvet et al., 2016 ; Pouliquen et al., 2017). La localisation et le rôle de ces cellules a été démontrée par diverses approches. La première est une utilisation de mutants notamment dépourvus d'endoderme au niveau de la tige et racine d'*Arabidopsis* (mutants *sgr1/scr1* (shoot gravitropism1/SCARECROW) et *sgr7/shr*).

Ces mutants ne montrent pas de réponse gravitropique. Les cellules de l'endoderme, contenant les statocytes, seraient donc essentielles à la réponse gravitropique (Nakamura et al., 2019 ; Fukaki et al., 1996 ; Morita et al., 2010). Une ablation de la capsule racinaire d'Arabidopsis au laser et par l'utilisation d'une toxine diphtérique A (DT-A) qui inhibe la synthèse des protéines et tue les cellules montrent des réponses gravitropiques nulles (Tsugeki et Fedoroff, 1999). Ces cellules se trouvent donc au niveau de l'endoderme des jeunes tiges et au niveau de la columelle des apex racinaires.

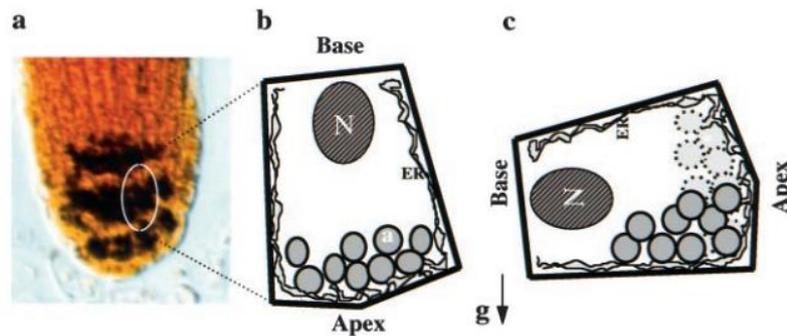


Figure 12 : Mise en évidence des statolithes au niveau racinaire. (a) Statolithes au sein de la coiffe racinaire par coloration au lugol (Kiss et al., 1996). (b) et (c) Schéma de sédimentation des statolithes au niveau racinaire (Infographie de Chen et al., 1999).

ii. Rôle et impact des statolithes

Les statocytes contiennent des statolithes (ou amyloplast), qui sont des grains d'amidons très denses (Nakamura et al., 2019 ; Harmer et al., 2018 ; Chen et al., 1999). Ces amyloplast sont des leucoplastes, c'est-à-dire des plastides non pigmentés. Ils se caractérisent par la présence de plusieurs gros granules d'amidon et de thylakoïdes internes au niveau de la tige ; mais ne montrent pas de thylakoïdes au niveau racinaire (Sack, 1991). Au niveau des racines, les statocytes sont très polarisés et présentent un réticulum endoplasmique en position périphérique et un noyau en position centrale ou apicale (Chen et al., 1999).

L'hypothèse du rôle des statocytes dans la perception du vecteur de gravité a été émise dès 1900 par Nemec et Harberlandt. Les premières études ont montré, que lors d'une réorientation de la tige ou de la racine, les amyloplast se déplaçaient dans la direction du vecteur de gravité, c'est-à-dire en direction du nouveau côté inférieure de la cellule (Konings et al., 1995 ; Blancaflor et al., 1998 ; Sack et al., 1984, 1985) (Figure 12), ce qui a été interprété comme une sédimentation. Une étude plus récente et précise a montré que ce mouvement n'était pas une sédimentation mais un mouvement d'avalanche des statolithes à la suite d'une inclinaison (Bérut et al., 2018). Ces statolithes ne passent sans doute pas par une phase de mise en

suspension, qui est un préalable à une sédimentation. Cette avalanche est rendue possible par le fait que les grains d'amidons sont plus denses que le cytoplasme.

Ce terme d'avalanche sera donc utilisé dans l'ensemble du manuscrit. L'avalanche, le déplacement et la présence de ces amyloplastés-statolithes au voisinage de la membrane plasmique (ou du réticulum endoplasmique) permettraient l'activation des voies de transduction du signal via de très nombreuses molécules et hormones (Morita et al., 2010 ; Went and Thimann, 1937). Ces premières observations ont permis l'émergence de l'hypothèse de l'amidon-statolithe (Starch-Statolith), modèle de base pour expliquer comment le vecteur de gravité est perçu dans les racines et les pousses.

Mutants sgr

D'autres études ont montré via l'utilisation de divers mutants (*sgr2*, *sgr3*, *sgr4* et *sgr9*) que la fonction portée par les protéines SGR est nécessaire pour obtenir une réponse gravitropique optimale (Yamauchi et al., 1997 ; Kato et al., 2002 ; Yano et al., 2003). L'altération de la réponse observée chez ces mutants serait due à un défaut de mouvement et à une incapacité de relocalisation des amyloplastés par rapport aux individus sauvages au niveau de la tige (Vandenbrink and Kiss, 2019).

Mutants pgm

Chez *Arabidopsis thaliana*, les mutants pour le gène PGM (PhosphoGlucoMutase), dépourvus de la capacité à synthétiser l'amidon, présentent une avalanche partielle des statolithes et une réduction partielle de la réponse gravitropique pour les parties aériennes (Kiss et al., 1989 ; Vitha et al., 2000 ; Nakamura et al., 2019) et les parties racinaires (Kiss and Sack, 1989). L'accumulation d'amidon n'est donc pas essentielle pour la graviperception (Nakamura et al., 2019) mais une accumulation partielle est toutefois nécessaire pour que les statolithes soient plus denses que le cytoplasme et les contenus vacuolaires environnants, ce qui permet l'avalanche des amyloplastés (Morita et al., 2000). Plus cette densité est forte (et donc plus l'amidon s'est accumulé dans les statolithes) et plus l'avalanche sera rapide et cohérente.

iii. Les modèles de perception

Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer les mécanismes sous-jacents de la perception du vecteur de gravité par les statolithes. Les premières hypothèses remontent au 19^{ème} siècle, et sont encore en discussion.

Hypothèse de la pression du protoplaste

Au 19^{ème} siècle, Hofmestier (1867) et Pfeffer (1881) émettent l'hypothèse que les cellules végétales perçoivent la gravité *via* un différentiel de pression, induit par le cytoplasme entre la face supérieure et inférieure de la cellule. Cette hypothèse a été reprise au cours du 20^{ème} siècle notamment *via* les travaux de Staves et Wayne en 1997. Ces travaux indiquent qu'une modification de la densité du milieu externe, engendre une inhibition de la variation de courbure gravitropique chez le riz au niveau racinaire. Il est à noter que cette modification n'affecte pas la vitesse d'avalanche des amyloplastes au niveau des cellules de la columelle. Selon les auteurs, l'augmentation de la densité du milieu externe diminue la flottabilité du protoplaste. La force générée par la chute du protoplaste lors d'une stimulation est donc réduite, et l'énergie mise à disposition pour agir en tant que signal par la chute d'un protoplaste est diminuée. Si cette énergie est la clé pour la détection de la gravité, on s'attend à une diminution de la réponse à une gravistimulation, ce qui est le cas ici pour les racines de riz. Les auteurs montrent qu'une augmentation de la densité du milieu externe de cellules de riz internodales sans statolithes diminue leur capacité à percevoir la gravité (Staves et al., 1997). Leur hypothèse est que la théorie de la pression gravitationnelle peut également expliquer la détection de la gravité dans les cellules des racines de riz contenant des statolithes. Si c'est le cas, le protoplaste serait alors le capteur de gravité, et non seulement les statolithes. Ainsi, les cellules de riz contenant des statolithes peuvent percevoir la gravité en détectant une tension et une compression différentielle entre la membrane plasmique et la matrice extracellulaire avec des récepteurs de type intégrine en haut et en bas de la cellule, respectivement.

Hypothèse de la pression des statolithes

3 éléments ont permis l'émission de cette seconde théorie : l'avalanche des amyloplastes est présente dans les cellules sensibles à la gravité (Haberlandt, 1900 ; Ridge and Sack, 1992), elle est observée de manière très précoce en réponse à la gravistimulation (Hawker, 1932), et des mutants présentant une défaillance de formation et d'avalanche des amyloplastes sont moins sensibles à une inclinaison que les individus sauvages (Kiss et al., 1989). Lors d'un stimulus gravitropique, le déplacement des statolithes au sein des statocytes pourrait permettre le rapprochement de ces grains d'amidon avec des éléments subcellulaires comme le réticulum endoplasmique et permettre la mise en place des voies de transduction.

Hypothèse du capteur de position

Les deux précédentes hypothèses émises présentent les statocytes comme des capteurs de force par le fait que les statocytes pourraient détecter le poids des statolithes ou du protoplaste. Si c'est le cas, le gravitropisme serait sensible à l'intensité de la gravité. En 2016, les résultats expérimentaux de Chauvet et al. remettent en cause les deux précédentes hypothèses. Leurs résultats montrent que la réponse gravitropique est indépendante de l'intensité de la gravité (Figure 13). Les plantes peuvent percevoir leur inclinaison dans une large gamme d'intensité de la gravité. Ces données impliquent donc que les statocytes ne mesurent pas la force exercée par le poids des statolithes sur une zone de la membrane plasmique ou de la paroi. Les statocytes sont plutôt des capteurs de position, permettant une mesure de l'inclinaison de l'organe. Cette théorie est cohérente avec le fait que le déplacement des statolithes est requis pour la graviperception (Chauvet al., 2016).

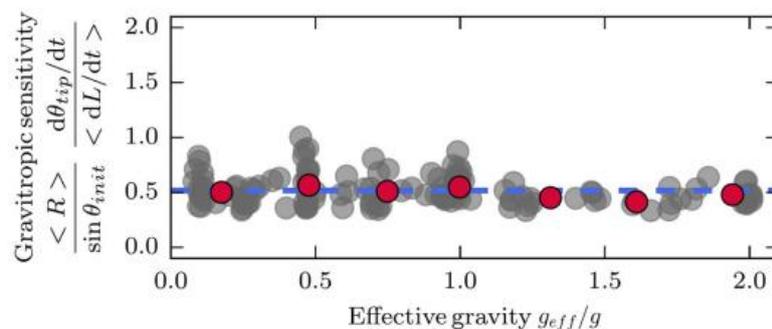


Figure 13 : Évolution de la sensibilité gravitropique en fonction de la force de la gravité.

L'augmentation de l'intensité de la gravité ne modifie pas la réponse gravitropique. Repris de Chauvet et al., 2016

2. Rôle du cytosquelette dans la perception gravitropique

Le réseau du cytosquelette semble jouer un rôle important dans la transduction du signal à la suite d'une stimulation gravitropique. Lors d'une réorientation de tige ou racine, il a été montré des changements de tension dans le réseau du cytosquelette conduisant à des activations de canaux ioniques, permettant la cascade de signalisation en aval (Sievers et al., 1991 ; Yoder et al., 2001). Des expérimentations utilisant des mutants comme *act2-5* du gène ACTIN2 ou des mutants du gène ACT8 (altérant l'avalanche des amyloplastes au niveau racinaire chez Arabidopsis) montrent une très forte sensibilité des plants face à une stimulation gravitropique, en altérant leur réponse (Lanza et al., 2012 ; Nakamura et al., 2019). Les mutations de ces gènes induisent une accélération de l'avalanche des amyloplastes, montrant que les filaments d'actine jouent un rôle dans la régulation de la réponse gravitropique.

Bérut et al. ont proposé un modèle expliquant le rôle de l'actine, associé à la myosine, basé sur des observations détaillées de la dynamique des statolithes. Les myosines forment une famille de protéines motrices capables de se lier aux filaments d'actine. Les interactions actine*myosine produisent des moteurs moléculaires responsables du mouvement actif des vésicules et organelles dans la cellule, incluant les statolithes. Dans le cas des statolithes, ces mouvements seraient toutefois désordonnés et conduiraient à une agitation du tas de statolithes. La présence d'actine*myosine ralentirait la phase d'avalanche du tas de statolithes (soit en changeant la viscosité du cytoplasme, et/ou par effet direct de l'agitation), mais l'agitation induite permettrait au tas de statolithes de se déplacer réellement vers l'horizontale permettant une grande précision de la mesure d'angle par rapport à la direction de la gravité (de l'ordre du degré) (Bérut et al., 2018). Outre les filaments d'actine, les microtubules corticaux semblent également jouer un rôle. À la suite d'une stimulation gravitropique, les microtubules changent d'orientation dans les 15 à 30 premières minutes au niveau de la face supérieure des coléoptiles de maïs (Himmelspach and Nick, 2001). Comme pour les filaments d'actine, des modifications de ce réseau entraînerait une régulation de l'avalanche des amyloplastés (Baluška et al. 1997).

B. Signalisation cellulaire de la voie de transduction lié au gravitropisme

1. Rôle des hormones

Dans le cadre du contrôle postural et des tropismes, l'auxine est une hormone majeure. Elle intervient toutefois non seulement dans la composante perceptive des signaux mais aussi dans la mise en place des mouvements permettant la réorientation des organes végétaux. À l'aune de ce rôle central (et de l'étendue des connaissances accumulées sur le lien entre l'auxine et les tropismes) nous lui dédierions une partie entière (partie III). Toutefois, d'autres hormones peuvent aussi être impliquées, souvent en interaction avec l'auxine.

Lors de la réponse gravitropique, des études ont montré une augmentation de la concentration en gibbérelline sur les faces inférieures des organes en phase de courbure au niveau des pulvini de maïs et d'orge (Zhang et al., 2011 ; Wolbang et al., 2007). Cette hormone semble avoir un rôle dans la régulation de la phase de courbure, notamment via i) une interaction possible avec l'auxine (Gallego-Bartolomé et al., 2001), ou ii) en favorisant un meilleur déplacement des transporteurs PIN d'auxine et donc le flux d'auxine (Lofke et al., 2013). En outre, les gibbérellines ont une action sur la vitesse de croissance de l'inflorescence (Peng et al., 1997 ; Dill et al., 2001), qui rend les mouvements tropiques plus rapides (mais cet effet du moteur du

tropisme ne doit pas être confondu avec un effet réellement tropique (Bastien et al., 2015 ; Pouliquen et al., 2017)).

Outre les gibbérellines, quelques études tendent à montrer une implication de l'éthylène, de l'acide abscissique et de l'acide jasmonique (JA). Chez le coléoptile de riz, la teneur totale en acide jasmonique augmente pendant la réponse gravitropique, avec la mise en place d'un gradient opposé au gradient d'auxine lors de cette stimulation (Gutjahr et al., 2005). L'implication des JA dans la réponse gravitropique est donc une hypothèse plausible (Gutjahr et al., 2005). Une augmentation de l'acide abscissique a été montrée au bout de 6h de stimulation gravitropique dans les faces inférieures des pulvini de maïs (Zhang et al., 2011). Cependant, cette hormone a une fonction inhibitrice de la croissance. Cette augmentation n'est pas en corrélation avec la hausse de l'élongation cellulaire dans les faces inférieures du pulvinus. Les auteurs émettent l'hypothèse que cette hormone pourrait ne pas être seulement un inhibiteur de croissance. Cette hormone pourrait en effet également limiter la production d'éthylène suggérant un rôle dans la croissance des plantules de maïs en intervenant dans la signalisation de l'éthylène (Sharp and LeNoble, 2002).

2. Signalisation lipidique dans la réponse gravitropique

i. Phosphoinositide-specific phospholipase C et inositol-3-phosphate

L'enzyme PI-PLC (Phosphoinositide specific phospholipase C) hydrolyse le phosphatidylinositol 4,5 biphosphate (PIP2) en inositol-3-phosphate (InsP3) et diacylglycérol (DAG) (Berridge, 1993). L'InsP3 est connu pour son rôle de messenger secondaire dans les voies de signalisation cellulaire, notamment dans la libération des réserves intracellulaires de calcium dans la cellule, activant ainsi des voies de signalisation régulées par le calcium. Des augmentations biphasiques des niveaux d'InsP3 ont été observées en réponse à un stimulus gravitropique. L'InsP3 semble être une réponse précoce, avec des fluctuations de son niveau dans les premières secondes après une stimulation gravitropique, puis une augmentation dans les faces inférieures des pulvini d'avoine et de maïs et dans la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana* (Perera et al., 1999, 2001 ; Yun et al., 2006 ; Clore, 2013). Cette augmentation à long terme dépend des PLC et pourrait induire une asymétrie biochimique qui précède la croissance cellulaire différentielle de chaque moitié du pulvinus (Perera et al., 2001 ; Yun et al., 2006). Des plantes transgéniques d'*Arabidopsis* ont été utilisées, exprimant la phosphatase 5-phosphatase de l'inositol polyphosphate de type I humain (InsP 5-ptase), enzyme qui hydrolyse

spécifiquement l'InsP3. La variation de l'angle au bout des racines, hypocotyles et tiges d'inflorescence de ces plantes transgéniques montrent une réduction de 30% par rapport aux plants non mutantes (Perera et al., 2006).

ii. Phosphatidylinositol phosphate kinases et Phospholipase D

Les polyphosphoinositides sont des formes phosphorylées du phosphatidylinositol (PI). Une hausse de l'activité de PIP5K (phosphatidylinositol monophosphate 5-kinase) se produit en même temps que celle d'InsP3 dans les membranes des faces inférieures des pulvini, là où l'élongation cellulaire est la plus forte (Perera et al., 1999). Les mutants *pip5k* montrent une réponse racinaire gravitropique retardée, par défaillance du transport et de la redistribution de l'auxine via les transporteurs PIN2 et PIN3. La PLD hydrolyse les phospholipides structuraux de la membrane, générant de l'acide phosphatidique (PA), un second messager des voies de signalisation (Liu et al., 2013). Chez des mutants KO pour ce gène, le gravitropisme racinaire est inhibé, par absence de sensibilité à l'auxine (Li et Xue, 2007). La PA induit l'activation de la protéine PPI2, qui entraîne une déphosphorylation des protéines PIN et module leur localisation (Gao et al., 2013). Les PI pourraient donc contribuer à l'asymétrie biochimique induite par la gravité permettant la redistribution de l'auxine.

3. Calcium

Dans des expérimentations où des inflorescences d'*Arabidopsis thaliana* sont soumises à des stimulations gravitropiques, le calcium montre des pics de concentration transitoires, de plusieurs minutes et modulés par l'intensité du stimulus (Toyota et al., 2008 ; Plieth and Trewavas, 2002). D'autres études montrent qu'une application de calcium exogène améliore les réponses à une stimulation gravitropique des racines et des hypocotyles, alors que l'utilisation d'inhibiteurs de canaux ioniques mécanosensibles et des canaux calciques perturbent la perception de la gravité (Spore de *Ceratopteris richardii* Salmi et al., 2011 ; Bushart et al., 2013 – Racines d'*Arabidopsis thaliana* Urbina et al., 2006).

Le calcium pourrait réguler le gravitropisme en modulant l'activité et la relocalisation de PIN1. Au niveau racinaire d'*Arabidopsis thaliana*, des approches génétiques et pharmacologiques menées chez des individus sauvages et des mutants *supo1* (présentant une suppression de la surexpression de *PIN1*) montrent que la signalisation calcique médiée par la teneur en InsP3 influence la localisation de PIN1, en partie, *via* des effets sur la kinase PID (Zhang et al., 2011).

Chez des plantules d'*Arabidopsis thaliana*, à la suite d'une gravistimulation, deux pics de Ca^{2+} cytosolique sont induits. Ces deux pics de Ca^{2+} cytosolique se mettent en place dans les 10 premières minutes suivant la gravistimulation. L'utilisation du TIBA, qui est un inhibiteur de transport de l'auxine, atténue fortement ces deux pics de calcium, mettant en évidence un lien entre ces pics et la redistribution de l'auxine dans les premiers instants suivant la stimulation. Il a été montré chez *Arabidopsis* que la redistribution de l'auxine débute 10 minutes après la stimulation gravitropique dans certains tissus voire encore plus longtemps après dans d'autres organes (Parker and Briggs, 1990). En prenant en compte ces informations, le deuxième pic se produirait avant la redistribution de l'auxine chez *Arabidopsis* (Toyota et al., 2008 ; Plieth et Trewavas, 2002). Ces informations permettent d'émettre l'hypothèse que l'auxine pourrait alors intervenir dans le contrôle de la croissance différentielle par la mise en place de son gradient mais aussi dans les voies de signalisation sous-jacentes à la suite de la perception, comme ici avec le calcium.

Cette hausse de Ca^{2+} cytosolique constituerait donc un événement en amont du transport de l'auxine, pouvant être modulé positivement par cette hormone (Toyota et al., 2008). Ce lien est également établi par le fait que la hausse du Ca^{2+} cytosolique entraîne une distribution inégale de l'auxine dans la direction du vecteur de gravité, sans doute par relocalisation des transporteurs PIN au niveau des racines d'*Arabidopsis* (Morita et al., 2004). Ces hausses de Ca^{2+} pourraient être en lien avec le dépôt des statolithes au niveau du réticulum endoplasmique.

4. Déphosphorylation / phosphorylation des protéines

Le mécanisme de phosphorylation ou déphosphorylation de certaines protéines semble être une étape importante de la transduction du signal gravitropique. Des expérimentations portant sur le pulvinus et les racines primaires du maïs mettent en évidence une implication des MAP kinases dans le gravitropisme de ces organes (Clare et al., 2003 ; Liu et al., 2009). Au niveau du pulvinus de maïs, les niveaux de la MAPK entre la face supérieure et la face inférieure du pulvinus montrent une alternance de niveaux plus fort ou moins fort en fonction du temps après inclinaison (par immunokinase ; Figure 14 ; Clare et al., 2003). De plus, l'utilisation d'inhibiteur de MAPK (via l'inhibiteur U0126) entraîne une réduction de l'activité de la MAPK mais aussi une réduction de la variation de courbure du pulvinus du maïs de 65% (Clare et al., 2003). Sur la face supérieure d'une racine de maïs, une accélération de la variation de courbure gravitropique a été observée, alors que sur la face inférieure c'est une inhibition de la variation de courbure (Liu et al., 2009), à la suite d'une gravistimulation.

Les protéines MAP kinases semblent donc jouer un rôle clé dans les mécanismes de réponse à la gravité, agissant à différents stades du gravitropisme et dans différents organes chez le maïs (Clöre et al., 2003).

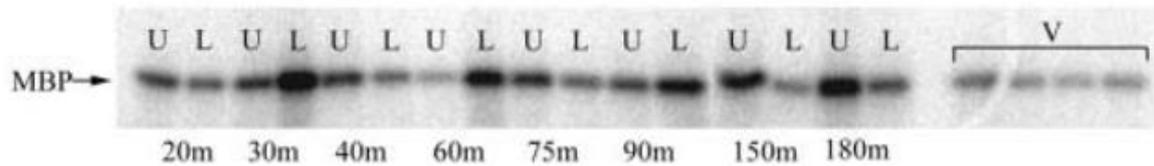


Figure 14 : Suivi de l'activité des kinases dans un pulvinus de maïs à la suite d'une gravistimulation sur un suivi temporel de gravistimulation. Des extraits solubles ont été préparés à partir des faces supérieures (U) et inférieures (L) des pulvini récoltées à différents temps après une inclinaison, où à partir de moitié coupée le long d'un plan aléatoire de plantes verticales témoins (V).

Des immunoprécipitations ont été réalisées à partir de 30mg de protéines totales en utilisant un anticorps ERK1, et des essais de kinase ont été effectués en ajoutant de la MBP (protéine basique de la myéline) comme substrat (Repris de Clöre et al., 2003)

La gravistimulation entraîne au niveau des racines du maïs une phosphorylation rapide d'une MAPK (ZmMAPK5) et une augmentation transitoire des ROS intracellulaires (Joo et al., 2001). Cette phosphorylation est en corrélation avec le temps de stimulation gravitropique minimal nécessaire pour activer les voies de transduction menant à la réponse durant la phase de courbure (soit environ 5,2 minutes pour le pulvinus d'avoine – Clöre et al., 2003).

L'étude de la phosphorylation de protéines de pulvinus de l'avoine gravistimulé indique que des protéines solubles et membranaires montrent des niveaux différents entre le pulvinus témoin et le pulvinus stimulé, ainsi qu'entre les faces supérieures et inférieures. Ces protéines montrent des niveaux de phosphorylations plus importants sur la face inférieure du pulvinus stimulé (Chang and Kaufman, 2000). L'utilisation d'inhibiteurs de protéines kinases et de phosphatases des protéines, permettant d'inhiber les phosphorylations décrites précédemment, engendrent une réduction de la variation de courbure gravitropique des pulvini (Chang and Kaufman, 2000). Le mutant d'*Arabidopsis rcn1* (roots curl in naphthylphthalamic acid1), présentant une insertion d'un T-DNA dans un gène codant une sous-unité de PP2A (phosphoprotein phosphatase 2A regulatory subunit A), présente une altération du transport de l'auxine et un gravitropisme altéré (Muday et al., 2006). L'impact de cette mutation est différent entre le niveau aérien et racinaire. En effet, les racines des mutants *rcn1* montrent un transport altéré de l'auxine et une réponse gravitropisme réduite. Au niveau des hypocotyles des mutants *rcn1*, le transport de l'auxine est augmenté et la réponse gravitropique est accélérée, malgré une élongation globale réduite par rapport aux individus sauvages (Muday et al., 2006). La protéine

RC1 régule l'élongation de l'hypocotyle par la régulation négative de la synthèse de l'éthylène dans les plantules. Cette phosphatase, par son activité en lien avec l'éthylène, pourrait réguler négativement le gravitropisme (Muday et al., 2006).

5. pH

En réponse à une gravistimulation, les modifications du pH cytoplasmique sont causées par un flux différentiel de protons (H^+) entre le cytoplasme et l'espace extracellulaire, notamment observé dans les pulvini de maïs (Johannes et al., 2001 ; Long et al., 2002). Ce changement a été vu de manière spécifique au niveau des statocytes, ce qui a amené l'hypothèse que l'avalanche des statolithes pourrait induire les modifications du pH cytoplasmique. Ce résultat a été retrouvé au niveau des cellules de la columelle des racines d'*Arabidopsis* (Scott and Allen, 1999). Ces changements de pH, notamment au niveau de la coiffe, précèdent toute croissance tropique détectable. Chez des individus où le changement de pH est réprimé précocement à l'aide de l'utilisation de modificateurs de pH, la réponse gravitropique est altérée (Scott and Allen, 1999). De plus, ce changement est absent chez les mutants ne formant pas d'amyloplastes ou avec une avalanche réduite après une stimulation gravitropique (Fasano et al., 2001 ; Blancaflor and Masson, 2003).

6. ROS

Les ROS (Reactive Oxygen species) sont des molécules instables, des radicaux contenant au moins un atome d'oxygène et un ou plusieurs électrons non-appariés. Un lien a été établi entre la localisation de la production de ROS et la position supposée des amyloplastes au sein de la gaine périvasculaire des pulvini de maïs après une minute de stimulation gravitropique (Clare et al., 2013). Cette production et le différentiel de niveaux de ROS entre la face supérieure et inférieure du pulvinus arrive à son maximum après 72h de stimulation. Les ROS pourraient être un composant en aval de la transduction du signal médiée par l'auxine dans le cadre du gravitropisme racinaire du caryopse de maïs (Joo et al., 2001). De plus, certains ROS (comme H_2O_2 , l'anion superoxyde ou l'oxyde nitrique) impacteraient de manière positive ou négative (en fonction de leur concentration et du timing) le transporteur PIN2 et sa relocalisation (Cséplö et al., 2021).

3) L'autotropisme : perception de sa propre courbure

Comme vu précédemment, le gravitropisme et le phototropisme reposent sur la mise en place de courbures locales des organes. Il a toutefois été très tôt observé que ces courbures peuvent être compensées par des mouvements de rectification permettant aux régions courbées de se redresser.

Dans le cas du gravitropisme, ce phénomène a été associé à différentes terminologies telles que réponse autotropique, autotropisme, redressement automorphique, ou automorphogénèse (Stankovic et al., 1998). En 1998, Stankovic a suggéré de réserver le terme "autotropisme" au redressement observé en l'absence de stimulus externe, tel que dans le cas d'une plante initialement courbée en réponse à une inclinaison, qui se redresse lorsqu'elle est placée en rotation dans un clinostat. Plus généralement, des contre-courbures spontanées autotropiques ont été observées chez de nombreuses espèces, par exemple les inflorescences et racines d'*Arabidopsis thaliana* (Okamoto et al., 2015), les coléoptiles et racines de maïs (Hoson et al., 1995) ou les coléoptiles de blé cultivés en microgravité (Hoson et al., 2004). La décourbure autotrope est un processus par lequel les plantes tendent à corriger leur posture pour atteindre la rectitude. En 1978 et 1979, John Digby et Richard Firn décrivent ce mécanisme chez *Arabidopsis thaliana*. En plaçant une inflorescence à l'horizontale, la direction de croissance générée à la fois par le vecteur de gravité et une source lumineuse induit un redressement (par rapport à la verticale) d'abord de l'apex puis du reste de l'inflorescence *via* la croissance primaire. Au fil de l'expérimentation, ils remarquent que certaines régions de la plante, qui se sont courbées dès les premiers instants de la stimulation gravitropique, sont devenues rectilignes au moment où la tige établit son orientation verticale. Ce résultat a été observé à la fois chez *Arabidopsis thaliana*, mais aussi chez des hypocotyles de tournesol, les coléoptiles d'avoine et de blé (Tarui and Iino, 1999). Il a aussi été décrit sur la partie ligneuse (en croissance secondaire) de la tige de peuplier par Coutand et al. en 2007. L'étude de ce tropisme n'est pas simple car cela demande la suspension des autres tropismes présents. L'utilisation d'un clinostat permettant de suspendre le gravitropisme en éliminant l'avalanche des statolithes (en les plaçant en suspension) est une solution pour étudier l'autotropisme. Toutefois, pendant longtemps les auteurs ont pensé que l'autotropisme était peut-être un artefact lié au clinostat.

Ainsi, sa prise en compte dans l'analyse des mouvements et dans le contrôle postural n'était jusqu'alors qu'une option souvent négligée. Mais en 2013, par une approche combinant de la modélisation mathématique et des expérimentations de suivies de cinématiques précises sur un grand nombre d'espèces, Bastien et al. (2013) ont, comme nous l'avons vu précédemment, mis

en évidence le rôle majeur de ce tropisme au sein du contrôle postural, puisqu'il pourrait contrebalancer les effets du gravitropisme et du phototropisme en régulant les courbures. Ces régulations sont basées sur un processus de proprioception et ont pour but d'atteindre un état rectiligne et stationnaire dans le cadre du contrôle postural (Moulià et al., 2021).

A. Perception du signal

1. Hypothèse du cytosquelette

Les premières études mettant en évidence l'implication possible du cytosquelette dans l'autotropisme datent de 2015 (à la suite de la réhabilitation de l'autotropisme et de la découverte de la proprioception par Bastien et al., 2013). Des équipes japonaises ont montré que des myosines sont de possibles acteurs de la proprioception qui est à l'origine de l'autotropisme. Les myosines forment une famille de protéines motrices capables de se lier aux filaments d'actine, impliquées dans l'organisation de ces filaments au sein de la cellule et se répartissant en plusieurs classes, dont la classe des myosines XI qui est spécifique aux plantes. La famille de gènes codant des myosines XI d'*Arabidopsis thaliana* compte 13 membres. Des études utilisant des plants d'*Arabidopsis* mutés pour des myosines de la classe XI (mutant *xif-1 xik-2*) montrent des morphologies ondulantes pour plusieurs organes comme les pétioles ou les tiges inflorescentielles d'*Arabidopsis thaliana* (Ueda et al., 2015 ; Okamoto et al., 2015). Ces résultats indiquent que les myosines XI et XII seraient impliquées dans l'ajustement de la posture de la plante au niveau des organes allongés ou en cours d'élongation tels que la hampe florale. Face à une stimulation gravitropique ou phototropique, ces mêmes mutants développent une variation de courbure extrême au niveau des inflorescences d'*Arabidopsis thaliana*, sans régulation (Okamoto et al., 2015) et une oscillation apparemment sans fin. L'utilisation d'un clinostat pour suspendre le gravitropisme montre que les mutants pour les myosines XI et XII ne peuvent pas redevenir rectilignes (contrairement aux plantes sauvages). Les mutants continuent à se courber et à s'enrouler, et présentent une hypercourbure (Okamoto et al., 2015). Les myosines pourraient donc être des éléments clés dans la chaîne de réaction conduisant à la rectification autotropique.

D'un point de vue anatomique, ces mutants montrent des altérations au niveau de l'architecture des filaments d'actine. Ainsi, le cytosquelette, via les filaments d'actine et les myosines XI, semble jouer un rôle important dans le contrôle postural de la hampe florale d'*Arabidopsis* en régulant la rectification. De nombreux mutants (*cap1*, *fiz1*, *vln2/vln3*) montrent un phénotype

similaire aux mutants *xif xik* avec un port érigé altéré (Deeks et al., 2007 ; Kato et al., 2009 ; van der Honing et al., 2012). Ces gènes sont tous impliqués dans l'organisation et le développement des filaments d'actine (Figure 15).



Figure 15 : Altération de la posture des inflorescences d'*Arabidopsis thaliana* avec des mutations en lien avec les filaments d'actine. Ces mutations portent sur le gène FIZ1 (Figure 15A ; Kato et al., 2009), sur les gènes XIK et XIF (Figure 15B ; Okamoto et al., 2015), sur les gènes VLN2/VLN3 (Figure 15C ; van der Honing et al., 2012) et sur le gène CAP1 (Figure 15D ; Deeks et al., 2007)

D'autres éléments du cytosquelette sont peut-être aussi impliqués, en particulier les microtubules corticaux. Un certain nombre de mutant affectées dans l'organisation des microtubules corticaux montrent une réorientation plus lente ou plus rapide des CMT dans les cellules épidermiques de la partie courbée des hypocotyles d'*Arabidopsis thaliana*. La NIMA (Never In Mitosis A)-related kinase 6 (NEK6) est une protéine associée aux microtubules capable d'induire la dépolymérisation d'un sous-ensemble de microtubules, probablement par une activité de phosphorylation des tubulines. Les microtubules dépolymérisés sont essentiellement ceux les plus alignés avec les contraintes mécaniques (notamment les contraintes de croissance). Chez des mutants *nek6*, les hypocotyles présentent une forme ondulée (Takatani et al., 2020), voire pliée dans certains cas, liée à un schéma de croissance en dent de scie et à des excès de courbure. L'hypothèse est que ces mutants sont hyper-proprioceptifs, et donc perçoivent trop leur forme et leur propre croissance. Les microtubules

corticaux s'aligneraient le long des contraintes de traction provenant des tissus et des organes *via* la variation de courbure mise en place, et fournissant donc à la plante un mécanisme de proprioception pour son développement (Green and King, 1966 ; Williamson, 1990 ; Hamant et al., 2008 ; Bozorg et al., 2014 ; Moulia et al., 2021).

Le rôle possible des filaments d'actine et des microtubules dans la proprioception pourraient conduire à l'hypothèse selon laquelle le cytosquelette fonctionnerait comme un dispositif moléculaire de transmission et de focalisation de forces pour activer des canaux mécanosensibles dans les cellules eucaryotes. L'ensemble de ces résultats montre un possible aperçu du mécanisme de la proprioception, avec un cytosquelette d'actine*myosine et des CMT qui pourraient jouer un rôle de capteur de courbure. Ces résultats sont concordants avec le modèle de Bastien et al. en 2013 où la posture est un équilibre entre une variation de courbure graviperceptive et une contre-courbure proprioceptive. Plus récemment, il a été proposé que les fibres immatures contenant les filaments d'actine et CMT pourraient être des « propriocytes végétaux » (Moulia et al., 2021).

2. LOCUS ELMAKI : Hypothèse de la proprioception verticale

Le locus ELMAKI, mis en évidence chez le bouleau, est essentiel pour permettre la réponse de la croissance radiale par rapport au propre poids de l'arbre (Alonso-Serra et al., 2020). Les auteurs émettent l'hypothèse d'une proprioception verticale permettant aux individus de rectifier leur croissance radiale en fonction de leur propre poids. Chez des arbres mutants pour ce locus, les arbres ne présentent pas la même rigidité des tissus de bois, notamment avec un dépôt de la paroi secondaire compromis. Ces mutants présentent une formation de bois de tension identique aux individus sauvages. Ce locus aurait donc un impact seulement sur les réponses permettant à l'arbre de se tenir droit (Alonso-Serra et al., 2020). Cette interprétation a toutefois été discutée par Moulia et al. (2021) qui proposent plutôt une interprétation en terme de régulation thigmomorphogénétique (régulation mécanobiologique des vitesses de croissance primaire et secondaire sans effet tropique direct) et de possibilité de flambement mécanique.

B. Transduction du signal

Les mécanismes à l'œuvre dans la transduction du signal proprioceptif en signal biochimique ne sont pas encore connus. Cependant, comme pour les autres tropismes, il est probable que les hormones puissent jouer un rôle. Des travaux portant sur la dynamique de variation de courbure

des racines de maïs montrent une accentuation de la phase de courbure lorsque les racines verticales ont été orienté horizontalement, en présence de traitement au LatB (latrunculine B) et eBL (épi-brassinolide). Ces deux traitements inhiberaient l'autotropisme en altérant la dynamique et l'organisation des filaments d'actine (De Bang et al., 2020). Les brassinostéroïdes semblent donc avoir un certain impact sur l'organisation des filaments d'actine, qui impacterait l'autotropisme. L'eBL pourrait également modifier le ciblage des protéines associées à la membrane plasmique comme PIN2, qui est un transporteur d'auxine, entraînant une possible atténuation de l'autotropisme (Li et al., 2005 ; Lanza et al., 2012). Concernant plus spécifiquement l'auxine, une première étude montrent, durant la phase de rectification des zones apicales chez des épicotyles de pois (*Pisum sativum L.*), une réduction de l'asymétrie de l'auxine entre les deux de l'organe mais sans inversion de sa direction. Ce résultat suggère que le mouvement autotropique ne serait pas régulé par la distribution de l'auxine (Haga and Iino, 2006). Néanmoins, en raison du nombre limité d'articles scientifiques traitant de ce sujet spécifique, il est important d'entreprendre des recherches plus approfondies pour mieux comprendre le rôle exact des hormones dans le cadre de l'autotropisme.

III/ L'auxine : Régulateur du contrôle postural

L'auxine est une hormone importante du monde végétal. Elle intervient et régule de nombreux processus. Dans le cadre du contrôle postural, l'auxine intervient dans la composante perceptive mais aussi dans la mise en place des mouvements permettant la réorientation des organes végétaux.

1) Rôle de l'auxine dans la voie de signalisation à la suite de la perception des signaux

La mise en place d'un gradient d'auxine, dans le cadre du phototropisme et du gravitropisme, est une étape clé de la voie de signalisation à la suite de la perception du signal lumineux ou gravitropique. Ce gradient est expliqué par la théorie de Cholodny-Went. Cette théorie indique qu'en présence d'un stimulus (phototropique ou gravitropique), un mouvement de l'auxine est observé entre les deux faces d'un organe. Ce mouvement a été observé tant au niveau d'un pulvinus de maïs gravistimulé (Long et al., 2002), qu'au niveau racinaire chez *Arabidopsis* en présence d'un stimulus phototropique et gravitropique (Friml et al., 2002) et dans la tige de peuplier en présence d'un stimulus gravitationnel (Hellgren et el., 2004). Dans le cadre du

phototropisme, ce premier mouvement est suivi d'un second basipète où le déplacement de l'auxine se met en place entre les régions apicales en direction des régions les plus basales. La formation d'un tel gradient d'auxine permet le mouvement par la mise en place des forces motrices. Ces phénomènes de redistribution de l'auxine observés au cours de la réponse phototropique ou gravitropique suggèrent que la régulation de son transport serait un mécanisme important de contrôle des tropismes. La source de l'auxine est principalement les jeunes feuilles et les cotylédons. L'auxine est transportée par la suite vers les tiges, les hypocotyles et les racines (Tao et al., 2008). Ce transport est possible selon deux modalités. La première est le transport polarisé de l'auxine, impliquant de nombreux acteurs. Chez les plantes, une fraction de l'auxine apoplastique existe sous forme protonée (IAAH) et peut pénétrer dans les cellules par diffusion passive ou par des transporteurs d'influx de la famille des AUX/LAX (AUXIN1/LIKE-AUX1) (Goldsmith, 1977). Dans l'environnement cytoplasmique neutre (à pH 7.0), l'IAA est déprotonée et reste piégée à l'intérieur de la cellule, à moins d'être activement transportée grâce à des transporteurs d'efflux. Cela implique des transporteurs d'efflux qui sont les transporteurs de type PIN (PIN-FORMED) et les transporteurs MDR (MultiDrug Resistance) de la classe des ABCB (ATP-binding cassette B), plus particulièrement ABCB19 (Geisler et al., 2005 ; Friml, 2003). Ces deux transporteurs possèdent des fonctions distinctes dans le transport de l'auxine (Figure 16).

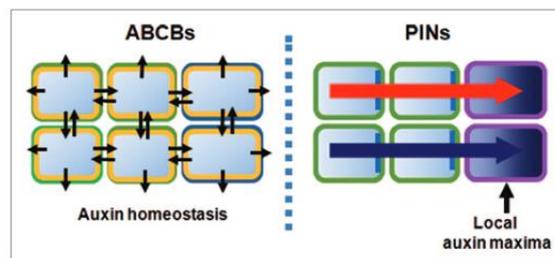


Figure 16 : Fonctions distinctes entre les ABCB et les PIN dans le transport de l'auxine. Les ABCB, localisés de manière stable et symétrique dans la membrane plasmique, fonctionnent en tant que transporteurs d'auxine et régulent l'homéostasie cellulaire de l'auxine. En revanche, les PIN, localisés de manière asymétrique et présentant une dynamique de distribution en réponse aux signaux développementaux et environnementaux, médient le transport directionnel de l'auxine pour créer des gradients locaux d'auxine (Repris de Cho et Cho, 2013).

A. Les transporteurs de l'auxine

Transporteurs PIN

Les protéines PIN (PIN-FORMED) forment une famille (spécifique aux plantes) de protéines transmembranaires qui transportent l'auxine. Les premiers membres de la famille PIN ont été

décrit chez *Arabidopsis thaliana* et sont au nombre de 8 (Bennett et al., 2014). Ils peuvent participer à la sortie de l'auxine via la membrane plasmique ou au déplacement intracellulaire (Křeček et al., 2009 ; Christie et Murphy, 2013). Ces transporteurs peuvent être exprimés dans divers organes allant de la tige (PIN1 par exemple ; Grunewald et Friml, 2010) à la racine (PIN2/PIN5/PIN7 ; Christie et Murphy, 2013) chez *Arabidopsis*. Ces transporteurs sont impliqués dans de très nombreux mécanismes comme l'initiation d'organes et la formation des racines latérales notamment. Certains transporteurs PIN sont plus spécifiquement utilisés dans le cadre du phototropisme et du gravitropisme, comme PIN1, PIN2, PIN3, PIN4, PIN7.

Phototropisme

Lors d'une stimulation phototropique, ces transporteurs sont relocalisés pour permettre la mise en place d'un gradient d'auxine et de son transport différentiel. Par exemple, PIN1 est internalisé et localisé dans des compartiments cellulaires à l'obscurité. En réponse à une stimulation lumineuse, PIN1 est relocalisé au niveau de la membrane plasmique de la coiffe racinaire du maïs (Zhang et al., 2014). Au niveau des parties aériennes chez *Arabidopsis*, PIN1 est relocalisé au niveau du côté interne des cellules de la tige exposée à la lumière. Au niveau racinaire, cette redistribution se met en place et engendre une distribution de l'auxine différentielle chez *Arabidopsis* (Friml et al., 2002). Ces redistributions d'auxine pourraient participer à la réponse phototropique chez l'hypocotyle d'*Arabidopsis* (Ding et al., 2011) ou des racines d'*Arabidopsis* (Zhang et al., 2014).

Gravitropisme

De nombreux autres transporteurs vont jouer un rôle essentiel dans la mise en place de ce gradient et la redistribution de l'auxine en réponse à une stimulation gravitropique. Au niveau des racines, le transporteur PIN2 pourrait réguler la réponse aux changements d'orientation des statolithes en modulant le mécanisme de régulation de l'auxine par le ciblage vers la vacuole dans les racines d'*Arabidopsis* (Baster et al., 2013). Au niveau de jeunes tiges de peuplier, PIN3 présente une localisation au niveau des membranes plasmiques des cellules endodermiques du cortex interne. Au niveau de tiges plus anciennes, PIN3 est exprimée également dans l'endoderme et cellules du phloème secondaire (Gerttula et al., 2015). Suite à une stimulation gravitropique, PIN3 est localisé à la périphérie du cambium. L'auxine ne serait pas transportée vers la zone cambiale du côté du bois de tension de la tige, mais vers le cortex en direction du bois opposé de la tige. Ainsi, le transport latéral de l'auxine vers le bas par les cellules exprimant PIN3 pourrait induire des réponses de croissance différentielle du cambium à la

gravistimulation sur la face supérieure (bois en tension) versus inférieure (bois opposé) de la tige. Cette boucle de régulation engendre une diminution de la capacité de transport de l'auxine sur la face supérieure par augmentation du transport de l'auxine en direction de la face inférieure par relocalisation des transporteurs PIN. Cette relocalisation a été vue également au niveau racinaire avec PIN7 et PIN3 d'Arabidopsis (Kleine-Vehn et al., 2010).

- Transporteurs MDR

Ces transporteurs sont au nombre de 21 chez Arabidopsis (Jasinski et al., 2003 ; Martinoia et al., 2002) et se trouvent au niveau de la membrane plasmique (Geisler et al., 2005). 5 de ces protéines (ABCB1/ABCB4/ABCB19/ABCB14/ABCB15) sont connues pour être impliquées dans le transport de l'auxine, sans pour autant que l'on ait clairement identifié leur rôle au sein des mécanismes de croissance et développement (Titapiwatanakun and Murphy, 2009). Le transporteur le plus étudié est le transporteur ABCB19. Ce transporteur est localisé dans la stèle de la racine et les tissus vasculaires de l'hypocotyle d'Arabidopsis (Zažímalová et al., 2009). Dans le cadre du phototropisme, ce transporteur est une cible du substrat pour la kinase photoréceptrice phot1. Sa phosphorylation inhibe son activité d'efflux, augmentant les niveaux d'auxine dans et au-dessus de l'apex de l'hypocotyle pour arrêter la croissance verticale et préparer des flux latéraux qui sont ensuite dirigés vers la zone d'élongation par PIN3 au niveau de l'apex d'Arabidopsis (Christie et al., 2011).

B. Mise en évidence du rôle de l'auxine

1. Phototropisme

Via des approches génétiques et d'utilisation de mutants, il a été montré au niveau d'hypocotyles d'Arabidopsis mutants pour PIN1, une forte diminution de la réponse phototropique (Sakai and Haga, 2012 ; Noh et al., 2003). Ce résultat est retrouvé chez des mutants *pin3*, *pin7*, avec une plus forte réduction chez des triples mutants *pin1/pin3/pin7* au niveau d'hypocotyles d'Arabidopsis (Sakai and Haga, 2012). Ces mutants d'Arabidopsis présentent une défaillance du transport de l'auxine lors de la réponse phototropique (Christie, 2007). La relocalisation et phosphorylation des transporteurs PIN est un évènement lié, et qui fait suite à la perception de la lumière bleue dans le cadre du phototropisme via les phototropines.

La photoactivation de phot1 entraîne une modification de la localisation de PIN1 et PIN3 dans les cellules d'hypocotyles d'*Arabidopsis thaliana* permettant un transport de l'auxine plus rapide et en plus grande quantité (Ding et al., 2011). L'activité des transporteurs PIN et leur relocalisation en réponse à un stimulus phototropique est également régulée par phosphorylation par deux familles de protéines kinases de la classe AGCVIII : PID (PINOID) (Ding et al., 2011) et des protéines de la famille des D6PKs (D6 PROTEIN KINASE) (Barbosa et al., 2014 ; Barbosa, 2014). Les plantes dépourvues de D6Pks présentent une phase de courbure phototropique défectueuse. Suite à la perception, un gradient d'auxine se forme via l'activité et relocalisation des PIN et MDR, mais aussi AUX1/LAX pour l'auxine protonée dans la racine d'*Arabidopsis* (Kerr et Bennett, 2007). Les récepteurs ABP1 et TIR1/AFB permettent la perception de l'auxine (ABP : AUXIN BINDING PROTEIN ; Lobler et Klambt, 1985 ; TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1)/ AUXIN SIGNALING F-BOX proteins ; Kepinski et Leyser, 2005). Le complexe TIR1-Auxine cible les protéines Aux/IAA (AUXINE/INDOLE-3-ACETIC ACID) qui répriment les ARF au niveau des parties aériennes d'*Arabidopsis* (Gray et al., 2001 ; Zenser et al., 2001). Les ARF peuvent activer la transcription de gènes cibles. Ces derniers sont donc activés et permettent la voie de transduction engendrant la variation de courbure phototropique. Un résumé est présenté en Figure 17.

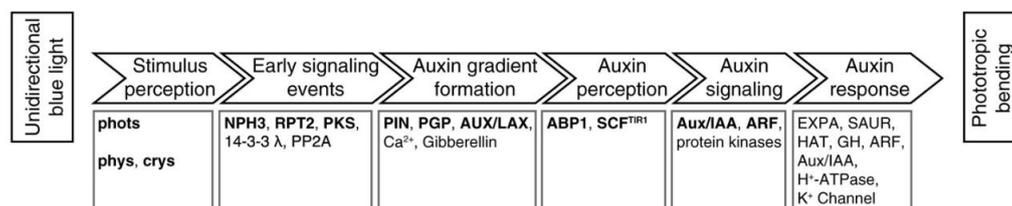


Figure 17 : Schéma des étapes de la réponse phototropique, de la perception de la lumière à la flexion des organes. Repris de Hohm et al., 2013

2. Gravitropisme

La perception de son inclinaison par rapport au vecteur de gravité engendre la relocalisation des transporteurs PIN (ici PIN3) sur la partie inférieure de la cellule inclinée, modifiant le transport de l'auxine au niveau racinaire chez *Arabidopsis* (Nakamura et al., 2019). Chez *Arabidopsis thaliana*, le gène PIN3 est exprimé dans les cellules de l'endoderme de l'hypocotyle, mais aussi dans les cellules de l'endoderme chez le peuplier (Gerttula et al., 2015 ; Groover, 2016). Des hypocotyles d'*Arabidopsis* mutants pour le transporteur PIN3 montrent des phénotypes gravitropiques altérés. La signalisation liée à l'auxine est l'élément clé dans les racines et les tiges. Des protéines liées à la famille LAZY, spécifiques aux plantes terrestres,

agissent en aval de l'avalanche des amyloplastes dans les racines et tiges pour générer une distribution asymétrique des transporteurs d'efflux d'auxine. Ces protéines participent donc à la mise en place de niveau d'auxine plus fort sur la face inférieure des racines et des inflorescences chez *Arabidopsis* (Taniguchi et al., 2017 ; Yoshihara et al., 2017). La protéine ARG1 (Altered Response to Gravity 1), chez *Arabidopsis thaliana*, est une protéine liée à la membrane. Cette protéine semble avoir un impact sur la réponse gravitropique mais pas sur la réponse phototropique, elle n'est donc présente que dans la voie de transduction liée au vecteur de gravité au niveau racinaire d'*Arabidopsis* (Sedbrook et al., 1999). Cette protéine est localisée dans le réticulum endoplasmique, le golgi ainsi que dans des vésicules proches de la membrane plasmique des racines d'*Arabidopsis* (Boonsirichai et al., 2003). Par sa localisation, il est possible qu'une colocalisation se produise entre ARG1 et les transporteurs PIN, suggérant une interaction potentielle (Boonsirichai et al., 2003). Par l'utilisation de mutants (*arg1*) pour cette protéine, il a été montré que le gradient d'auxine était perturbé durant une stimulation gravitropique au niveau racinaire chez *Arabidopsis thaliana*. L'utilisation de ce même mutant a montré une forte réduction de l'avalanche des statolithes au niveau des cellules endodermales de la tige d'*Arabidopsis thaliana* (Kumar et al., 2008), suggérant un double rôle d'ARG1 : dans la perception et la transduction du signal.

C. Impact de l'auxine sur la mise en place des mouvements

1. Dans le cadre de l'élongation différentielle des organes en croissance primaire

Les mouvements de la zone en croissance primaire sont engendrés par la pression de turgescence. L'une des modifications engendrées par la pression de turgescence est une modification des caractéristiques de la paroi cellulaire. Lors d'une inclinaison ou d'une stimulation phototropique, une relocalisation des transporteurs PIN se met en place. Cette relocalisation permet une accumulation d'auxine. Cette hormone induit un relâchement de la paroi cellulaire des coléoptiles d'avoine (Cleland, 1967) permettant la croissance de la cellule et *in fine* une élongation cellulaire. Ce relâchement est notamment induit par l'activation de pompe à protons (H^+), transportant ces ions hors de la cellule et en direction de la paroi cellulaire, créant alors un gradient de pH acide. Ce pH active des expansines, qui décomposent les liaisons polysaccharidiques de la paroi cellulaire, facilitant les déformations de la cellule. L'auxine peut également activer des gènes comme ceux des hémicelluloses et pectines,

favorisant le relâchement. Il est important de noter que l'auxine permet une augmentation de l'extensibilité de la paroi à des pressions de turgescences inférieure à la valeur critique.

2. Dans le cadre du moteur en croissance secondaire

Formation du bois

L'auxine a un impact dans la formation du bois en influençant la division cellulaire. Sa concentration, au niveau du cambium au niveau de la tige de peuplier, peut jouer un rôle dans la détermination du taux de division cellulaire (Bhalerao and Fischer, 2014). L'auxine participe à la régulation du relâchement et de la souplesse de la paroi cellulaire, permettant l'expansion des cellules du xylème durant les premiers stades de la formation du bois. Chez le peuplier, l'auxine montre un motif en cloche à travers les cellules en formation : une forte concentration au niveau du cambium, et une baisse au niveau du phloème et xylème secondaire (Hellgren et al., 2004). Son impact au niveau du cambium jouera notamment sur la cellule en division et son agrandissement : division de la cellule si forte auxine, agrandissement si auxine modérée, dépôt de paroi secondaire si auxine faible (Bhalerao and Fischer, 2014).

Formation du bois de tension

L'un des modèles de formation du bois de tension postule qu'une gravistimulation engendre une asymétrie de la concentration en auxine autour de la tige. Cette asymétrie provoque une déficience de l'auxine sur la face supérieure, induisant alors la formation du bois de tension. Par des approches utilisant du dosage et des applications d'auxine, il a été montré que la formation du bois de tension sur la face supérieure des tiges et des branches est liée à un faible niveau d'auxine notamment chez le peuplier (review par Du et Yamamoto, 2007 ; Necessary et al., 1958 ; Leach and Wareing, 1967). Des études plus récentes utilisant des techniques de génétique et de biologie moléculaire montrent le même résultat. L'expression de deux gènes AUX/IAA (PttIAA1 et PttIAA1) chez le peuplier montre une réduction de 50% dans le bois de tension d'arbres inclinés à 45° par rapport à des arbres contrôles non inclinés (Moyle et al., 2012). Ces gènes sont donc potentiellement des médiateurs de la voie de transduction du signal, dont l'expression aurait changé lors de l'induction de la formation du bois de tension. L'utilisation de peupliers transgéniques avec un métabolisme de l'auxine modifiée montre une altération de la formation du bois de tension (Tuominen et al., 1995). L'induction du bois de tension est permise par le déplacement et le gradient d'auxine (Lepp and Peel, 1971 ; Lachaud,

1987), et donc la réorientation des transporteurs PIN en direction du côté opposé (Gerttula et al., 2015) chez le peuplier.

3. Dans le cadre d'une structure spécialisée des Poacées : le Pulvinus

Le pulvinus étant une structure encore peu étudiée par la communauté scientifique, les données concernant l'impact de l'auxine le sont également. Les théories pour expliquer le mouvement du pulvinus reprennent la théorie de Cholodny-Went. Le mouvement étant provoqué par une élongation différentielle entre les deux faces, une distribution asymétrique de l'auxine pourrait expliquer ce différentielle d'élongation. Cette hormone permet la croissance du pulvinus de façon unilatérale quel que soit sa position le long de la tige (apical, médian ou basal). À contrario, l'application d'auxine exogène permet le développement d'une croissance seulement sur la face où l'auxine a été appliquée, provoquant la même réponse qu'une gravistimulation chez l'avoine (Dayanandan et al., 1976). Le rôle essentiel de l'auxine a également été démontré *via* son dosage, notamment par des techniques de chromatographie à spectrométrie de masse. En réponse à une gravistimulation, un gradient d'auxine apparaît entre la face supérieure et inférieure chez de nombreuses espèces comme l'orge et le maïs à des stades précoces (5-6 semaines de développement) avec des valeurs proches de 10 ng.g sur la face supérieure et 20 ng.g sur la face inférieure. La mise en place de cette asymétrie impliquerait des modifications du transport latéral de l'auxine au niveau du pulvinus de l'avoine (Brock et al., 1991). Ces résultats indiquent une hausse des teneurs d'auxine sur la face inférieure et une non-modification sur la face inférieure du pulvinus chez le maïs (Clare, 2013 ; Long et al., 2002), l'orge (Ross and Wolbang, 2008 – Figure 18 ; Wolbang et al., 2007). Le différentiel de concentration d'auxine entre les deux faces engendre la mise en place d'un gradient d'élongation et permet la variation de courbure du pulvinus (Clare et al., 2013).

L'utilisation de mutants ainsi que d'inhibiteurs de la formation ou transport de l'auxine ont été utilisés pour démontrer son rôle au sein du pulvinus. En inhibant le transport de l'auxine via notamment l'utilisation du N-1-naphthylphthalamic acid (NPA), 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA), morphactine, naringenine, kaempferole et myricetine, des pulvini de maïs montrent une inhibition totale ou partielle de la variation de courbure gravitropique (Clare et al., 2013 ; Brock et al., 1991). Cette avalanche, pour d'autres études, ne serait pas suffisante pour enclencher ce gradient d'auxine (Brock et al., 1991). L'auxine n'a pas seulement un impact sur la croissance des tissus mais aussi sur les autres hormones. Il existe des interactions entre

l'auxine et les gibbérellines dans le pulvinus. En effet, au sein d'un pulvinus gravistimulé, on retrouve le même gradient pour l'auxine et les GA1 (Acide Gibbérellique 1). Cependant, l'asymétrie de concentration de l'auxine précède celui de GA1, ce qui pourrait indiquer que l'asymétrie de l'auxine engendre celle de GA1. L'auxine pourrait donc initier l'action des gibbérellines au sein du pulvinus (Ross and Wolbang, 2008).

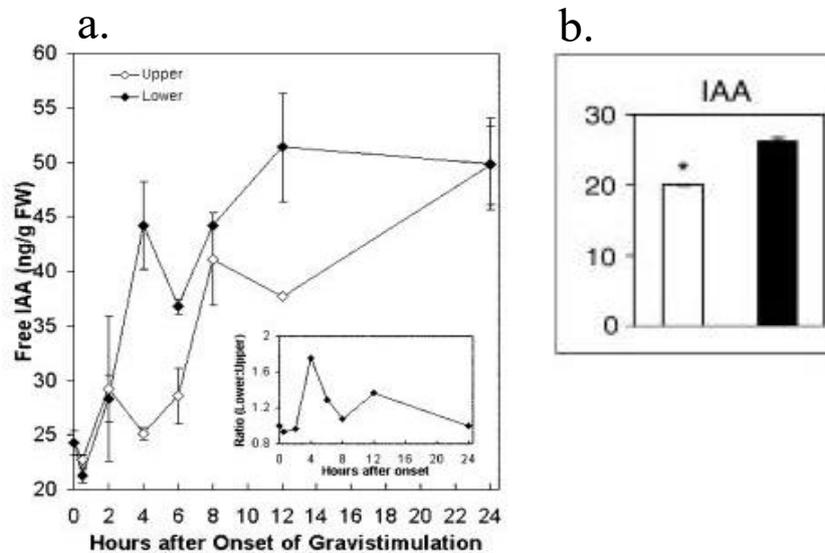


Figure 18 : Effet de la stimulation gravitropique sur les teneurs en auxine. (a) Évolution de la teneur en IAA free à la suite d'une stimulation gravitropique entre la face supérieure (blanc) et la face inférieure (noir) chez le maïs (Long et al., 2002). (b) Évolution de la teneur en IAA à la suite d'une stimulation gravitropique entre la face supérieure (blanc) et la face inférieure (noir) chez l'orge 24 heures après la stimulation gravitropique (Wolbang et al., 2007)

IV) Les moteurs du contrôle postural

La composante perceptive pilote le redressement. Ce redressement passe par des mouvements actifs des organes végétaux *via* une réorientation de la croissance en direction ou à l'opposé des signaux perçus, impliquant donc une composante motrice, liée à la croissance. Cette composante motrice n'implique pas les mêmes types de croissance en fonction des espèces, ni les mêmes tissus. Le premier moteur est lié à de la croissance primaire et agit par élévation différentielle. Le second moteur est lié à la croissance secondaire et agit par la formation d'un bois spécialisé, le bois de réaction, mais aussi, dans d'autres espèces, par l'écorce et les fibres du phloème secondaire.

1) Moteur en zone d'élongation : implication de la croissance différentielle et de la pression de turgescence

Les mouvements des organes en croissance primaire sont liés à une élongation différentielle des cellules entre la face éclairée et non-éclairée dans le cadre du phototropisme, et entre la face supérieure et inférieure dans le cadre du gravitropisme. Celle-ci aboutit ensuite à une réorientation par variation de courbure des organes (Rich and Tomos, 1988). Dans les racines, on observe une élongation plus importante sur la face supérieure par rapport à la face inférieure alors que l'inverse est observé dans les organes aériens (tiges, hypocotyles, coléoptiles par exemple) pour le gravitropisme. Le stimulus enclenche une accélération du taux de croissance sur l'une des deux faces et un arrêt de la croissance sur l'autre face au niveau des coléoptiles de maïs (Firn and Digby, 1980). Le déclenchement de cette croissance différenciée entre les deux faces d'un organe semble débiter simultanément tout le long de l'organe, montrant alors que l'organe répond de manière unilatérale et de la même manière face à un stimulus chez les hypocotyles de tournesol et concombre (Firn and Digby, 1979). Ce moteur est un système dit « continu ». Le mécanisme moteur fournissant l'énergie du mouvement implique la pression de turgescence.

A. Moteur des mouvements : Élongation différentielle et pression de turgescence

Le moteur utilisant la pression de turgescence est présent chez l'ensemble des plantes herbacées mais aussi chez les jeunes pousses et les zones en croissance primaire chez les ligneux. Le mécanisme sous-jacent à ces mouvements est la pression hydrostatique ou la pression de turgescence. On parle de pression de turgescence pour expliquer la pression exercée par le contenu fluide d'une cellule contre la paroi cellulaire (Harmer and Brooks, 2018). Cette pression de turgescence est mise en place au sein des cellules par une forte concentration d'osmolites intracellulaires, pouvant être des ions, des sucres ou des acides aminés (Landrein and Brooks, 2019). Cette concentration génère une différence de potentiel hydrique entre l'intérieur de la cellule et l'extérieur de la cellule (Cosgrove et al., 1993 ; Schopfer, 2006). Dans ce cas, si l'eau n'est pas un facteur limitant de l'environnement, il y a un afflux d'eau à l'intérieur de la cellule qui génère une pression de turgescence, pressant la membrane plasmique contre la paroi cellulaire. Les parois sont alors sous contrainte de tension, ce qui se traduit par leur déformation (Cosgrove et al., 1986 ; Peters and Tomos, 1996). Cependant, la déformation et la croissance de la cellule n'est possible que lorsque la valeur de la pression atteinte à

l'intérieur de la cellule est supérieure à une valeur critique, dépendante du tissu, du type cellulaire et des propriétés de la paroi. La relation entre croissance et pression de turgescence est donnée par l'équation :

$$r = \psi(P - Y) \quad (6)$$

avec r qui est le taux de croissance, ψ qui est l'extensibilité de la paroi, P la pression de turgescence et Y le seuil d'élasticité (seuil au-delà duquel un matériau, ici la cellule ne retrouve pas son état d'origine après avoir subi une déformation).

Une conséquence de la pression de turgescence est donc la mise en place d'une expansion cellulaire (Ray, Green and Cleland, 1972), avec un taux de croissance contrôlé par la pression elle-même, permettant notamment des croissances différentielles entre les deux faces d'un même organe (Braidwood et al., 2014). Cette plus forte pression de turgescence d'une face à l'autre engendre un déséquilibre momentané au niveau des taux de croissance cellulaire entre les deux faces de l'organe (Firn and Myers, 1989). Ces différences locales de croissance peuvent être également déterminées par des modifications de l'extensibilité et de l'élasticité de la paroi cellulaire en lien avec la redistribution et le gradient d'auxine (Braidwood et al., 2014). L'élongation différentielle n'est pas une réponse limitée à une cellule mais est expliquée par des changements du taux de croissance au niveau de toutes les cellules participant à l'élongation (Firn and Myers, 1989).

B. Cas des zones en croissance primaire des ligneux

Les plantes herbacées ne sont pas les seuls à présenter des mouvements provoqués par une élongation différentielle. Chez les arbres, les zones en croissance primaire présentent également les mêmes mécanismes de croissance différentielle pour restaurer leur posture (Figure 19). Ces zones ne sont pas encore matures pour utiliser la croissance secondaire comme moteur et utilisent l'élongation différentielle entre la face supérieure et inférieure pour réaliser ces mouvements de rectification. Ces zones, ayant la même capacité que le reste de la tige de percevoir les stimuli *via* la présence des statolithes et des phototropines, sont capables de réagir à ces stimuli par la mise en place d'une élongation différentielle entre les deux faces. Les mouvements des zones en croissance primaire sont bien plus rapides que ceux dans les zones en croissance secondaire et interviennent avant.

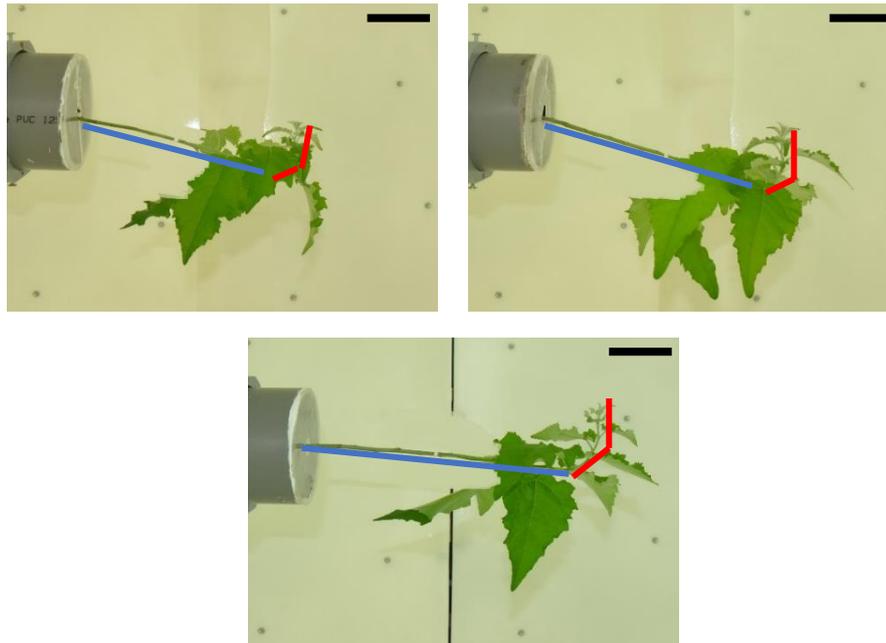


Figure 19 : Courbure de la zone en croissance en primaire des tiges de peupliers. Le segment rouge montre la zone en croissance primaire courbée, en bleu la zone en croissance secondaire.
Échelle = 5cm

2) Moteurs en dehors de la zone d'élongation : Moteur par croissance secondaire par production de bois de réaction

A. La croissance radiale chez les arbres

La croissance radiale est un mécanisme fondamental pour le développement et la croissance des plantes ligneuses. Au sein de l'arbre, la croissance primaire et secondaire se produisent simultanément. Si l'on étudie seulement un segment de tronc, la croissance primaire intervient en premier et permet un gain de longueur. Une fois la croissance primaire arrêtée, la croissance secondaire induit un gain en épaisseur de ce même segment. La croissance secondaire permet la formation du phloème secondaire (écorce) en direction de l'extérieur et du xylème secondaire (le bois) en direction de l'intérieur du tronc. Cette production est réalisée au niveau du cambium vasculaire (Larson and Larson, 1994), qui est un méristème secondaire, situé entre le xylème et phloème secondaire, formant un anneau continu au niveau de l'organe. Il est constitué de quelques couches de cellules qui sont des initiales méristématiques (cellules souches) étroites, allongées dans le sens longitudinal et à paroi mince. Au sein du cambium, on retrouve les initiales de rayon, donnant naissance aux rayons ligneux vers l'intérieur et aux rayons libériens vers l'extérieur, et les initiales fusiformes produisant du côté interne les éléments du bois (trachéides, éléments de vaisseaux et fibres), et les cellules du phloème du côté externe (tubes

criblés, cellules compagnes, fibres) (Lachaud et al., 1999). Ces initiales fusiformes se divisent en longueur et produisent des éléments du xylème et phloème secondaire essentiellement par des divisions périclinales (dans un plan tangentiel) (Plomion et al., 2001).

1. Formation du bois chez les angiospermes

Le bois des angiospermes est composé essentiellement de vaisseaux et fibres impliqués dans le transport de l'eau et le soutien mécanique des arbres. La formation de ces cellules et leur différenciation comprennent 5 étapes (Déjardin et al., 2010) :

- Division cellulaire à partir du cambium
- Expansion cellulaire
- Dépôt d'une épaisse paroi secondaire multicouche
- Mort cellulaire programmée
- Formation du bois de cœur

Le bois, ou xylème secondaire, est produit par le cambium vasculaire. Les initiales fusiformes allongées du cambium permettent la formation, par des divisions périclinales dans le plan tangentiel, du système cellulaire du bois (éléments conducteurs de l'eau, cellules associées aux vaisseaux, fibres et cellules du parenchyme). Les initiales radiales produisent le système cellulaire radial, avec les cellules de rayon parenchymateuses (Mellerowicz et al., 2001 ; Chaffey et al., 2002 ; Fahn, 1990). Ces jeunes cellules s'allongent sans augmenter leur largeur, avec une seule paroi cellulaire primaire. Leur diamètre augmente en établissant une paroi cellulaire secondaire et en acquérant les caractéristiques distinctives de leur type cellulaire. À la fin de leur maturation, les fibres déposent une paroi secondaire très épaisse lignifiée (comme celles des vaisseaux). Le dépôt de la lignine commence avant la fin du dépôt des différentes couches (Donaldson, 2001). La dernière étape est la mort cellulaire programmée, avec la dissociation de la membrane vacuolaire et la libération des hydrolases comme les protéases Cys et Ser, nucléases et ARNases (Turner et al., 2007).

2. Anatomie du bois chez les angiospermes

Éléments du bois

Les vaisseaux sont des cellules spécialisées dans la conduction de l'eau, et participent donc à l'activité hydraulique au sein des arbres. Ces vaisseaux sont orientés longitudinalement par

rapport à l'axe du tronc, avec un diamètre oscillant entre 30 et 300 μm et une disposition variable. Le parenchyme axial est présent autant chez les ligneux que les résineux, avec la même fonction et peut être associé aux vaisseaux ou non. Le parenchyme axial a un essentiellement un rôle dans le stockage et le transport des nutriments, le transport latéral de l'eau et plus généralement la réponse aux conditions environnementales. Les rayons ligneux présentent une densité plus faible chez les ligneux que chez les conifères. Ils sont composés de cellules parenchymateuses, pouvant être horizontales avec une orientation axiale. Ils ont le même rôle que le parenchyme axial (Wiedenhoef, 2010). Les fibres sont des cellules de soutien mécanique, et présentent une longueur plus courte que les trachéides mais plus longue que les éléments de vaisseaux. Ce sont des cellules allongées dans le sens longitudinal, comme les vaisseaux. L'épaisseur de leur paroi secondaire est le facteur qui régit la densité et la résistance mécanique du bois. Ce sont les principaux acteurs de la résistance mécanique, et sont les éléments les plus impactés par des modifications multiples lors d'une réorientation de la tige. (Wiedenhoef, 2010 ; Figure 20).

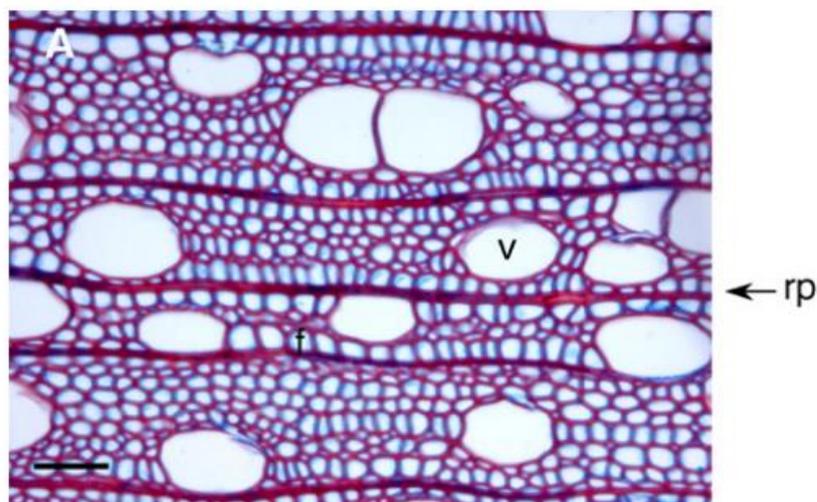


Figure 20 : Coupe transversale d'une tige de peuplier. f : fibres, v : vaisseaux ; rp : rayons parenchymateux (repris de Déjardin et al., 2010).

Paroi secondaire des fibres de bois

Cette paroi se forme à l'intérieur de la paroi primaire et est composée de 3 couches successives : S1, S2 et S3 (Figure 21). Ces 3 couches peuvent présenter des épaisseurs différentes. L'angle des microfibrilles de cellules est différent entre ces couches chez le peuplier : 45% pour la S1, autour de 25% pour la S2 et S3 (Clair et al., 2011). Ces couches successives sont composées de polysaccharides multiples. Le principal composé est la cellulose, représentant 50 à 60% de la paroi. La lignine et l'hémicellulose sont les deux autres composés de ces couches.

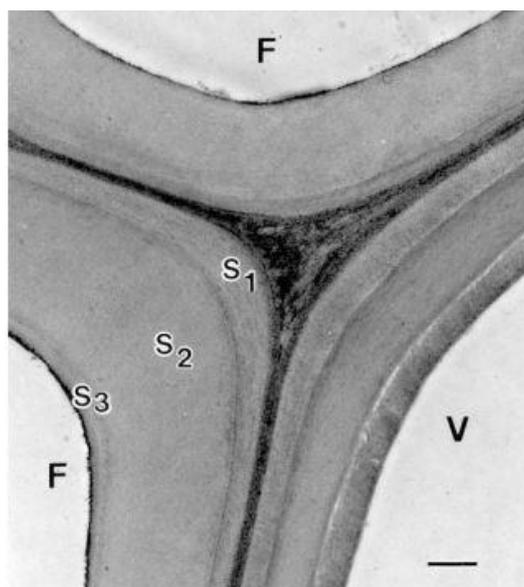


Figure 21 : Paroi secondaire d'une fibre de bois de *Populus deltoides* au microscope à transmission. F : fibres ; V : Vaisseaux ; S1, S2, S3 : sous-couches de la paroi cellulaire secondaire ; Échelle = 0.5 μm (Repris de Joseleau et al., 2004)

3. Hormones impliquées dans la formation du bois

Les hormones végétales jouent un rôle crucial dans la régulation et la coordination des processus de croissance, de développement et de réponse aux stimuli chez les plantes. Parmi eux, les hormones semblent avoir un rôle dans la formation du bois chez les ligneux.

Par l'utilisation de peupliers transgéniques, une réduction de la synthèse des cytokinines entraîne une réduction de la croissance radiale et de l'activité cambiale (Nieminen et al., 2008). Cette hormone présenterait le même gradient en cloche que l'auxine au niveau du cambium vasculaire (Immanen et al., 2016). Ces résultats pourraient indiquer que la signalisation des cytokinines influence négativement l'activité méristématique par sa distribution qui influe sur le gradient d'auxine cambiale (Immanen et al., 2016).

Les gibbérellines sont impliquées dans le dépôt de la paroi secondaire et dans la différenciation et allongement des fibres chez les plantes supérieures (Bai et al., 2014). Un modèle proposé par Israelsson et al. en 2015 propose que les précurseurs des GA soient synthétisés dans le phloème depuis les feuilles, puis transportés au niveau des rayons et convertis en gibbérellines actives. Cette forme contrôle l'allongement des fibres du xylème et favorise son augmentation. Pendant l'activité cambiale chez les plantes ligneuses, l'éthylène impacte de nombreux processus comme la division cellulaire, le dépôt de la paroi secondaire et la formation du bois de réaction et canaux résinifères (Ingemarsson et al. 1991 ; Klintborg et al. 2002 ; Junghans et al. 2004 ;

Felten et al. 2018). Enfin, par une approche pharmacologique et de biologie moléculaire, des forts niveaux de brassinostéroïdes permettent une augmentation de la croissance secondaire et de formation du bois chez le peuplier. Au contraire, une inhibition de la synthèse de cette hormone engendre une diminution de la croissance et de la différenciation des tissus vasculaires secondaires. L'action des brassinostéroïdes semblent être liée aux gènes impliqués dans la différenciation cellulaire et la biosynthèse de la paroi du bois.

4. Gènes impliqués dans la formation du bois

Au niveau de la paroi secondaire des fibres de bois, les deux principaux composants sont la cellulose et la lignine.

La cellulose est le principal composant de la paroi secondaire des fibres du bois (autour de 50%). Sa formation est lié aux CAZYMES, qui sont des enzymes actives sur les glucides permettant la modification de la matrice glucidique des parois cellulaires. Chez le peuplier, les principaux gènes impliqués dans la biosynthèse des parois cellulaires sont les synthases de cellulose localisées dans la membrane plasmique (CESA), synthases similaires à la cellulose (CSL), les pectinméthylestérases (PME), les gènes XTH codant pour les xyloglucanes (XG) endotransglucosylases et hydrolases (XET et XEH), ainsi que les expansines (Djerbi et al., 2005 ; Pelloux et al., 2007 ; Sampedro et al., 2006). La maturation des fibres au sein du xylème nécessite le dépôt de lignine, qui est le second polymère majeur de la paroi secondaire du bois après la cellulose. Chez le peuplier, et plus généralement les angiospermes, la lignine est synthétisée à partir des monolignols. Les monomères de lignine sont déplacés en direction de la paroi cellulaire, où ils sont oxydés par des peroxydases pour leur polymérisation. Ces polymères de lignine se lient aux hémicelluloses de la paroi pour offrir une résistance et rigidité accrue. De très nombreux gènes sont impliqués dans la voie de biosynthèse de la lignine comme les gènes PAL, C4H, 4CL, HCT, C3H, CCR et CAD (Déjardin et al., 2010 ; Vanholme et al., 2008). Chez l'Eucalyptus, des gènes comme EgCAD2 et EgCCR codant des enzymes terminales de la biosynthèse de lignine CCR et CAD montrent une forte expression dans les tissus du xylème au cours de la lignification (Rogers and Campbell, 2004 ; Goicoechea et al., 2005). La biosynthèse de la paroi secondaire des fibres de bois subit une régulation transcriptionnelle notamment *via* les NAC et les MYB.

Au sein de ce réseau de régulation, les NAC des parois secondaires sont des protéines capables d'activer l'ensemble du programme de biosynthèse des parois secondaires. Chez Arabidopsis, 10 protéines (VND) ont été trouvées, régulant la biosynthèse des parois secondaires. Par

exemple, les VND1-7 sont exprimées dans les vaisseaux et leur expression réprime la perte de l'épaississement des parois secondaires des vaisseaux (Kubo et al., 2005). La surexpression de l'une des protéines NAC peut induire une expression des gènes de la biosynthèse de la cellulose, xylane ou lignine, qui sont des composés importants de la paroi cellulaire secondaire des fibres du bois.

Outre les NAC, les facteurs de transcription MYB peuvent jouer un rôle en aval de la formation. Par exemple, les facteurs MYB46 et MYB83 régulent la biosynthèse des parois secondaires. Ils sont exprimés au niveau des fibres et vaisseaux. S'ils sont réprimés ou inhibés, une réduction drastique de l'épaisseur des parois secondaires des fibres de bois a été observée chez le peuplier (McCarthy et al., 2010). Des facteurs de transcription de la famille des ARF (MP/ARF5), liés à l'auxine, peuvent perturber l'organisation normal du bois le long de l'axe apical-basal et entraînent une formation vasculaire discontinue et réduite (Scarpella and Meijer 2004). Ces ARF peuvent être régulés par l'auxine elle-même et une protéine réceptrice comme TIR1. Deux classes de gènes peuvent provoquer de telles modifications de détermination : classe III homéodomaine-leucine zipper (HD-ZIPIII) et la classe de gène KANADI (KAN1-KAN3). Ces deux classes codent des facteurs de transcription. Des mutants de la classe HD-ZIPIII montrent une formation du xylème qui entoure le phloème.

B. Bois spécialisé permettant les mouvements : Le bois de tension

Lorsque le tronc ou les branches des ligneux nécessitent une réorientation, à la suite d'une perturbation mécanique (inclinaison ou vent fort), une distribution de contrainte asymétrique est induite grâce à la formation d'un bois spécialisé que l'on appelle bois de tension. Ce bois est généralement produit sur la face supérieure des troncs inclinés chez les arbres angiospermes. Ce tissu permet à l'arbre d'ajuster de façon continu sa position face aux multiples perturbations qui surviennent tout au long de sa vie (Ghislain and Clair, 2017). L'utilisation de ce moteur est justifiée par le fait que les troncs et branches des plantes ligneuses présentent une rigidité accrue par rapport aux plantes herbacées. Ce paramètre nécessite l'utilisation d'un moteur plus fort et important que la pression de turgescence. Ici, il y a le développement des contraintes directement dans les parois cellulaires des fibres de bois à la fin de la formation et maturation de ce bois spécialisé. La propriété caractéristique associée à la fonction motrice du bois de réaction est la capacité de générer des contraintes mécaniques importantes au cours de la dernière étape du développement des cellules, avec une transformation spécifique des parois des fibres (Fournier et al., 2014).

1. Anatomie du bois de tension

i. Caractéristiques anatomiques des fibres du bois de tension

Le bois de tension présente une anatomie qui diffère sur de nombreux points par rapport au bois normal. En effet, il présente une réduction importante du ratio vaisseaux/fibres par rapport au bois normal et une diminution du diamètre des vaisseaux chez le peuplier (Lautner et al., 2012 ; Jourez et al., 2001 ; Roignant et al., 2018). Au niveau des fibres, cellules jouant un rôle dans la réponse mécanique, une hausse importante de la teneur en cellulose en lien avec la formation de la couche G gélatineuse a été observée chez le cerisier du Japon (Baba et al., 1995). Les fibres à couche G présentes dans le bois de tension ont une paroi secondaire très épaisse, impliquant une lumière cellulaire réduite et donc une densité de bois beaucoup plus importante. La baisse du nombre de vaisseaux dans ce bois spécialisé engendre également une densité plus forte que le bois opposé (Lautner et al., 2012) et une porosité plus faible (Jourez et al., 2001).

ii. Focus sur les fibres à couche G

Les fibres du bois de tension montrent une morphologie anatomique et une composition totalement différente de celles du bois normal du fait de la présence d'une couche spécifique présente dans la paroi secondaire que l'on appelle couche G (ou couche gélatineuse).

Chez le peuplier, les fibres du bois de tension ont une longueur plus importante que celles du bois normal (Jourez et al., 2001), avec également un diamètre plus important (Roignant et al., 2018). Ces fibres ont un rôle très important dans la génération des contraintes de tension, car c'est par l'action et le retrait longitudinal de cette couche G que les contraintes de tension sont générées (Lautner et al., 2012 ; Baba et al., 1995). Chez le peuplier, la couche gélatineuse est composée d'une grande majorité de cellulose (78%), 20% d'hémicellulose (Glucosyl, Galactosyl, Mannosyl, Fucosyl, Xylosyl), et ne présente pas de lignine. Enfin, quelques protéines représentent les 2% restants (Kaku et al., 2009 ; Onaka, 1949). Ces valeurs sont identiques au niveau d'autres espèces de ligneux comme le tulipier de Virginie (Yoshida et al., 2002) ou le cerisier japonais (Baba et al., 1995). La formation de la couche G ne se fait qu'en présence d'une stimulation et de sa perception. Le dépôt de la couche G se fait à la suite de la S1.

Cependant, il faut noter qu'il existe plusieurs stratégies pour son dépôt à la suite de sa formation : la couche G peut remplacer totalement la couche S2 et S3, juste la couche S3, ou la S3 et partiellement la S2 (Saiki et Ono, 1971 ; Lautner et al., 2012 ; Côté et al., 1969 ; Wardrop et Dadswell, 1948 ; Wardrop et Dadswell, 1955).

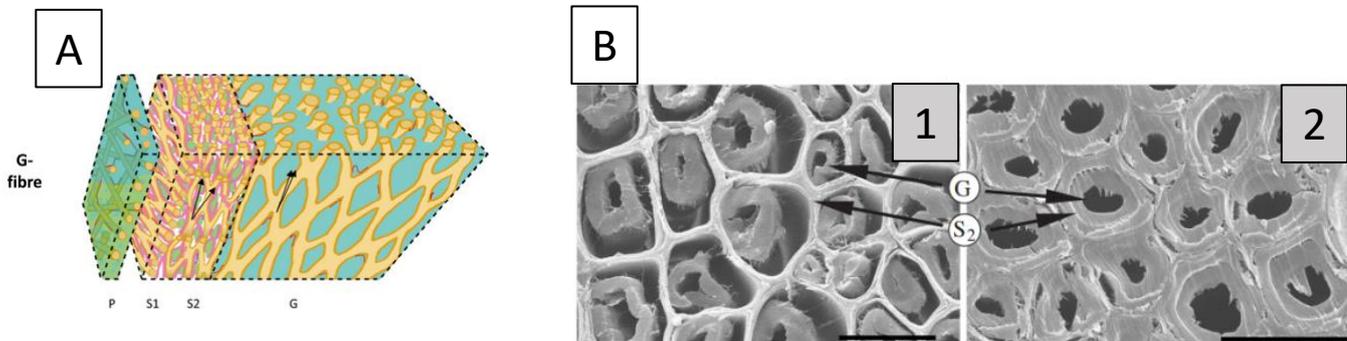


Figure 22 : Anatomie du bois de tension à couche G. A : Représentation schématique de la paroi d'une fibre à couche G. Une partie de la paroi secondaire (S3 voire S2) des fibres de bois est remplacée par une couche G gélatineuse dans le bois de tension (Mellerowicz and Gorshkova, 2012) ; B : Observation du bois de tension à couche G par microscopie à balayage (MEB) chez le peuplier (1) et du hêtre (2). Échelle = 20 μm (Clair and Thibaut, 2001).

La couche G est très épaisse par rapport aux couches S (Côté et al., 1969 ; Mellerowicz et al., 2012 ; autour de 2 μm d'épaisseur dans le bois de tension du peuplier contre 1 μm pour les couches S1+S2), et présente un haut degré de cristallinité grâce à la présence de la cellulose (Norberg and Meier, 1966 ; Baba et al., 1995). La couche G présente une structure similaire à celle d'un gel mésoporeux aux pores remplis d'eau (Clair et al., 2008). Les microfibrilles de cellulose hautement cristallins (Ruelle et al., 2007), orientées quasiment parallèlement à l'axe longitudinal de la fibre (Fang et al., 2008), conduisent à des valeurs de mesure de MFA (angle entre les microfibrilles de cellulose et l'axe longitudinal de la fibre de bois) très faibles, de l'ordre de 0° à 10° chez le bois de tension du peuplier (Al-Haddad et al., 2012 ; Lautner et al., 2012, Pilate et al., 2004 ; Baba et al., 1995 ; Yoshida et al., 2002 ; Roignant et al., 2018), contre un MFA entre 20° et 30° chez le bois normal du peuplier (Roignant et al., 2018 ; Niez et al., 2020 ; Al-Haddad et al., 2012). Ces microfibrilles de cellules sont incorporées dans une matrice non cellulosique (Clair et al., 2008).

2. Gènes impliqués dans la formation du bois de tension

Chez le peuplier, une expression différentielle de gènes impliqués dans la biosynthèse de la paroi cellulaire, le métabolisme des acides aminés et des glucides et les mouvements des

microtubules a été observée entre le bois de tension et le bois normal 30 minutes après une gravistimulation (Lopez et al., 2021). La stimulation gravitropique engendre une reprogrammation de l'expression des gènes qui pilote alors des modifications du métabolisme notamment des glucides, avec une baisse de l'expression de gènes impliqués dans la biosynthèse des monolignols et xylanes dans le bois de tension par rapport au bois normal et opposé chez le peuplier (Lopez et al., 2021 ; Jin et al., 2011 ; Cai et al., 2018). Il a été également observé une régulation positive des gènes de l'expansion cellulaire et une régulation négative des gènes liés à la synthèse de la lignine dans le cadre de la mise en place du bois de tension chez le peuplier (Lopez et al., 2021). Cela est cohérent avec le fait que le bois de tension ne présente que peu de lignine par rapport au bois normal. La maturation des fibres de bois implique également une régulation des niveaux d'expression des gènes *FLA* et *XET/XTH*. Ces *FLA* semblent jouer un rôle dans la détermination de l'angle des microfibrilles de cellules et dans l'adhérence à la paroi cellulaire, comme indiqué dans l'étude de Wang et al. (2015). De plus, ils semblent être impliqués dans le processus de formation du bois de tension. De nombreux gènes impliqués dans la régulation et la biogénèse de la paroi secondaire chez le peuplier sont régulés positivement durant la maturation des fibres de bois de tension (Zinkgraf et al., 2018 ; Chen et al., 2015 ; Bygdell et al., 2017). Des gènes liés aux phytohormones subissent également des régulations (Sousa-Baena et al., 2021). Les gènes *GA20X*, codant des enzymes permettant la conversion des gibbérellines en une forme inactive et participant à l'homéostasie de cette hormone montrent une très forte activité durant la maturation des fibres à couche G chez le chanvre. Concernant les brassinostéroïdes, le gène récepteur *BRI1* est significativement régulé négativement dans et durant la formation du bois de tension par rapport au bois normal. Les gènes *COBRA* sont exprimés dans le bois de tension (Andersson-Gunneras et al., 2006), avec 18 gènes au sein du génome du peuplier (Zhang et al., 2010). Ces gènes sont impliqués dans l'expansion cellulaire anisotrope en modulant l'orientation du dépôt de microfibrilles de cellulose. Ces gènes sont régulés positivement lors de la formation du bois de tension à couche G (Lopez et al., 2021).

3. Rôle des hormones dans la formation du bois de tension

De nombreuses hormones végétales ont été impliquées dans la régulation de l'activité de la prolifération des cellules cambiales et dans la différenciation des cellules du bois. Les hormones peuvent également influencer la formation du bois de tension.

Éthylène

L'éthylène est une phytohormone gazeuse impliquée dans la régulation de nombreux processus biologiques, notamment dans la réponse aux sollicitations mécaniques telles que les flexions transitoires de la tige ou l'inclinaison (Braam, 2005). De nombreuses études ont montré l'implication de l'éthylène dans la stimulation de l'activité cambiale notamment par des approches pharmacologiques et de biologie moléculaire. Le suivi de l'ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid), l'un des précurseurs de l'éthylène, au niveau des branches de pin révèle sa présence dans le cambium vasculaire, particulièrement lors de la différenciation du bois de compression, mais pas dans le bois opposé, selon les observations de l'étude menée par Du et Yamamoto en 2007. L'application d'éthrel (composé libérant de l'éthylène) stimule la production du bois et engendre des modifications anatomiques du bois conférant des caractéristiques typiques du bois de tension. Chez les angiospermes, ce traitement engendre du bois de tension mais sans couche G (Du et Yamamoto, 2007). Andersson-Gunneras et al. (2003, 2006) ont suivi l'expression du gène *PtACO1* (ACCoxidase, qui est la dernière enzyme de la voie de biosynthèse de l'éthylène) et l'activité ACCoxydase dans le jeune bois en développement. Chez des tiges de peupliers inclinés pendant 3 semaines, l'expression de ce gène est fortement activée dans le bois de tension par rapport au bois normal (Andersson-Gunneras, 2006). Un résultat similaire a également été obtenu chez *Liriodendron tulipifera* (Jin et al., 2011). Des approches pharmacologiques et génétiques ont permis de montrer que l'éthylène pourrait être à l'origine de la stimulation de l'activité cambiale observée sur la face où se forme le bois de tension chez des arbres inclinés (Love et al., 2009). Parmi les 170 gènes codant de potentiels facteurs de transcription de type ERF (Ethylene Response Factors) dans le génome du peuplier (*Populus trichocarpa*), 17 gènes sont surexprimés dans la zone cambiale (au niveau du cambium, du jeune phloème secondaire et du xylème secondaire en développement) d'arbres formant du bois de tension par rapport à des arbres n'en formant pas (Vahala et al., 2013). Une étude importante de Seyfferth et al. en 2019, par des approches de biologie moléculaire et l'utilisation de peupliers transgéniques insensibles à l'éthylène, montrent que cette hormone régule les réponses transcriptionnelles, liés à la quantité de formation de fibres à couche G et à leurs caractéristiques (composition ou le MFA) durant la formation du bois de tension. Cependant, d'autres études montrent des résultats plus contrastés sur le rôle de l'éthylène. Cette hormone pourrait avoir un effet de stimulation sur la croissance et formation du bois normal, mais ne montre pas d'impact sur le bois de tension (Phelps et al., 1980 ; Yamamoto and Kozlowski, 1987).

Gibbérellines

Les gibbérellines constituent un groupe d'hormones connues entre autres pour promouvoir la croissance secondaire et la longueur des fibres du xylème (Mauriat and Moritz, 2009).

La mise en évidence du lien entre la formation du bois de tension et cette hormone a d'abord été réalisée par une approche pharmacologique d'application de gibbérellines exogènes. Le bois de tension à couche G est induit sur la face d'application des gibbérellines (Funada et al., 2008 ; Baba et al., 1995). Ce bois induit présente toutes les caractéristiques anatomiques du bois de tension produit à la suite d'une stimulation gravitropique (Funada et al., 2008 ; Nugroho et al., 2012).

Cependant, cette approche montre des résultats contraires chez *Acer rubrum* où l'application stimule la production du xylème mais n'induit pas de bois de tension sur des tiges à la verticale (Cronshaw and Morey, 1968). L'application d'un inhibiteur de la biosynthèse des gibbérellines, l'uniconazole-p (au goutte à goutte au niveau du nœud le plus bas de jeunes plants de *Aesculus turbinata*), engendre une réduction de la formation du bois de tension chez le marronnier (Du et al., 2004), et inhibe la phase de courbure vers le haut malgré la présence des fibres à couche G sur la face supérieure chez le frêne de Mandchouri (Jiang et al., 1998). Cet inhibiteur occasionne une étendue de bois de tension moins importante et une épaisseur de couche G plus faible que dans le bois de tension non traité (Nugroho et al., 2013).

Les gibbérellines pourraient également réguler le lien entre les FLA (Fasciclin-like arabinogalactan protein). Les FLA constituent une classe de protéines appartenant aux AGPs (arabinogalactan proteins) qui jouent un rôle important dans l'expansion cellulaire, la biomécanique des tiges, l'architecture de la paroi cellulaire, l'initiation des fibres et leur allongement chez le coton (MacMillan et al., 2010 ; Harpaz-Saad et al., 2011 ; Huang et al., 2013). Chez le peuplier, un sous-groupe de gènes codant des FLAs sont plus fortement exprimés dans le bois de tension par rapport au bois opposé (Lafarguette et al., 2004 ; Azri et al., 2014 ; Gerttula et al., 2015). Par exemple, la protéine PtFLA6 s'accumule fortement dans le bois de tension avec une localisation préférentielle au niveau des fibres gélatineuses en formation (Wang et al., 2017). Chez des peupliers sous-exprimant le gène *PtFLA6*, la formation du bois de tension est inhibée. Dans le même temps, il a été montré qu'une inhibition de la biosynthèse de GA3 (Gibbérelline A3) au niveau de tiges de peuplier inclinées par l'utilisation d'un inhibiteur de biosynthèse de GA (daminozide) réprime la formation de bois de tension, tout en inhibant la stimulation de l'accumulation des protéines PtFLA6 et la stimulation de l'expression de plusieurs gènes codant des PtFLA. Il existerait donc un lien entre les FLA et la formation de bois de tension qui pourrait être régulée par les GA (Wang et al., 2017).

4. Fonctionnement du bois de tension comme moteur

i. Modèle de Fournier

Chez de nombreuses espèces d'angiospermes, la réorientation de la partie en croissance secondaire d'une tige (tige principale ou branche latérale) requiert la formation de bois de tension. L'efficacité de cette stratégie est le résultat de la balance entre le processus moteur (qui fournit l'énergie mécanique permettant l'actuation dans le tissu actif, ici le bois de tension) et la résistance mécanique des tissus environnants liée à leur rigidité (Fournier et al., 2014). Fournier et al. (1994) repris par Alméras et Fournier en 2009 ont proposé un modèle simple pour simuler les changements de forme d'une tige lignifiée au cours d'un mouvement de flexion. Ce modèle est basé sur des relations mécaniques entre la croissance, la formation de bois de tension et la réponse locale de variation de courbure. Ce modèle peut être défini à l'échelle d'une section transversale circulaire de diamètre D (tranche d'épaisseur très faible), et réalisant un incrément de croissance dD (Figure 23).

L'action du bois de tension peut être expliquée par une tendance au retrait longitudinal de ses fibres lors de la maturation (selon des mécanismes que nous détaillerons ultérieurement). Mais une fibre donnée ne présente un retrait de maturation qu'une seule fois. Pour avoir un effet moteur du bois de tension qui dure dans le temps, il faut donc que de nouvelles fibres de bois de tension soient créés par le cambium, puis murent. La quantité de nouvelles fibres arrivant dans la zone de maturation pendant une période donnée est liée à la croissance secondaire, plus exactement à l'incrément de croissance radiale produit (le diamètre des fibres étant assez peu variable). Les retraits de maturation des nouvelles fibres appuient sur le « cœur » de bois déjà existant, ce qui met les nouvelles fibres de bois de tension en tension, et comprime le cœur de bois central. Ces tensions sont appelées contraintes de maturation.

L'incrément de croissance va donc apporter de nouvelles contraintes de maturation. Pour que ces contraintes liées au retrait des nouvelles fibres aient un effet moteur entraînant une variation de la courbure de la tige au niveau de la section droite (tranche) considérée, il faut qu'elles ne soient pas les mêmes sur toute la circonférence de la zone en maturation des fibres. Il faut donc que le bois de tension soit limité à un secteur, et que sur le reste de la circonférence de l'incrément de croissance, les fibres qui murent soient des fibres de bois normal.

Une façon réaliste et simple de modéliser la distribution circonférentielle de ces nouvelles contraintes de maturation est de la définir comme une fonction cosinus de la position circonférentielle θ :

$$\alpha(\theta) = \bar{\alpha} + \frac{\Delta\alpha}{2} \cos \theta \quad (7)$$

Où $\bar{\alpha} = \frac{(\alpha(0) + \alpha(\pi))}{2}$ est la contrainte de maturation moyenne et $\Delta\alpha = \alpha(0) - \alpha(\pi)$ est la différence de contrainte de maturation entre la face inférieure et la face supérieure. La déformation de maturation est fortement négative dans le bois de tension des angiospermes.

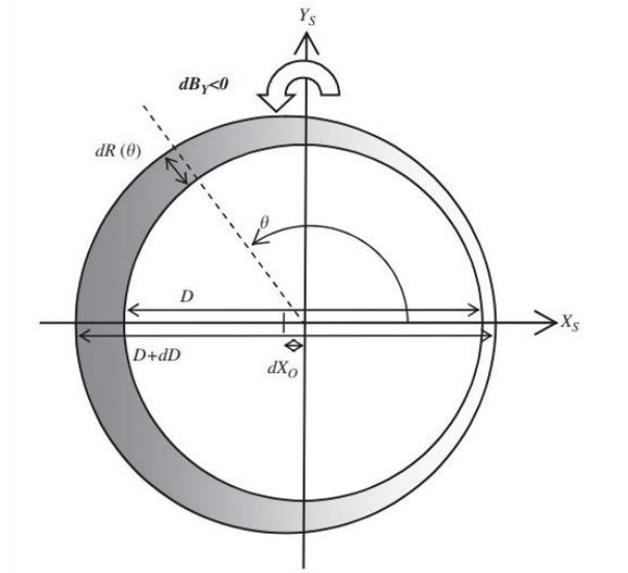


Figure 23 : Modèle de référence pour une section excentrique hétérogène de diamètre D soumise à un accroissement de diamètre dD (Repris de Alméras and Fournier, 2009).

La distribution du MOE (module d'élasticité aussi appelé module d'Young, traduisant la rigidité élastique du bois) est donnée par une loi similaire :

$$E(\theta) = \bar{E} + \frac{\Delta E}{2} \cos \theta \quad (8)$$

Où $\bar{E} = \frac{(E(0) + E(\pi))}{2}$ est la MOE moyenne et $\Delta E = E(0) - E(\pi)$ est la différence de MOE entre le bois de réaction et le bois opposé. Le bois de tension est généralement plus rigide que le bois normal (Alméras et al., 2005). La distribution du MOE peut être :

$$E(\theta) = \bar{E}(1 + k_e \cos \theta) \quad (9)$$

Quand il y a production d'un secteur de bois de tension, l'accroissement radial est généralement excentrique (la croissance radiale est plus rapide là où se différencie le bois de tension). Dans

le modèle, l'excentricité de l'anneau de croissance est caractérisée par un paramètre $k_0 = \frac{dX_0}{dR}$, où dX_0 est le changement de position du centre de la section par rapport à une référence fixe (ex : moelle) et $dR = \frac{(dR(0)+dR(\pi))}{2}$ est le changement moyen de rayon. Ainsi k_0 peut aussi être exprimé comme $k_0 = \frac{(dR(0)-dR(\pi))}{(dR(0)+dR(\pi))}$ et est compris entre -1 et 1, étant généralement négatif pour une angiosperme (excentricité vers la face supérieure en cas d'inclinaison).

L'épaisseur de l'anneau de croissance à n'importe quelle position peut être exprimé approximativement :

$$dR(\theta) = dR (1 + k_0 \cos \theta) \quad (10)$$

Le moment de flexion autour de l'axe (Y) généré par la maturation d'un incrément de croissance (Figure 23) peut alors être calculé. Les contraintes de maturation sont nulles sur toute la section à l'exception de la couche de bois la plus externe d'une épaisseur dR , et le moment de flexion peut donc être calculé comme une intégrale par rapport à Y :

$$dB_y^{matur} = \frac{-\pi}{2ER^2} dR (\Delta\alpha \left(1 + \frac{3}{4}k_e k_0\right) + 2\bar{\alpha}(k_e + k_0)) \quad (11)$$

Le taux de correction gravitropique, défini comme le changement de courbure induit par la maturation d'un incrément de diamètre élémentaire, peut être exprimé :

$$\frac{dC_Y^{mature}}{dD} = -4 \frac{e_r}{D^2} \quad (12)$$

Où $\frac{1}{D^2}$ est un paramètre exprimant l'effet de la taille de la section et e_r est un paramètre sans dimension exprimant l'efficacité du processus de maturation :

$$e_r = \frac{\Delta\alpha f \bar{E}}{E} \quad (13)$$

Où $\Delta\alpha$ est la différence des contraintes de maturation entre la face supérieure et la face inférieure et $\frac{\bar{E}}{E}$ est le ratio entre le MOE moyen du nouvel anneau et le MOE homogénéisé de la section. Le facteur f quantifie l'effet des variations circonférentielles de la largeur et de la rigidité de l'anneau, qui sont pris en compte comme suit :

$$f = 1 + \frac{3}{4k_E k_0} + (k_e + k_0)2\bar{\alpha}/\Delta\alpha \quad (14)$$

Ce facteur ne dépend pas de la quantité de matériel de bois ou de sa qualité. Il ne dépend que de la répartition sur la circonférence, et sera appelé « facteur de forme ». Il est égal à 1 si la section est homogène et concentrique, comme on le suppose dans les modèles précédemment publiés (Fournier et al., 2006). Ce modèle a été utilisé par d'autres auteurs pour simuler les réorientations d'un arbre entier pendant toute sa vie, en utilisant des éléments finis ou des matrices de transfert (Fourcaud and Blaise, 2003 ; Fourcaud and Lac, 2003 ; Ancelin et al., 2004).

ii. Les contraintes de traction des fibres gélatineuses permettent le mouvement

Le bois des arbres vivants subit des contraintes mécaniques importantes. Au niveau interne, on les appelle des contraintes de croissance. Ces contraintes résultent de deux types de contraintes différentes : (1) les contraintes de chargement, provenant d'une réponse élastique à la charge de croissance du bois du tronc et des branches présentes sur l'arbre et (2) les contraintes de maturation qui apparaissent spontanément à l'intérieur du bois au cours de sa formation et qui sont des contraintes longitudinales de tension dans les zones en croissance secondaire du tronc. Comme nous l'avons vu au paragraphe précédent une répartition hétérogène des contraintes longitudinales de tension sur la circonférence de ce tronc génère au sein d'une tranche de tronc un moment de flexion qui permet le changement de courbure du tronc.

Ainsi la composante motrice du contrôle postural pour les parties ligneuses des axes est liée à ce moment de flexion, qui est donc nécessaire pour que l'arbre reste droit et vertical malgré la présence de nombreuses perturbations le déviant de la verticale. En réponse à une inclinaison, la dissymétrie anatomique du bois entre la face supérieure (bois de tension) et la face inférieure du tronc (bois opposé) est à l'origine d'une importante dissymétrie de contraintes de tension permettant un fort moment de flexion interne, ce qui actionne la variation de courbure des différentes tranches et finalement le mouvement vers le haut (phase de courbure). En effet dans le bois de tension, les contraintes de tension sont environ 5 à 10 fois plus élevées que dans le bois opposé (Archer 1986 ; Fournier et al. 1994 ; Clair et al., 2013 ; Yoshida et al., 2002 ; Clair et al., 2003 ; Fang et al., 2008 ; Fisher, 2008 ; Abasolo et al., 2009).

iii. Hypothèses et modèles de la génération des contraintes

La présence importante de cellulose ainsi que son haut degré de cristallinité sont fortement corrélées aux contraintes au sein des fibres bois de tension chez l'eucalyptus (Washusen et al.,

2005) et chez le peuplier (Clair et al., 2011, 2001). Ces observations suscitent de nombreuses interrogations sur l'influence potentielle de la cellulose sur la génération des forces de traction au sein de la couche G, et sur la manière dont ces forces pourraient être transmises aux contraintes de traction longitudinales. 3 hypothèses sont résumées dans la Figure 24.

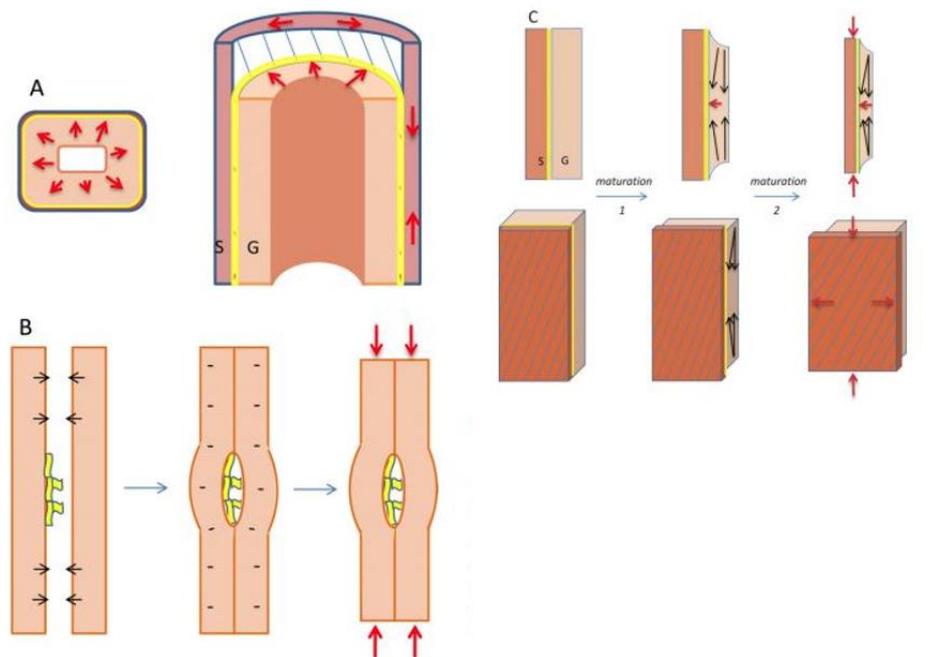


Figure 24 : Hypothèses de la génération des contraintes de tension dans les fibres à couche G.

(A) Hypothèse du gonflement de la couche G. (B) Hypothèse du retrait longitudinal de la couche G, contrainte générée par la cristallisation des microfibrilles adjacentes entre lesquelles sont piégés de courts tronçons de polysaccharides matriciels, ce qui entraîne une déformation du réseau de cellulose. (C) Mécanisme combiné de génération de tension dans les fibres G par rétrécissement longitudinal de la couche G, conduisant à une pression radiale sur les couches S. (Repris de Mellerowicz et al., 2012)

Hypothèse du gonflement de la couche G (ou de la pression de la couche G)

Cette hypothèse a été émise dès 1938 par Munch. Il propose que la contrainte de tension observée dans le bois de tension résulterait du gonflement de la couche G et de son interaction avec les couches S de la paroi secondaire. Par la suite, ce mécanisme a été revisité et expliqué comme suit (Goswami et al., 2008). La couche G gonflerait en raison de sa nature hydrophile et engendrerait une modification du potentiel hydrique à l'intérieure des pores de la matrice polysaccharidique. Du fait de la faiblesse des MFA observée dans la couche G, ce gonflement ne se produirait que latéralement. Cela générerait une pression vers l'extérieur en direction des couches S de la paroi secondaire, qui tendraient à s'étendre latéralement. En conséquence, les couches S auraient tendance à se rétracter longitudinalement, ce qui serait à l'origine des contraintes de tension du bois de tension.

Généralement, ces modifications se produisent à la suite de l'agrégation de la cellulose et leur formation en structure en treillis (Figure 25). Cette structure en treillis se met en place à la suite de la maturation et de la lignification du bois.

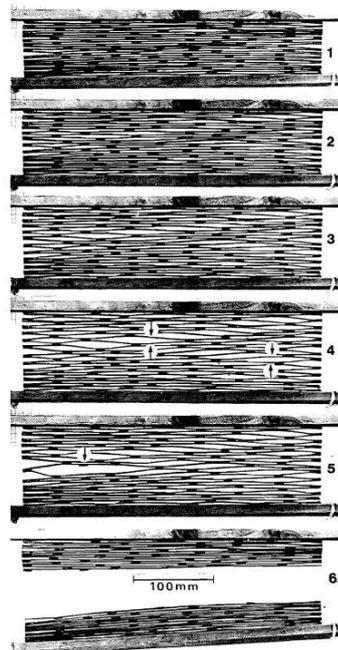


Figure 25 : Modèle de la formation en treillis des microfibrilles de cellulose dans une paroi secondaire chez le bambou. La phase 1 représente la position initiale des microfibrilles transversales. Les phases 2 à 5 montrent un étirement progressif pour représenter une extension de croissance de 50 %. La défaillance a commencé à la phase 5 et a conduit à une séparation totale à la phase 6 (Repris de Boyd et Foster, 1975).

Le gonflement de la matrice permettrait une interaction avec les agrégats de microfibrilles de cellulose, les mettant en courbure induisant alors une rétraction et une tension le long de la cellulose (Boyd et Foster, 1975).

Hypothèse de la tension de la cellulose

La première hypothèse stipule que les contraintes de tension observées dans le bois de tension s'exerceraient préférentiellement sur les couches S. Dans cette seconde hypothèse, les contraintes auraient la couche G pour origine. La couche G étant liée aux couches S, cela provoquerait également une rétraction des couches S. Il a été montré que les fibres à couche G se rétractent dans l'axe longitudinal après une coupure. Cela implique un relâchement des contraintes et donc que cette couche G est bel et bien sous tension (Clair et Thibaut, 2001). Au sein de cette couche, les microfibrilles de cellulose composent le squelette de la couche G, et elles forment un réseau parallèle à l'axe de la fibre. Des contraintes de l'amplitude attendue

dans un tel scénario ont été mesurées dans les fibrilles de cellulose grâce à une analyse par diffraction des rayons X (Clair et al., 2006). De plus, elles se développent dans les fibrilles de cellulose peu de temps après, ou pendant, le dépôt de la couche G (Clair et al., 2011), au moment où la tension se développe dans la couche G. Si la couche G se rétracte, ce réseau de microfibrilles devrait se rétracter également. Cela indique clairement que la contrainte de traction dans la cellulose est une source primaire de contrainte de tension dans la couche G (Clair et al., 2011). De plus, une corrélation a été observée entre les tensions produites et le diamètre des microfibrilles de cellulose (Ruelle et al., 2007), suggérant que le mécanisme dépend également de la formation des microfibrilles. Le mécanisme sous-jacent reste pour l'instant non identifié. Il a toutefois été proposé que des polysaccharides de la matrice (xyloglucanes par exemple) resteraient pris au piège entre les microfibrilles de cellulose naissantes, ce qui induirait une contrainte dans les chaînes de glucane qui sont enroulées autour des polysaccharides piégés, formant ainsi une sorte de « muscle moléculaire ».

Vers un modèle unifié ?

Les deux hypothèses présentées précédemment montrent que la couche G est essentielle à la mise en place de contraintes dans les fibres du bois de tension. Ces contraintes provoquent un retrait longitudinal de la couche G, quel que soit l'hypothèse, permettant de « tirer » et de redresser la tige ou la branche. Mais ces deux hypothèses ont deux origines différentes : une pression radiale en direction de l'extérieur ou une tension longitudinale interne (les deux ayant été observés expérimentalement). L'une des hypothèses récentes est d'unifier ces deux hypothèses pour n'en faire qu'une. En effet, la pression radiale exercée par la couche G pourrait être une conséquence de la tension longitudinale et due au retrait différentiel entre les régions les plus internes et les régions les plus externes de la couche G (Mellerowicz et al., 2012). On serait alors dans la coexistence de ces deux phénomènes. Au niveau des fibres à couche G, le retrait longitudinal de la couche G exercerait une force horizontale vers l'extérieur (Figure 24) sur la couche S. Cette phase de retrait pourrait être une étape clé dans la génération de la pression extérieure de la couche G sur la couche S, comme l'ont observé Goswami et al. (2008). Cette pression entraînerait un retrait de la couche S, selon un mécanisme précédemment proposé (Goswami et al., 2008). Un tel rétrécissement différentiel des régions internes et externes de la couche G a déjà été observé dans certains échantillons par microscopie électronique (Clair et Thibault, 2001).

C. Rôle de l'écorce comme force motrice chez les ligneux

La formation du bois de tension pourrait ne pas être le seul mécanisme permettant la réorientation des axes des arbres suite à une perturbation.

Chez certaines espèces, notamment de la famille des Malvacées, le bois de tension produit ne présente pas de fibres à couche G et présentent des caractéristiques anatomiques du bois de tension typique (Ghislain and Clair, 2017). Malgré cela, la réorientation des axes de ces arbres est possible. L'hypothèse du rôle de l'écorce a été émise par Böhlmann en 1971 et Fisher and Mueller en 1983. Une étude récente par Clair et al. (2019) a permis de caractériser et mettre en évidence le rôle moteur de l'écorce dans le contrôle de la posture. Dans cette étude, de jeunes arbres d'espèces tropicales inclinés et fixés pendant 3 mois, présentent un mouvement instantané de variation de courbure vers le haut de la tige après avoir été libérés de leur attache. Ce changement de variation de courbure est en moyenne de 5.5 à 8.5 degrés.dm⁻¹ (valeur la plus faible de 3.1 degrés.dm⁻¹ et valeur la plus forte de 15.9 degrés.dm⁻¹). Sur des segments de ces mêmes individus où l'écorce a été retirée, une diminution de la variation de courbure a été observée (de l'ordre de 3 à 7 degrés.dm⁻¹ chez certaines espèces), valeur qui est du même ordre que le changement de variation de courbure du retrait élastique. Cela indique une contribution majeure de l'écorce dans la genèse des forces de traction permettant le mouvement de courbure vers le haut de ces espèces de Malvacées. Cependant, toutes les espèces ne sont pas concernées par ce changement de variation de courbure sur des tiges sans écorce (Clair et al., 2019). Tous les arbres de l'expérimentation produisent du bois avec une contrainte de traction longitudinale sur le côté supérieure de la tige (Clair et al., 2019). L'efficacité de ce mouvement dépend de la différence de cette contrainte entre les deux faces de la tige. Les déformations longitudinales du bois sont les plus faibles chez les espèces où le rôle actif de l'écorce vu précédemment est le plus fort. En fonction des espèces étudiées, le rôle de l'écorce est donc varié (Clair et al., 2019). L'origine du rôle de l'écorce et des contraintes associées est encore en discussion. L'hypothèse émise explique que lors de la division et l'agrandissement des cellules parenchymateuses, ces dernières exercent une pression tangentielle sur les faisceaux de fibres du phloème en les éloignant, de sorte que le treillis de l'écorce a tendance à se raccourcir et à produire une contrainte de traction longitudinale. Cette hypothèse reste sujet à discussion.

3) Moteurs en dehors de la zone d'élongation : Moteur par croissance différentielle sur une zone particulière et localisée : le Pulvinus chez les Poacées

Les Poacées ont perdu la structure cambiale au cours de leur évolution. Elles ne peuvent donc pas disposer d'un moteur en croissance secondaire, comme les ligneux sur leurs tiges inflorescentielles. Les graminées vont donc utiliser une 3^{ème} stratégie (lié à la croissance primaire) *via* l'utilisation de cette structure spécialisée au niveau de la tige, le pulvinus. Ces pulvini ne sont présents qu'au niveau des nœuds de la tige, fournissant un système moteur (et d'ailleurs comme on le verra un système perceptif) discontinu (Mouliat et al., 2006). Pour comprendre comment ce système peut marcher, il faut étudier l'anatomie du pulvinus.

A. Anatomie du pulvinus

1. Découverte de cette structure

Dès la fin du 19^{ème} siècle, le botaniste allemand Julius Von Sachs décrit pour la première fois le pulvinus. Il décrit cette structure comme un gonflement (Figure 26) au niveau du nœud. Il note que chez les tiges de graminées, les pulvini sont très flexibles.

Le pulvinus est une structure particulière et très localisée que l'on retrouve tout le long de la tige des Poacées, en forme de disque (Figure 26b ; Brown et al., 1959 ; Collings et al., 1998 ; Clore et al., 2013). Généralement, les tiges de Poacées contiennent entre 2 et 4 pulvini en fonction des espèces (Clore et al., 2013). En condition non inclinée, le pulvinus ne montre aucune croissance primaire (Sachs, 1887 ; Kaufmann et al., 1987 ; Collings et al., 1998). En 1906, Ernst Lehmann observe que cette région est la seule région des céréales à contenir des amyloplastes. Ces deux botanistes et leurs travaux ont été à la base de la recherche portant sur les graminées et sur le pulvinus.

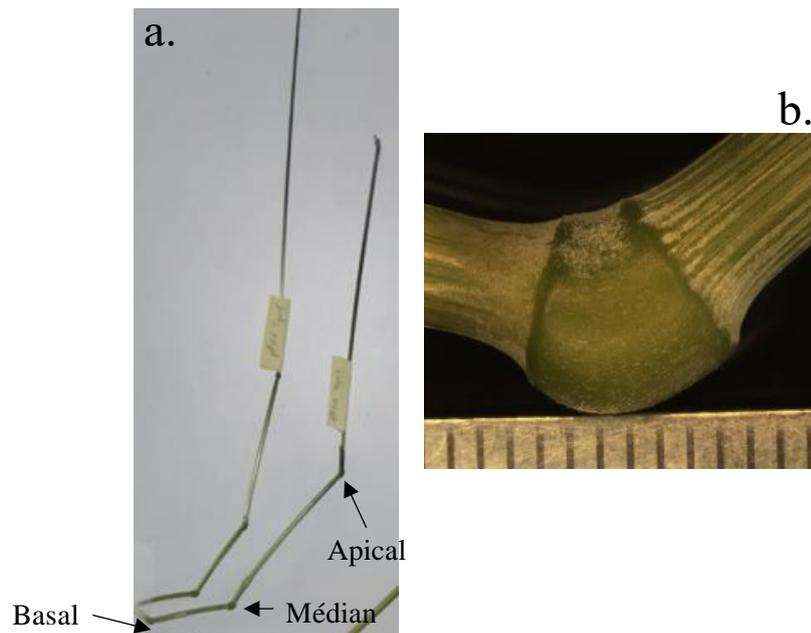


Figure 26 : Structure du pulvinus, élément percepteur et moteur chez les Poacées. (a) Vue d'ensemble d'une talle de blé et ses 3 pulvini. (b) Structure externe et visualisation de l'élongation différentielle du pulvinus. (photos Bruno Moulia)

2. Anatomie interne du pulvinus

Le pulvinus englobe la tige centrale. Il est délimité par un épiderme interne et un épiderme externe (Figure 28). Entre ces deux épidermes, on observe un grand nombre de faisceaux cribro-vasculaires entourés de cellules contenant des amyloplastés et surmontés d'un amas volumineux de cellules collenchymateuses, le reste des cellules étant de nature parenchymateuse (Dayanandan et al., 1976) (Figure 27). Les amyloplastés contenus dans le pulvinus montrent un phénomène d'avalanche complet entre 10 et 15 minutes après une gravistimulation, ce qui permet de penser qu'ils ont la fonction de statolithes (et que donc les cellules qui les contiennent sont des statocytes). La Figure 27 résume l'ensemble des éléments décrits dans les sous-parties ci-dessous.

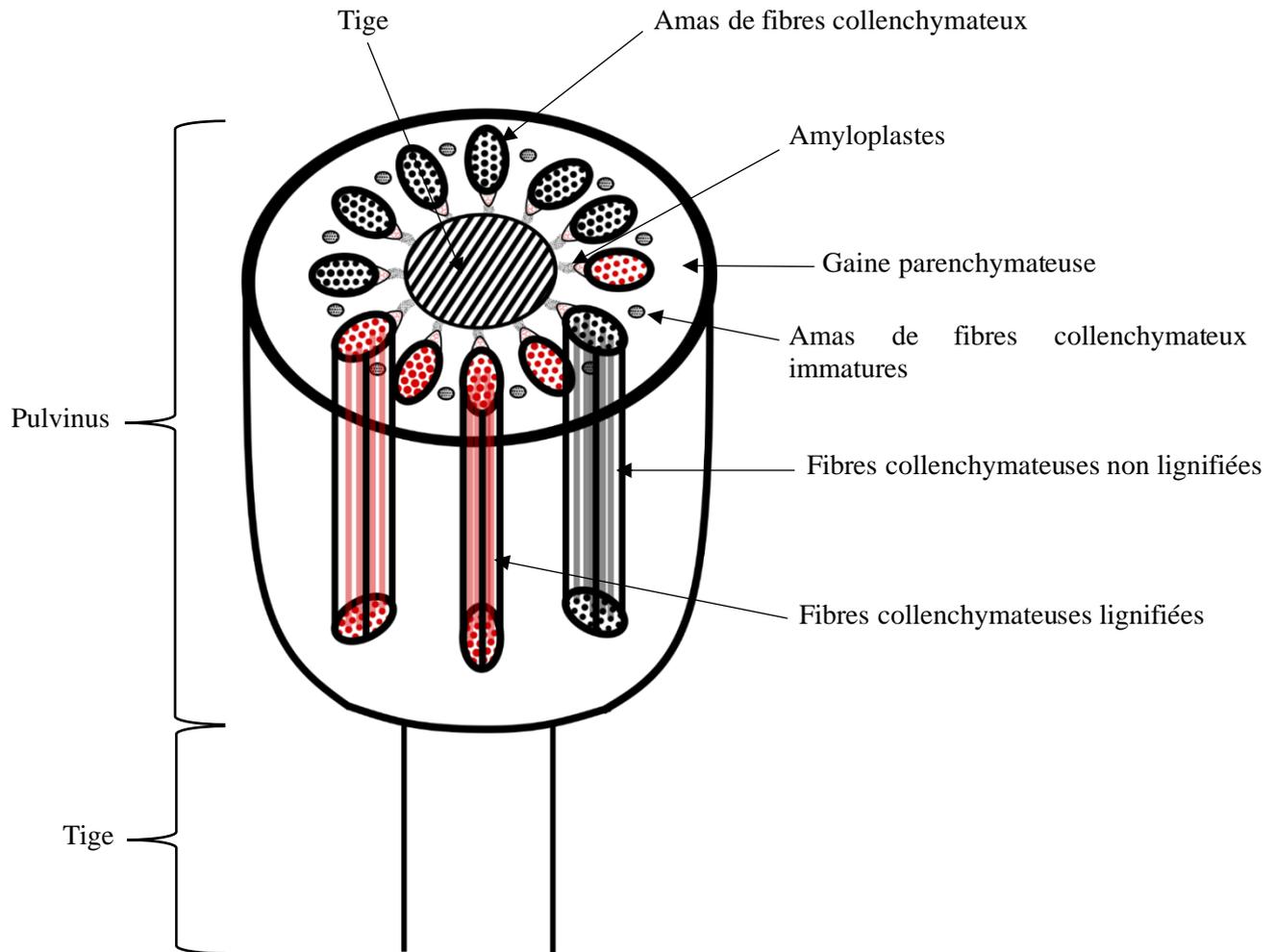


Figure 27 : Anatomie interne du pulvinus de blé. Le pulvinus présente des amas de fibres collenchymateuses organisés en un seul anneau au sein du pulvinus. Ces amas présentent des fibres longitudinales pouvant être lignifiées (fibres rouges) ou non (fibres noires). Les amyloplastes ne sont présents qu'à l'extrémité de ces amas, proche des faisceaux cribro-vasculaires lignifiés.

i. La gaine parenchymateuse

Le parenchyme représente une part importante du pulvinus. Chez l'avoine, ces tissus occupent environ 70% du pulvinus au stade de l'émergence de l'inflorescence. Les amas de fibres collenchymateuses sont donc entourés du tissu parenchymateux (Dayanandan et al., 1976). Les cellules du parenchyme contiennent toutes des plastes, mais seules celles proches de l'extrémité des amas de fibres collenchymateuses, et entourant les faisceaux cribro-vasculaires, agissent comme des statocytes (Dayanandan et al., 1976). Elles sont plus longues que les cellules qui entourent les faisceaux cribro-vasculaires (contenant les amyloplast) d'un ratio de 1.5 à 2 plus longues chez le pulvinus de maïs gravistimulé (Collings et al., 1998). Ces cellules ne montrent

aucune lignification, quel que soit le stade de développement. Avec une stimulation gravitropique, les cellules du parenchyme semblent montrer une élongation seulement sur la face inférieure du pulvinus chez le maïs (Collings et al., 1998 ; Zhang et al., 2011). Au sein du pulvinus, les microtubules des cellules parenchymateuses sont plutôt transversaux dans la phase II, c'est-à-dire où le pulvinus a la capacité de répondre à une stimulation (Collings et al., 1998).

ii. Les amas de fibres collenchymateuses

Ces amas sont présents tout autour du pulvinus, avec une alternance entre petits et grands amas (Dayanandan et al., 1977) (Figure 28). Leur nombre diffère en fonction de l'espèce étudiée : une trentaine chez l'avoine, une quarantaine chez le Panic effilé et environ 130 chez le maïs. La disposition de ces amas est différente en fonction des espèces. Chez le blé, ces amas de fibres collenchymateuses sont disposés en un seul cercle. Mais cette disposition est différente chez le Panic effilé où ces amas sont disposés en anneaux multiples et chez le maïs où cette disposition est dispersée. Cependant, quel que soit l'espèce, ils représentent en moyenne 30% de la surface totale du pulvinus (Dayanandan et al., 1977). Ils surplombent les faisceaux cribro-vasculaires, plus précisément au contact du phloème et xylème primaire.

Aux plus jeunes stades de développement de la tige, le xylème est le seul tissu à être lignifié au sein du pulvinus (Dayanandan et al., 1977). Les fibres collenchymateuses des amas présentent un petit diamètre (Figure 29) et présentent un état de lignification différent du reste du pulvinus et de la tige. En effet, ces amas semblent avoir un processus et une dynamique de lignification différente des autres structures. Les travaux de Dayanandan (1976, 1977) portant sur les pulvini de maïs et d'avoine (après 50 jours de développement) montrent que la lignification est retardée dans le pulvinus (entre les amas de fibres collenchymateuses, les cellules du parenchyme et les faisceaux vasculaire), mais aussi par rapport à la tige.

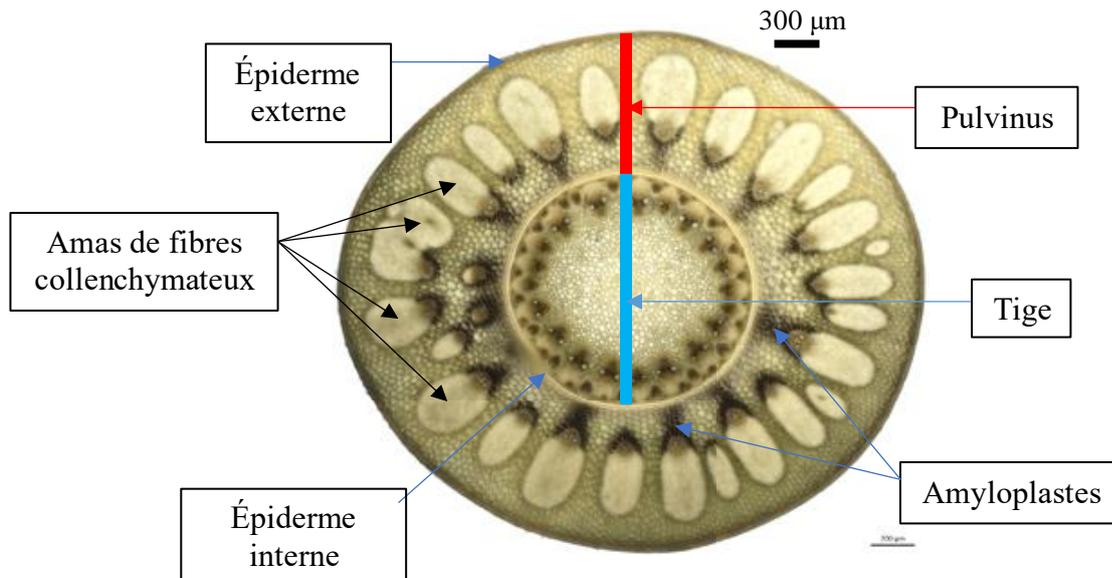


Figure 28 : Coupe transversale de pulvinus de blé avec une coloration lugol. Le pulvinus (segment rouge) entoure comme une gaine la tige centrale (segment bleu), et contient de multitudes d'amas de fibres collenchymateuses (flèches noires). Échelle : 300 μm (Photo = Nicole Brunel-Michac).

Cette lignification pourrait bloquer l'activité de ce pulvinus. L'hypothèse des auteurs serait que la lignification, notamment la lignification des amas de fibres collenchymateuses, rendrait le pulvinus plus rigide. La plus grande rigidité de ces structures rendrait la structure moins flexible, donc inhiberait son rôle dans la phase de courbure. Comme dit précédemment, le pulvinus pourrait être la seule zone sensible à la gravité dans la partie aérienne des graminées.

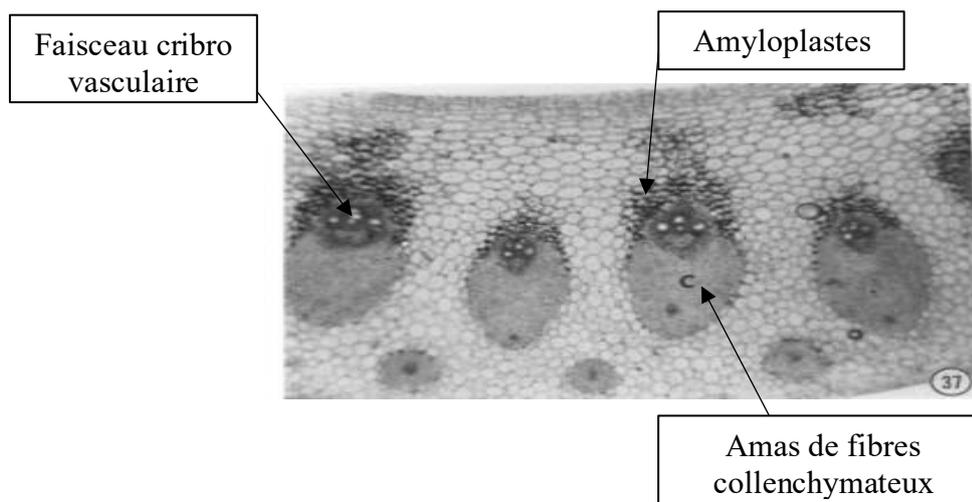


Figure 29 : Coupe anatomique du pulvinus de maïs présentant les faisceaux vasculaires, les cellules collenchymateuses et les grains d'amyloplastes. (Repris de Dayanandan et al., 1977).

iii. Les statolithes

Comme vu précédemment, les statolithes sont les capteurs de perception de l'inclinaison de la plante par rapport au vecteur de gravité. Chez les graminées, la spécificité est que ces organites ne sont présents que dans le pulvinus, et seulement proches des amas de fibres collenchymateuses (Figure 29). L'avalanche des amyloplastes est très rapide, et débute juste après la stimulation. Elle semble complète au bout de 15 minutes (Dayanandan al., 1976). Outre cette avalanche, l'une des hypothèses émises est que la masse d'amidon qui se déplace lors d'une inclinaison pourrait influencer la capacité du pulvinus à se courber et donc à terme le mouvement de la tige (Chang et al., 2001).

Cette région étant la seule à contenir les amyloplastes, on peut considérer que le pulvinus concentre les fonctions motrices et perceptrices chez les graminées. Par l'utilisation d'un inhibiteur de la synthèse d'amidon (l'acide okadaïque, qui est un inhibiteur de phosphatase), Chang et al. en 2001 montrent qu'une réduction importante des teneurs en amidon (Figure 30) est corrélée à une forte diminution de la variation de courbure du pulvinus d'avoine (Chang et al., 2001). Cette réduction, pourrait être expliquée par des statolithes moins lourds par manque d'amidon ou par une présence moins importante de statolithes.

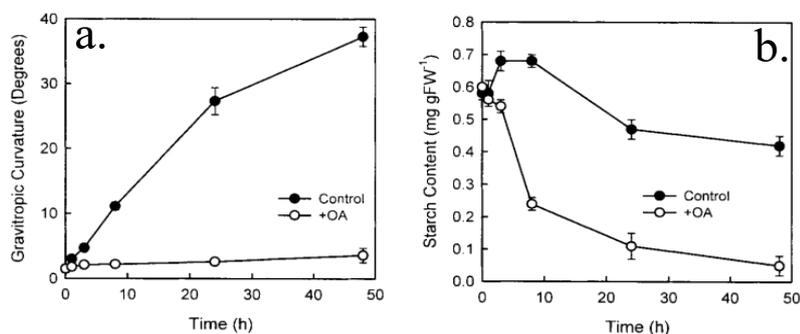


Figure 30 : Impact d'un inhibiteur OA sur la variation de courbure gravitropique (a.) et sur la teneur en amidon (b.) Repris de Chang et al., 2001.

B. Fonctionnement du moteur pulvinus

1. Phase de maturation et développement du pulvinus

Les mouvements des tiges de graminées sont permis par la présence des pulvini. Cette structure, en réponse à une inclinaison, permet une réorientation de la tige. De nombreuses études, notamment chez le maïs, l'avoine, l'orge ou encore le riz permettent de mieux comprendre comment fonctionne le pulvinus et sa cinématique de mouvement.

2. Cinématique de courbure des tiges de graminées via les pulvini

La cinématique de courbure des graminées est donc étroitement liée au stade de développement de la tige, et donc des pulvini. Comme pour la phase de développement et maturation, la cinématique de mouvement des graminées présente 3 phases distinctes.

La première phase, donc la phase précoce de la compétence du pulvinus, intervient dans les premières heures suivant l'inclinaison de la tige (Brock and Kaufman, 1988). En fonction de l'espèce étudiée, cette phase est plus ou moins longue, avec une durée comprise entre 6h et 24h (Chang et al., 2001 ; Azuma et al., 2011). C'est durant cette phase que la vitesse de variation de courbure est la plus forte, avec des gains d'angle par rapport à la verticale allant jusqu'à 2° par heure pour l'avoine par exemple (Dayanandan et al., 1977). Chez le riz, les pulvini montrent la plus forte activité de variation de courbure, avec un taux de gain d'angle en dessous de 1° par heure (Azuma et al., 2011). Dans cette phase, la plupart des entrenoeuds ont déjà cessé leur élongation chez le maïs (Collings et al., 1998). Cette phase présente les vitesses de variation de courbure les plus fortes car l'ensemble des pulvini peuvent participer à l'effort. La seconde phase de la cinématique intervient dès lors que la vitesse de variation de courbure diminue. En moyenne, la vitesse de variation de courbure est divisée par 2. Cette phase semble être corrélée à la perte par certains pulvini de la capacité à se courber et de participer au mouvement. Chez de nombreuses espèces, cette perte de capacité serait due à une lignification d'un ou plusieurs pulvini d'une même tige (Chang et al., 2001). La dernière phase est atteinte lorsque la vitesse de variation de courbure est nulle, généralement lorsque la tige atteint ou se rapproche de la verticale et donc d'un état stationnaire. Ce moment est dépendant de plusieurs facteurs comme le stade de développement de la tige au moment de l'inclinaison ou l'angle d'inclinaison de départ (Azuma et al., 2011). Cette dernière phase est atteinte en moyenne entre 3 et 7 jours après le début de l'inclinaison chez le riz (Azuma et al., 2011). Ces 3 phases de la cinématique semblent communes à toutes les graminées étudiées. Cependant, deux facteurs vont moduler ces 3 phases et cette cinétique : la position du pulvinus sur la tige de céréales et le stade de développement utilisé. Azuma et al. en 2011 ont montré que, suite à stimulation gravitropique, les pulvini de riz avaient une courbure différente en fonction de la position du pulvinus sur la tige de riz. Les pulvini les plus apicaux ont montré un changement d'angle compris entre 15 et 30°, alors que les pulvini les plus basaux montrent un gain d'angle de moins de 10° (Azuma et al., 2011). Des études ont également montré que la réponse gravitropique est liée à la longueur des entrenoeuds proches du pulvinus.

Chez l'avoine, il a été montré que les pulvini ayant un entrenoeud proche mesurant plus de 4 cm présentaient une réponse gravitropique plus importante, ce qui conduit l'hypothèse que la réponse gravitropique d'un pulvinus était lié à la longueur de l'entrenoeud (Brock and Kaufman, 1988). De tels résultats n'ont pas été retrouvés chez le riz, avec aucune influence de la longueur de l'entrenoeud sur la réponse gravitropique des pulvini (Azuma et al., 2011). Le stade de développement utilisé semble également jouer un rôle. Chez le maïs, les jeunes tiges (30 jours) montrent un gain d'angle de 30 à 40° au bout de 6 jours après inclinaison alors que des tiges plus âgées (60 jours) montrent un gain de 90° environ. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ces différences. La première est que dans les tiges les plus âgées, il y a un plus grand nombre de pulvini « actifs » pouvant répondre à la stimulation par rapport à des tiges plus jeunes (Collings et al., 1998). La seconde est que les pulvini pourraient agir de façon séquentielle et non simultanée, ce qui induirait une différence de comportement entre des tiges de stades de développement différents (Brock and Kaufmann, 1988).

3. Fonctionnement interne du pulvinus lors du redressement après inclinaison

En réponse à une inclinaison, une tige de graminée va se redresser sous l'effet de l'action des pulvini. Ce moteur étant lié à la croissance primaire, la réorientation est rendue possible par le biais d'une élongation différentielle entre les deux faces du pulvinus. La face inférieure développe une élongation cellulaire plus importante que la face supérieure (Figure 31), et permet le mouvement vers le haut (Dayanandan et al., 1976, 1977 ; Brock and Kaufmann, 1988 ; Collings et al., 1998). Au niveau interne, les connaissances scientifiques ne permettent pas à ce stade de dire avec certitude quels sont les cellules (du parenchyme, des amas de fibres collenchymateuses) qui participent activement à cette élongation.

Gravistimulated:	
upper side	lower side
	47 ± 9 (3)
	85 ± 3 (4)
28 ± 4 (7)	66 ± 12 (4)
33 ± 2 (11)	114 ± 15 (15)

Figure 31 : Allongement amas fibres collenchymateuses et parenchymes entre face supérieure et inférieure d'un pulvinus de maïs (Repris de Collings et al., 1998).

Certaines études montrent que les cellules du parenchyme et les fibres collenchymateuses ont une élongation plus forte sur la face inférieure que sur la face supérieure du pulvinus. Chez le pulvinus de maïs, les cellules collenchymateuses des amas de fibres du pulvinus montrent une élongation 2 fois plus forte sur la face inférieure par rapport à la face supérieure. Ce ratio d'élongation est de 4 concernant les cellules parenchymateuses entre la face inférieure et la face supérieure (Collings et al., 1998). Cette élongation différentielle ne semble pas seulement concerner les parenchymes et les amas de fibres collenchymateuses, mais aussi le xylème, dont les cellules deviennent plus allongées et fines (Dayanandan et al., 1977). Néanmoins, malgré l'allongement observé dans l'ensemble des cellules du pulvinus, plusieurs interrogations subsistent, notamment sur la synchronicité de la croissance et l'identification des cellules responsables du mouvement de réorientation.

i. Rôle des gènes

Chez les graminées, l'une des réponses les plus précoces observées en réponse à une gravistimulation est une modification de l'accumulation de certains transcrits. Chez le maïs, une des premières études à s'intéresser à la réponse transcriptionnelle des pulvini à la gravistimulation a porté sur le gène *IVR2*, qui code une invertase acide vacuolaire qui serait impliquée dans l'élongation cellulaire. Les transcrits *Ivr2* s'accumulent environ 6h après la gravistimulation (Long et al., 2002). Toutefois, partant du constat qu'une augmentation de l'accumulation des transcrits ne s'accompagne pas toujours d'une synthèse accrue des protéines correspondantes, Heilmann et al. (2001) se sont intéressés à la dynamique de la formation des polyribosomes et au recrutement de transcrits dans les polyribosomes au cours des 4 premières heures après gravistimulation. Ils rapportent une dissociation transitoire des polyribosomes dans les pulvini de maïs gravistimulés qui est corrélée à une augmentation du recrutement de transcrits spécifiques, notamment des transcrits codant une calmoduline et une calréticuline (des protéines connues pour leur rôle dans l'homéostasie calcique et la graviperception) au niveau des deux faces du pulvinus du maïs. Dans le même temps, un recrutement accru d'ARNm associés à des polyribosomes se déroule dans les 15 premières minutes suivant la stimulation. Au niveau de la face supérieure, le niveau de recrutement montre des fluctuations pendant les 4 premières heures. Pour la face inférieure du pulvinus, une augmentation progressive est observée, permettant une accumulation plus importante des transcrits de la calmoduline et de la calréticuline (Heilmann et al., 2001). L'hypothèse est que ces deux protéines jouent un rôle dans la mise en place de flux rapides de Ca^{2+} , qui serait l'une des

premières étapes de la cascade de transduction du signal, médiée par des changements de pression ou de pH exercés par les statolithes activant des canaux Ca^{2+} mécanosensibles (Ding and Pickard, 1993 ; Yoder et al., 2001). Zhang et al. (2011) ont montré que la gravistimulation entraîne des modifications d'expression de gènes liés aux phytohormones (Auxine et GA notamment), qui sont concordants avec des résultats de dosages réalisés.

ii. Dynamique hormonale dans le pulvinus

Chez le riz (Cui et al., 2005) et chez l'avoine (Pharis et al., 1981), par rapport aux pulvini non stimulés, les pulvini gravistimulés présentent une hausse de la concentration en gibbérellines sur la face inférieure et aucune variation sur la face supérieure (Clöre et al., 2013). Il y aurait donc soit un transport des gibbérellines depuis la face supérieure vers la face inférieure, soit une synthèse plus importante sur la face inférieure (Figure 32).

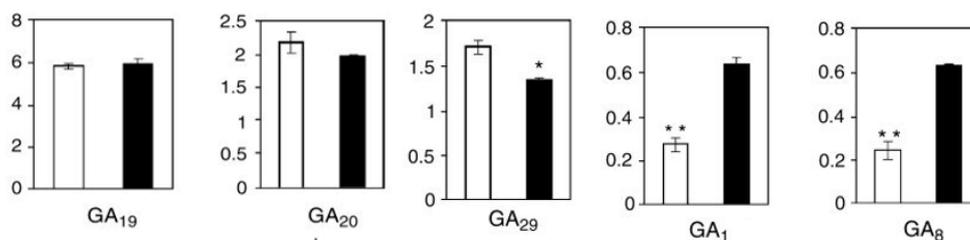


Figure 32 : Effet de la stimulation gravitropique sur les teneurs en GA au sein des pulvini d'orge en fonction de la face supérieure (blanc) et de la face inférieure (noir) (Repris de Wolbang et al., 2007).

Malgré ce gradient, l'impact de ces hormones dans la mise en place dans la phase de courbure du pulvinus n'est pas très clair. L'asymétrie de concentration en GA1 se met en place après l'asymétrie de l'auxine, mais surtout après le début de l'initiation de la variation de courbure. L'initiation de la croissance asymétrique au sein du pulvinus n'est donc pas directement lié à l'asymétrie de concentration en GA1, mais pourrait contribuer à la poursuite du phénomène (Wolbang et al., 2007). L'utilisation de deux mutants a permis d'affiner le rôle des gibbérellines. Chez l'orge, le gène *Hv3ox2* code une GA3-oxidase, une enzyme essentielle dans la conversion de GA20 en GA1, une forme bioactive de gibbérelline. Chez le mutant *hv3ox2*, la capacité de variation de courbure des pulvini en réponse à une gravistimulation est réduite (Wolbang et al., 2007). De plus, *Hv3ox2* est très fortement exprimé sur la face inférieure par rapport à la face supérieure du pulvinus et il est régulé par l'auxine (Wolbang et al., 2004).

La mise en place de l'asymétrie de l'auxine au début de l'initiation de la phase de courbure pourrait donc réguler le gène *Hv3ox2* ce qui engendrerait une production plus importante de GA1 sur la face inférieure des pulvini gravistimulé. Chez l'orge, un deuxième mutant, désigné *sln1c* présente une altération de la voie de régulation de la voie de signalisation des gibbérellines (GA). Ce mutant se caractérise par un dysfonctionnement de la protéine DELLA, élément clé de la voie de transduction du signal. Par conséquent, la voie de signalisation des gibbérellines devient constitutivement active dans le mutant, entraînant une stimulation significative de la croissance. Ce mutant présente des tiges et des pulvini plus longs et minces par rapport au sauvage (Figure 33 ; Ross et Wolbang, 2008). L'hypothèse des auteurs est que si les GA étaient impliquées dans l'initiation de la réponse, la variation de courbure gravitropique du mutant devrait être réduite. Cependant, c'est le contraire. Cela plaide contre le fait que l'asymétrie des gibbérellines soit le stimulus initial de la croissance différentielle (Ross et Wolbang, 2008). Cette hormone semble être impliquée dans des voies ultérieures



Figure 33 : Graminées défailantes au niveau de la variation de courbure gravitropique. Réponse gravitropique de pulvinis de mutants *sln1c* (bas) et sauvage (haut) d'orge. (Repris de Ross and Wolbang, 2008)

iii. Les voies de signalisation biochimiques

Rôle du pH

La stimulation d'un pulvinus par une inclinaison ou par rotation à 90° d'un pulvinus excisé provoque un changement du pH cytoplasmique seulement dans les cellules contenant les statolithes chez le maïs, et non dans les cellules du parenchyme (Johannes et al., 2001 ; Clore et al., 2013). En réponse à une gravistimulation, une acidification du cytoplasme a été observée sur les côtés des cellules, tandis que le cytoplasme à la base des cellules, où les amyloplastes se sont lentement accumulés, est devenu plus basique (Johannes et al., 2001).

Outre le maïs, cette modification a été également observée dans la racine d'*Arabidopsis thaliana*, où les variations du pH cytoplasmique ne se produisent que dans les cellules de la columelle interne de la coiffe racinaire (Scott et Allen, 1999 ; Fasano et al., 2001), qui sont les cellules les plus compétentes en matière de perception du vecteur de gravité (Blancaflor et al., 1998). Cette modification ne se déroulant que dans les cellules contenant les amyloplastes, les variations du pH pourraient donc être une étape très précoce de la voie de transduction du signal de perception au sein du pulvinus (Clore et al., 2013).

Les phosphoinositides

L'inositol-1,4,5-triphosphate (InsP₃) est une molécule de signalisation connue pour son rôle dans les phases les plus précoces de la signalisation de nombreux stress abiotiques, notamment *via* sa capacité à libérer les stocks intracellulaires de Ca²⁺. Chez le pulvinus de maïs, une implication d'InsP₃ dans la voie de signalisation après la perception de l'inclinaison par rapport au vecteur de gravité semble entrer en jeu. Des augmentations des niveaux d'InsP₃ sont observées très précocement au niveau de la face inférieure (pas la face supérieure) des pulvini 10 secondes après la gravistimulation. Par la suite, et jusqu'à 7h après la stimulation, des fluctuations des niveaux d'InsP₃ sont visibles autant dans la face inférieure que supérieure (Clore et al., 2013).

Les ROS

Les ROS (Reactive oxygen species) sont produits durant le métabolisme cellulaire mais une augmentation de leur production est visible lorsque les plantes sont exposées à des stress. Suite à une gravistimulation d'un pulvinus de maïs, une production de ROS au sein ou en lien avec la distribution des amyloplastes a été observée (Clore et al. 2013). Ce rôle a d'abord été montré dans la phase de signalisation en lien avec le gravitropisme. Un gradient de ROS (H₂O₂) a été observé entre les deux faces d'un pulvinus de maïs. Ce gradient pourrait fournir des informations directionnelles permettant la mise en place d'une variation de courbure du pulvinus à l'opposé de la concentration la plus forte des ROS.

Les protéines kinases

Au sein du pulvinus de maïs, du blé et de l'avoine, les fluctuations d'InsP₃ sont suivies par des fluctuations de l'activité de MAP kinase (MAPK). Ces fluctuations sont détectables au bout de 20 minutes après la gravistimulation, avec des fluctuations au niveau de la face supérieure et la face inférieure pouvant encore avoir lieu jusqu'à 75 minutes après la stimulation gravitropique.

Après 1h30 de stimulation, ces fluctuations disparaissent et une stabilisation des niveaux de MAPK est visible au bout de 2h. Via l'utilisation d'U0126, un inhibiteur de l'activité de la MAPK, une réduction de 65% de la variation de courbure gravitropique des pulvini de maïs est observée (Clore et al., 2013). L'une des hypothèses est que les fluctuations de l'activité de MAPK pourraient permettre à la plante de faire la distinction entre des perturbations faibles et passagères de l'orientation de la tige (qui nécessiteraient une réponse faible de la plante) ou des changements à plus long terme nécessitant une réponse de croissance plus importante (Clore et al., 2013). Un modèle résumant les voies de signalisation et de transduction des étapes précoces de la mise en mouvement du pulvinus est présenté en Figure 34.

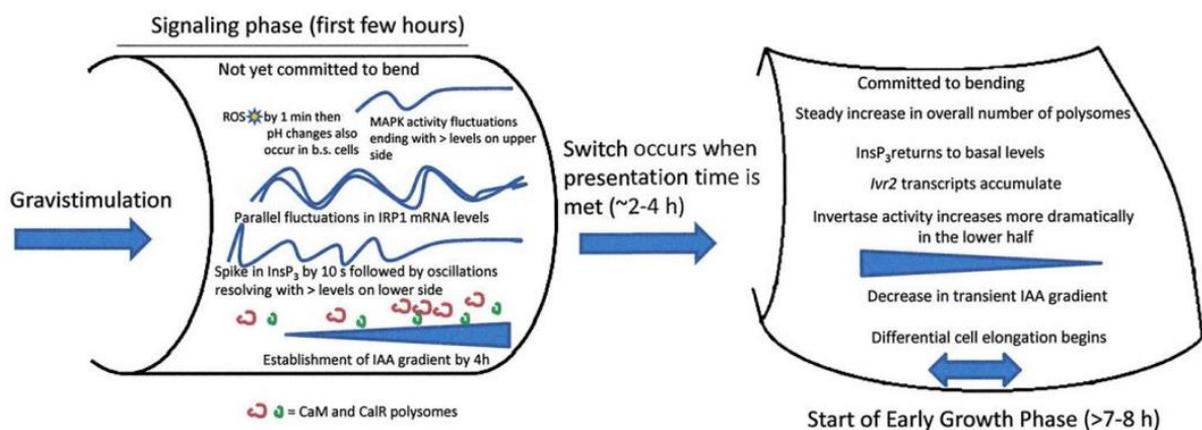


Figure 34 : Hypothèse d'un modèle expliquant les voies de signalisation et les premières phase au sein du pulvinus lors d'une stimulation gravitropique, ici chez le maïs (Repris de Clore et al., 2013)

Le cytosquelette

Une première étude concernant le cytosquelette chez le pulvinus de maïs par Collings et al. en 1998 montrent que la réorganisation des éléments du cytosquelette comme les microtubules corticaux et les filaments d'actine est présente dans des pulvini gravistimulés mais aussi témoin (Collings et al., 1998 ; Figure 35). Le fait que les CMT et les filaments d'actine montrent une réorganisation, au cours de la maturation et du développement du pulvinus y compris chez des individus témoins, montrent que les CMT pourraient ne pas contrôler directement la flexion. Cette réorientation pourrait avoir comme origine des contraintes osmotiques et mécaniques (Blancaflor et Hasenstein, 1995).

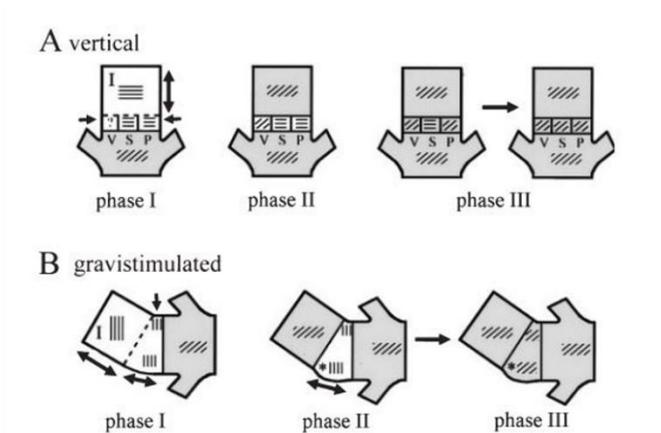


Figure 35 : Structure cellulaire et organisation du cytosquelette dans le pulvinus de maïs non stimulé (A) et gravistimulé (B) (Repris de Collings et al., 1998).

iv. Développement du pulvinus et de sa compétence sensorimotrice

L'activité du pulvinus (et sa capacité à l'actuation d'une phase de courbure) est étroitement lié à son stade de développement mais aussi à celui des entrenoeuds adjacents. Il existe 3 phases de développement et de maturation chez le pulvinus (avoine ; Brock and Kaufmann, 1988 ; Chang et al., 2001). La première phase comprend le début de l'élongation de l'entrenoeud directement adjacent à un pulvinus donné. Au niveau du pulvinus, il n'est pas encore mature pour répondre à une flexion par manque d'amyloplastes (Brock and Kaufman, 1988). La seconde phase débute à la fois quand l'élongation de l'entrenoeud adjacent est terminée, généralement à cause de la lignification de la tige. Le pulvinus acquiert alors sa capacité de réponse à une flexion par la formation d'amyloplastes. La capacité de réponse est à son maximum ici. Il y a donc une corrélation entre la fin de l'élongation de l'entrenoeud et la capacité maximale à répondre à une flexion de la part du pulvinus. La dernière phase est la phase dite de fin de compétence. Ici, le pulvinus devient inapte à courber la tige, perdant la capacité d'avoir une élongation différentielle. Cette perte de capacité a été démontrée chez l'orge et l'avoine.

Les hypothèses pour expliquer cette perte sont multiples, comme le dépôt de silice, la lignification de cette structure ou une autre perte de capacité de réponse (Brock and Kaufmann, 1988). Certains auteurs ont émis plus précisément l'hypothèse que cette perte de compétence pourrait résulter de la lignification des fibres collenchymateuses du pulvinus, qui pourrait bloquer l'allongement de ces fibres et *in fine* la variation de courbure du pulvinus chez l'avoine (Chang et al., 2001).

Objectifs de Thèse

La réponse tropique n'est pas liée qu'à un système sensori-moteur, comme laisser présager par des expérimentations portant sur les zones en croissance primaires continues. L'impact de l'autotropisme dans cette réponse, sur la cinématique de mouvement et les modifications anatomiques, a été peu décrit par la littérature scientifique.

Il existe 2 grand types de systèmes sensori-moteurs (Mouliia et al., 2007) :

- i) Système sensori-moteur associé à la zone en croissance primaire subapicale
- ii) Système sensori-moteur associé aux zones plus basales, ayant terminé leur élongation

Les mécanismes de perception des signaux au niveau de chaque système sensori-moteur, et dans une certaine mesure la transmission longue distance et l'intégration par les hormones semblent communs (engendrant des cinématiques de redressement identique, aux constantes de temps et stature près), avec un pilotage identique, modélisée par le modèle *AC*. Les études de pilotage du modèle *AC* sur les systèmes sensori-moteurs basaux sont très limitées et parcellaires (Coutand et al., 2007, 2019 ; Bastien et al., 2013). La réalité même de la proprioception n'a pas été caractérisée sur les systèmes basaux. Le premier objectif de cette thèse est de mieux comprendre et caractériser le pilotage du modèle *AC* des systèmes sensori-moteur basaux, notamment le rôle de l'autotropisme.

Côté moteur, 3 systèmes distincts ont été décrits. Les deux premiers sont liés au fonctionnement cambial, avec un système par croissance radiale et production différentielle de bois de réaction (avec plus ou moins d'excentricité), le second par croissance radiale excentrique associé à un effet de treillis mécanique au niveau de l'écorce. Enfin, les espèces ayant abandonné la croissance cambiale au cours de leur évolution, comme les graminées, ont développé un système à pulvini. Ce dernier système présente la particularité d'être discontinu et articulé (Mouliia et al., 2007). Aucune étude n'a essayé de comparer les systèmes basaux associés à la croissance cambiale et ceux impliquant les pulvini. C'est le deuxième objectif de cette thèse. Pour cela nous avons retenu, deux systèmes-modèles ont été choisis : le peuplier pour le système basal à croissance cambiale et le blé pour le système impliquant les pulvini.

Enfin, l'effet du développement sur le maintien ou non des capacités sensori-motrices associées aux tropismes et au contrôle postural n'ont pas été étudié. Or ceci pose question, en particulier sur les organes à durée de vie déterminée comme les inflorescences, où le développement est rapide. Ce sera notre 3^{ème} objectif.

En lien avec ces différents objectifs, les travaux réalisés ont pour but de tester plusieurs hypothèses :

- Les mouvements de courbure vers le haut, de rectification et de décourbure seraient pilotés par les sensibilités graviperceptives et proprioceptives. La dynamique globale de mouvement serait liée au nombre B.
- Un mouvement actif de retour à la rectitude de la tige du peuplier et du blé serait engendré dans un cadre autotropique strict.
- Ce mouvement actif serait permis, chez le peuplier, par la formation de fibres de bois de tension à couche G. Chez le blé, il serait réalisé par une élévation différentielle des fibres collenchymateuses entre la face supérieure et inférieure du pulvinus serait à l'origine de cette courbure.
- Les effets du développement sur la capacité tropique du blé seraient liés à l'état de lignification des fibres collenchymateuses du pulvinus et à des modifications du gradient d'auxine.

Pour investiguer ces hypothèses, ma thèse s'est répartie en 2 axes.

Le premier axe concerne l'ensemble des travaux portant sur le peuplier. La première étape a été de suivre la cinématique de mouvement dans un environnement autotropique et de démontrer l'existence d'un mouvement de décourbure de la zone en croissance secondaire de la tige. Ce point a été réalisé par l'utilisation d'un dispositif expérimental innovant et original composé de sphères isotropes et agravitropes nous permettant de mettre en place un cadre autotropique pour les plantes durant nos expérimentations. Par la suite, nous avons observé les modifications au sein de la tige permettant ce mouvement de décourbure, notamment la formation de bois de tension (par des approches anatomiques et cytologiques). Cette formation a été analysé tout au long de la cinétique de réponse à l'inclinaison au sein de la tige de peuplier.

Le second axe se concentre sur notre second modèle, le blé. Les connaissances scientifiques sur cette plante et sur les pulvini sont faibles. C'est l'une des raisons expliquant que nos analyses sont moins avancées que pour le peuplier. Dans un premier temps, nous avons souhaité caractériser le redressement du blé en fonction de deux géotypes et du stade de développement dans un cadre tropique complet en serre. À la suite de cette première expérimentation, une analyse des éléments potentiellement impliqués a été entreprise, avec l'étude de l'état de lignification des pulvini et d'un potentiel gradient d'auxine. Enfin, une étude exploratoire a été réalisée en fin de thèse pour évaluer la capacité proprioceptive du blé en sphère. Dans cet axe,

de nombreuses approches ont été utilisées (anatomique, cytologique, phénotypage assisté par modèle, hormonale).

Chapitre 2 :
Mécanismes sous-jacents au
redressement gravi- et
autotropique du peuplier

Autotropism Drives Active Movements Through Tension Wood Formation, Unveiling the Balance Between Graviperceptive and Proprioceptive Sensitivities

Alexandre Caulus¹, Mélanie Decourteix¹, Félix Hartmann¹ and Bruno Moulia¹

¹Université Clermont Auvergne, INRAE, PIAF, Clermont-Ferrand F-63000, France

1 Plants are able to control their posture through active tropic movements, induced by
2 environmental stimuli such as gravity and light.
3 It has been recently shown that the stem response to an inclination *vs* gravity not only involves
4 a curving-up movement but also its counterbalance through the action of autotropism.
5 Autotropism relies on proprioception, the perception of its shape by the plant. But little is
6 known about autotropism and proprioception in organs encountering secondary growth,
7 especially in trees. Our aim is therefore to better understand its real impact on plants by testing
8 several hypotheses: i) autotropism induces active movements of the poplar stem through ii) the
9 formation of tension wood on the underside of the stem and iii) driven by proprioceptive
10 sensitivity. We combined the use of an original experimental device allowing to disentangle
11 photo- gravi- and autotropism with time-lapse quantitative tracking of the growth kinematics,
12 anatomical analysis of tension wood formation and model-assisted phenotyping. For the first
13 time, we quantified precisely the gravi- and proprioceptive sensitivities (β and γ) in a tree stem.
14 Moreover, our results indicate that after a first gravitropic curving-up phase, gravisensing
15 suspension induces autotropism through the formation of tension wood on the lower side of the
16 stem, allowing a reversal of bending movement and therefore a return to straightness.
17 Autotropism is thus not a passive but a truly active process in poplar stem. And proprioception
18 is a major sensory process for the control of poplar's posture, driving the formation of tension
19 wood and determining its location. Finally, this study presents a new and versatile tool to study
20 the sensory control of tree posture.
21

22 Key Words : Autotropism, Tension Wood, Autostraightening movement, Control Postural

23 **Introduction**

24 Plants control the growth direction and posture of their aerial stems through tropic active
25 movements (Harmer & Brooks, 2018; Moulia *et al.*, 2022). To drive these movements, they
26 rely on the sensing of their current inclinations with respect to gravity and with respect to light
27 as major orienting cues (Moulton, Oliveri & Goriely, 2020; Meroz, 2021). The inclination angle
28 with respect to gravity, A , is sensed all along the stem by a sheath of specialized cells called the
29 statocytes, that includes a pile of amyloplasts acting as statoliths (Nakamura, Nishimura &
30 Morita, 2019). When a segment of a stem changes direction (such as when the plant is tilted or
31 during the tropic movement itself), the statoliths avalanche down to a new position (Berut *et*
32 *al.*, 2018); this triggers the relocalisation of PIN3 auxin transporters laterally, leading to the
33 building up of a transverse gradient of auxin (Nakamura, Nishimura & Morita, 2019; Levernier,
34 Pouliquen & Forterre, 2021). This gradient can vary with spatial position s along the stem, due
35 to different local inclinations $A(s)$.

36 The orientation with respect to light is sensed in the apical zone through Blue Light receptors
37 called PHOTOTROPINS, at least at low light level (Fankhauser & Christie, 2015); this also
38 induces the building-up of an auxin gradient across the tip of the stem, which then spreads along
39 the stem thanks to longitudinal Polar Auxin Transport (Moulton, Oliveri & Goriely, 2020).
40 These gravitropic and phototropic auxin gradients are then transduced into active bending that
41 results from i) differential growth in primary growth zone (Haga & Iino, 2006; Moulia &
42 Fournier, 2009), ii) an asymmetric distribution of “tissue stress” due to a differential formation
43 of reaction wood in organs that undergo secondary growth (Moulia & Fournier, 2009; Groover,
44 2016). Note that in nature, both tropisms occur concurrently (Bastien, Douady & Moulia, 2015).
45 However, a decade ago, it was shown that these sensory cues cannot control a steady growth
46 direction upon orientation disturbances (*e.g.* a tilt); and hence cannot control neither alignment
47 to a tropic cue nor plant shoot posture (Bastien *et al.*, 2013; Dumais, 2013; Moulia *et al.*, 2019).
48 Besides termination of auxin lateral transport (Han *et al.*, 2020), a capacity to counter-curve
49 and straighten, known as autotropism (Tarui & Iino, 1997), is necessary for the growing stems
50 to achieve a steady orientation of their growth (Moulia *et al.*, 2019). Autotropism was found
51 independent of auxin gradient (Haga & Iino, 2006), and was modelled successfully as driven
52 by a curvature-sensing mechanism, called proprioception (Bastien *et al.*, 2013; Bastien, Douady
53 & Moulia, 2015; Moulia, Douady & Hamant, 2021). For the sake of simplicity, focus has been
54 given in conditions where phototropism is cancelled, so that purely gravitropic experiments can
55 be achieved (Bastien, Douady & Moulia, 2014; Coutand *et al.*, 2019). In these conditions,

56 gravitropic and autotropic drives occur concurrently; however, in a given stem portion, their
 57 relative strength depends on the current inclination angle $A(s)$ and curvature $C(s)$ of the
 58 segment.

59 In a typical gravitropic experiment without phototropism (dark or “safe light” condition), an
 60 initially straight stem is tilted horizontally. The inclination angle A is then large (around 90°)
 61 while the curvature C is very low everywhere along the stem, so that the gravitropic drive
 62 predominates. The stem starts curving upward. However, when a stem segment approaches the
 63 vertical, A becomes low, whereas curvature C can remain high, so that autotropic decurving
 64 takes over, driving straightening. A steady state is reached when both drives balance each other
 65 out. In some stem segments, typically close to the apex, both A and C reach zero, which means
 66 this part of the stem is straight and aligned with the vertical. Closer to the basis, because the
 67 collar is fixed in a tilted configuration, equilibrium between the gravi- and proprioceptive drives
 68 is reached with non-zero angle and curvature, leading to a curved zone at the basis of the stem.
 69 This whole movement has been modelled through the AC model (Bastien *et al.*, 2013; Moulia
 70 *et al.*, 2019), which states that the rate of change of curvature (i.e. active bending) at every
 71 position s along the stem and every time t is driven by:

$$72 \quad \frac{dC(s,t)}{dt} = -\beta \sin(A(s,t)) - \gamma C(s,t) \approx -\beta A(s,t) - \gamma C(s,t) \quad (1)$$

73 where

- 74 • t is the time in hour;
- 75 • s is the spatial coordinate along the stem (curvilinear abscissa, in cm);
- 76 • A is the angle with respect to the vertical (measured in radians);
- 77 • C is the curvature, *i.e.* the rate of change of angle with spatial position s along the stem

$$78 \quad C(s,t) = \frac{\partial A(s,t)}{\partial s} \text{ (in cm}^{-1}\text{);}$$

- 79 • β is the graviperceptive sensitivity (in $\text{cm}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), *i.e.* how responsive is the plant to its
 80 inclination with respect to the direction of gravity;
- 81 • γ is the proprioceptive sensitivity (unit h^{-1}), *i.e.* how responsive is the plant to its own
 82 curvature.

83

84 This model reaches a steady-state shape when

$$85 \quad \frac{dC(s,t)}{dt} = 0 \Rightarrow \beta A(s,t) = -\gamma C(s,t) \text{ for all } s \text{ and } t \quad (2),$$

86

87 that is when the gravitropic drive βA and the proprioceptive drive γC balance each other out all
88 along the stem. Accordingly, it was shown that the whole behavior of the system only depends
89 on one and only one dimensionless number, the balance number $\mathcal{B} = \frac{\beta L}{\gamma}$, which is the ratio
90 between the graviperceptive sensitivity and the proprioceptive sensitivity, scaled to the length
91 L of the actively reacting part of the stem (where both sensing and tropic actuation are active)
92 (Mouliia *et al.*, 2019; Mouliia *et al.*, 2022).

93 The AC model has been successfully assessed in 13 different species so far, sampling the
94 phylogeny of land angiosperms and a large range of sizes, including 11 herbaceous (Bastien *et*
95 *al.*, 2013) and 2 tree species (poplar and oak, (Coutand *et al.*, 2019)). Since this discovery, the
96 concept of plant proprioception has received broader interest and has been applied down to
97 tissue and cell scale (see reviews in (Mouliia, Douady & Hamant, 2021; Kawamoto & Morita,
98 2022)). A crucial step in investigating the mechanisms of proprioception and autotropism is its
99 measurement in controlled experiments.

100 The first procedure to measure proprioception is based on the experiment described above, in
101 which the plant is tilted to the horizontal and undergoes a gravitropic movement in no-
102 phototropism conditions. The kinematics of the movement is monitored through time-lapse
103 photos and image analysis (Hartmann *et al.*, 2022), until a steady-state shape is achieved (in
104 which the rate of change of curvature becomes zero). From the AC model (1), it can be proved
105 that this steady-state shape of the stem depends on the ratio between the gravitropic sensitivity
106 β and proprioceptive sensitivity γ . Besides, it is possible to estimate the gravitropic sensitivity
107 β through the analysis of the beginning of the bending up after the tilting to the horizontal (large
108 A while $C \approx 0$) (Chauvet *et al.*, 2016; Mouliia *et al.*, 2019; Hartmann *et al.*, 2022). From these
109 two data, the proprioceptive sensitivity can be estimated (Coutand *et al.*, 2019; Hartmann *et al.*,
110 2022). This was achieved for primary growth zone, and for zones undergoing secondary growth
111 and (tension) wood formation. But because this is indirect and involves the ratio between two
112 measurements, it was found to be too noisy (Coutand *et al.*, 2019).

113 A second procedure to directly phenotype autotropism and proprioception was proposed, that
114 can be called the Tilt-then-Clinostat Protocol TtC (Okamoto *et al.*, 2015). It also starts by tilting
115 the plant to the horizontal in the dark (or in “safe light” conditions). The stem then bends up
116 actively merely through the action of gravitropism. When the stem curvature is homogeneous
117 and large enough, a clinostatic slow rotation around the horizontal axis is set on. This rotation
118 sets into suspension the statoliths inside the statocytes, thereby suspending the sensing of the
119 gravity direction (Dedolph & Dipert, 1971). Despite possible side effects, especially for long

120 duration under the clinostat (Brown, Dahl & Chapman, 1976), clinostating was shown to reveal
121 autotropism and counter-curvature in various organs and species (Stankovic, Volkmann &
122 Sack, 1998; Haga & Iino, 2006). This has been assessed in particular in the inflorescence stem
123 of *Arabidopsis thaliana* and has been instrumental in the functional validation of molecular
124 mechanisms for proprioception and autotropism (Okamoto *et al.*, 2015). However, so far TtC
125 was not quantitative, and could not measure the proprioceptive sensitivity, just almost all-or-
126 none responses. In addition, no attempt has been made so far to use it in woody parts of plant
127 stems.

128 Whatever the way it is demonstrated and measured, there is still a doubt on whether autotropic
129 straightening is really an active process. It could be just an automatic effect of internal tissue
130 stresses producing a restoring counter-force to tropic active bending (Porat *et al.*, 2020). Indeed
131 the initial gravitropic differential growth response driven by auxin gradient seems to only occur
132 in the epidermis layer (Haga & Iino, 2006); the inner tissues seem not to be involved ; hence
133 they could store elastic energy during gravitropic active bending (Hejnowicz, 1997). That could
134 power an automatic elastic return to the initial configuration upon gravitropic suspension by the
135 clinostat. The situation could be even more applicable to the woody parts of the stem, given
136 that the inner wood core is recognized for storing elastic energy while undergoing gravitropic
137 bending powered by reaction wood (Alméras & Fournier, 2009 ; Moulia & Fournier, 2009). It
138 is thus necessary to assess whether autotropism and stem straightening is just a passive
139 consequence of the accumulation of tissue stresses or if it is an active regulatory counter-
140 curving mechanisms driven through proprioception, as we hypothesize.

141 In this perspective, woody stem provides a feature that is useful and unique. Because reaction
142 wood has a clear anatomical signature in most species and because wood layers are deposited
143 by the cambium successively, it is possible to trace back the production of reaction wood. Our
144 “proprioception-driven autotropism” hypothesis predicts that when proprioceptive drive takes
145 over gravitropic drive (such as when the angle to the vertical A becomes low, and or when
146 clinostatic rotation suspends the gravitropic drive $\beta=0$), the position of new reaction wood
147 should be reverted, so to counter-curve actively. We have produced some evidences that during
148 the tropic response of poplar stems there is indeed a reversal of reaction wood production in
149 stem segments approaching the vertical (Coutand, Fournier & Moulia, 2007). This was part of
150 the basis of our proposal of proprioception in plants. Yet, this observation was incidental, and
151 not related to a clear control of the gravitropic and autotropic drive, nor to a quantitative
152 measurement of their sensitivities.

153 In this paper, our goal is to fully assess the “proprioception-driven autotropism” hypothesis. To
154 do so, we have designed a novel set-up to achieve the Tilt-then-Clinostat Protocol TtC on young
155 poplar stems, based on the spherical growth cabinet with isotropic light that was recently
156 developed (Coutand *et al.*, 2019). In these, plants were shown to achieve their photosynthesis
157 and growth without having any phototropic stimulus, allowing for long-term gravitropic
158 experiments necessary for reaction wood formation. We coupled this “TtC–isotropic light” set-
159 up with time-lapse quantitative tracking of the growth kinematics (Hartmann *et al.*, 2022) and
160 with a novel analysis. Thereby we could get a direct quantitative assessment of the
161 proprioceptive sensitivity γ in the woody part of the stem, that has never been achieved before.
162 Finally, we coupled continuous monitoring of secondary growth all along the stem with
163 quantitative anatomical analyses at various times during the response, and developed an
164 improved analysis of the timing of the production of reaction wood as a function of history of
165 the local angle $A(s)$ and curvature $C(s)$ of each cross section throughout the experiment. Using
166 these novel and complementary experimental and data processing protocols, we were able to
167 show that i) young poplar stems do show autotropic straightening, that ii) their proprioceptive
168 sensitivity γ can be measured with good accuracy and statistical significance; and finally iii)
169 that the autotropic counter-curving is an active process powered by reaction wood inversion ,
170 as predicted. Altogether the prediction of the “proprioception-driven autotropism” hypothesis
171 is validated by our experiments; so that we show experimentally that proprioception is actually
172 taking place in plants and is central to tropic and posture control.

173

174 **Material and Methods**

175

176 Plant material

177 Hybrid poplars (*Populus tremula x Populus alba*, clone INRA 717-1B4 & Mader *et al.*, 2016)
178 were obtained by *in vitro* micropropagation on MS ½ medium (Murashige and Skoog, 1962).
179 After 15 days of acclimation, young poplars were transferred in individual pots (filled with
180 potting soil and fertilizer). Trees were then grown in a culture chamber (Light/day 16h/8h, at
181 22°C/19°C with a relative humidity of 60%; PAR was approximately $98 (\pm 1) \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).
182 All trees were well watered throughout the experiment. Two months after micropropagation,
183 young poplars were ready for experiments. Their stems had no branches. Their average length
184 was 25.61cm (± 3.55), and their radius ranged from 2 to 3 mm at the base of the stem. The
185 subapical primary growth zone was 5 cm long. This growth stage was retained after preliminary
186 experiments (data not shown) for three reasons. Clear secondary growth could be observed all

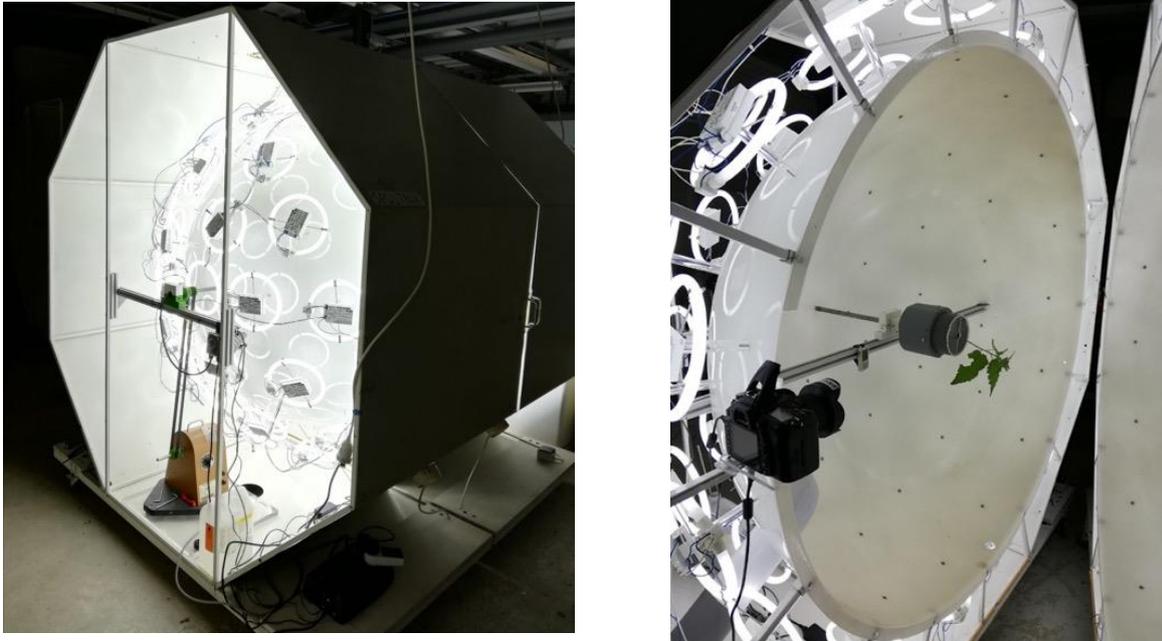
187 along the most basal 10 cm and the formation of tension wood could be observed and quantified.
188 At the same time, the targeted tropic curvature in this basal lignified zone could be achieved in
189 less than two weeks and we can assume that the stiffness of the inner core of the stem is not
190 limiting the tropic motion (Coutand et al., 2019). Finally, growth in length and girth was
191 observed to be steady. Before their installation inside the experimental device (“isotropic &
192 agravitropic light sphere”; see below), leaves were cut out from the basal part of the stem, on
193 10cm long portion, which corresponded to the removal of 4-5 leaves. In order to prevent the
194 leaves above the most basal 10cm of the stem from interfering with the proper visualization of
195 this segment, 4-5 additional leaves were cut off during the experiment. Samples used for the
196 histological analysis and the measurements of Microfibril Angles (MFA) were all harvested on
197 this portion (detailed description is given below). Prior to the installation in the experimental
198 device, and for image analysis purposes, poplar stems were marked with a small line painted at
199 the top of the 10 cm long portion. To allow an acclimatization to the temperature and the light,
200 the poplars were placed during 1h vertically within the sphere. Then, the poplars were placed
201 horizontally in the sphere for about 30 to 40 days. A total of 7 replicates were performed for
202 this study.

203

204 Experimental device

205 In order to disentangle gravitropism and autotropism from phototropism, we used the “isotropic
206 light spheres” (Figure 1), unique and original growth cabinet that were designed in our
207 laboratory and described in Coutand et al. (2019). Briefly, the two hemispheres were equipped
208 with 46 circular fluorescent tubes (OSRAM, FC 22W/865) placed according to Den Dulk’s
209 ‘TURTLE’ pattern. PAR was approximately $180 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ and the blue radiation fluence
210 rate was approximately $5 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ whatever the solid angle of view that is considered
211 (Coutand et al., 2019). For the present study, this device was equipped with a clinostat, a system
212 which helps negating gravitropism through horizontal rotation of the plant. Thus modified, the
213 device allowed us to disentangle gravitropism and autotropism. An automatic irrigation system
214 is present to ensure a fertigation could be provided continuously to the pot of the rotating plant
215 without needing to stop the clinostat. Altogether, we hence can name this device « isotropic &
216 agravitropic light spheres ». Because of the heat produced by the system, a controlled mobile
217 cooling system (Blyss WAP 267EC) was added to each sphere to maintain the temperature at
218 approximately 25°C in the sphere during the lighted periods (especially in summer). Note that
219 so far, there is no heating system, so that depending on the season and time of the day the

220 temperature could vary between 20 and 25°C. Time-lapse imaging was provided using a camera
221 (NIKON D7000 with a Nikon 14 AF Nikkor 14mm f/2.8D ED Lens) with a focal plane laying
222 horizontally (Hartmann et al., 2022). In order to always image the poplars in the same position
223 during clinostating, the shooting of the camera was synchronized with the clinostat rotation. A
224 scale was present in each photograph.

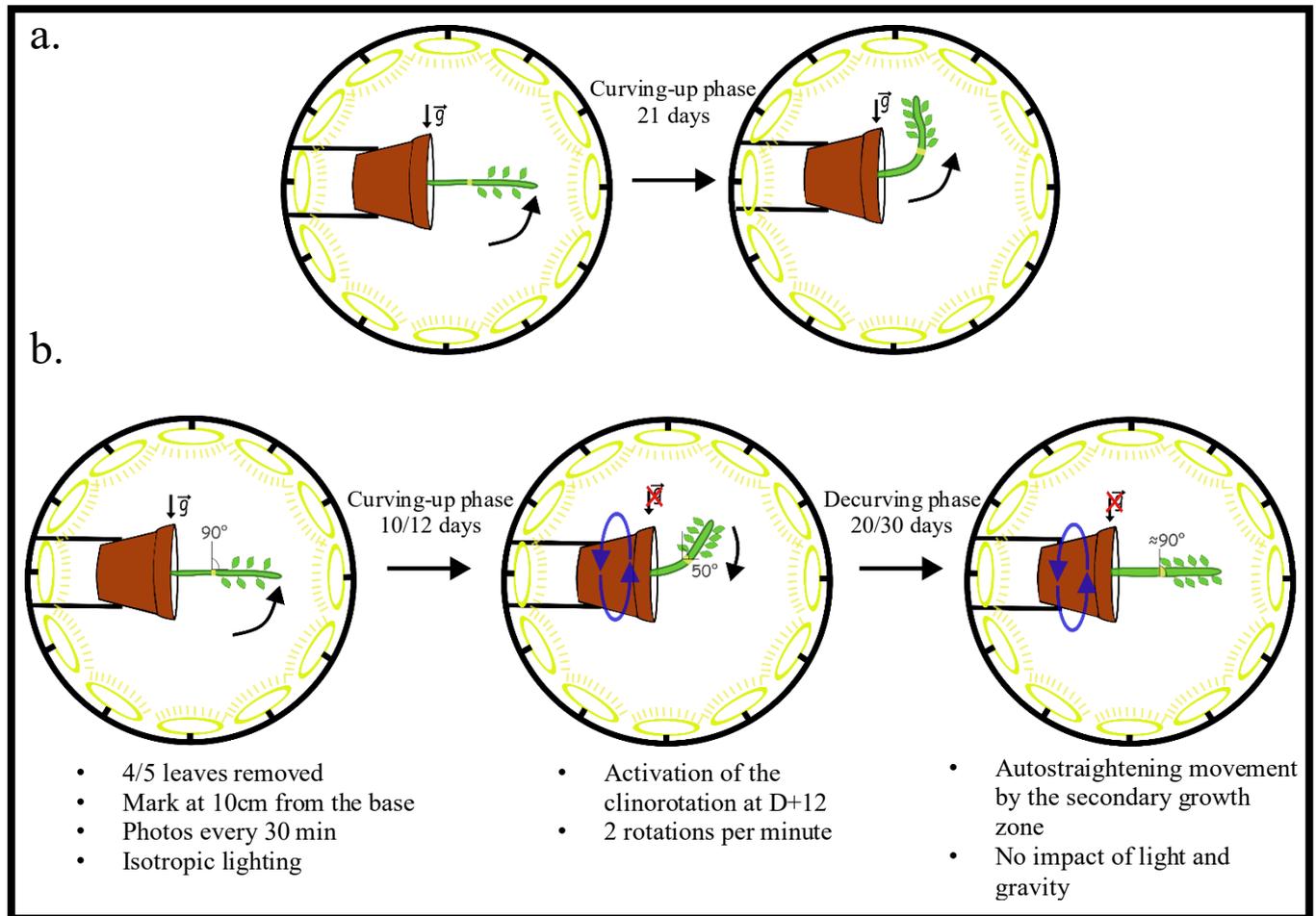


225 **Figure 1: Experimental setup for studying gravitropic and autotropic straightening of trees.**
226 These spheres have an isotropic light, an irrigation system and an automatic photo-taking system. A
227 clinostat is present to allow gravitropic suspension.

228 Plant treatment

229 The first treatment involves individuals as controls, which were only tilted without rotation (T-
230 Trees = Tilted Trees). These young poplars were tilted within isotropic and agravitropic spheres
231 at an inclination angle of $90^\circ (\pm 5^\circ)$ from the vertical (Figure 2a.). These trees did not undergo
232 clinorotation during the experimentation and remained within the spheres for a total of 21 days.
233 This experiment will therefore have only one phase, which entails both gravitropic and
234 autotropic phenomena. This treatment allows a complete recovery, vertically, of the poplar
235 stem. The second treatment focuses on the specific study of autotropism, involving an
236 inclination followed by clinorotation (TtC-trees = Tilted then Clinostated trees). As with the
237 first treatment, young poplars were first tilted with an inclination angle of $90^\circ (\pm 5^\circ)$ from the
238 vertical. The bending phase lasted for 12 days on average (Figure 2b.). When the poplars
239 reached an angle $A_m(L,0)$ at the mark of 50° from the vertical, the rotation was activated (2
240 rpm). This clinorotation was left to work until the most basal ten centimeters of the stem reached

241 straightness (after 20 to 30 days). This rotation is done around a horizontal axis. So there are 2
 242 phases here: gravitropic and autotropic, then strictly autotropic. The photo-shooting was
 243 automatic, triggered every 30 minutes, with flash (day and night).



244 **Figure 2: Treatment applied to the T-trees (a.) or the TtC-Trees (b.).** (a) Experimental set-up for
 245 the T-trees condition (inclined trees). This treatment is said to be gravitropic and autotropic. 4 to 5
 246 leaves are removed at the base of the stem, a yellow mark is placed 10cm from the collar. A photo is
 247 taken every 30 minutes. (b) Experimental set-up for the TTC-trees (Tilted-then clinostated trees)
 248 condition. This set-up comprises a gravitropic and autotropic phase, followed by a strictly autotropic
 249 phase. This experimental scheme is made possible by the use of isotropic and agravitropic spheres.

250 Image processing and model-assisted phenotyping

251
 252 The sequences of time-lapse images generated during the experiments were processed and
 253 analyzed through a semi-automatic pipeline.

254 The first step of this pipeline was to pre-process the images. The reflection of the camera flash,
 255 small buds and remains of leaf petioles were removed manually from images, using Microsoft
 256 Paint (Microsoft Windows, version 21H2, operating system build 19044.2486 – Microsoft
 257 Corporation). This photo-editing was necessary to increase the accuracy of subsequent image

258 analyses. The second step was to use Interekt, and to obtain the parameters and variables of
259 interest in our study. Interekt (INTERactive Exploration of Kinematics and Tropisms) is a
260 software devoted to the quantitative description of plant organ movements (Hartmann et al.,
261 2022, <https://forgemia.inra.fr/felix.hartmann/interekt>,). Interekt was first designed for the
262 analysis of the growth kinematics of Arabidopsis floral stem, an organ with mainly primary
263 growth and little secondary growth. For this study, the Interekt software was adapted to the
264 specificities of poplar stem undergoing secondary growth.

265 Pre-processed images were then imported, one sequence at a time, into Interekt. The “skeleton”
266 (*i.e.* central line) of each stem was then semi-automatically extracted from each image with a
267 specific algorithm (Chauvet et al., 2016). To do so, a starting point was placed on the stem
268 manually (as close to the base of the stem as possible). Interekt then detected the stem skeleton
269 automatically starting from this point. This detection stopped at the mark painted on the stem.
270 Once the image processing was launched, geometric variables were obtained (such as the stem
271 radius, the stem length, and the angles and curvatures as functions of the position along the
272 stem) for each stem and at any time during the experiment. This software allows us to extract,
273 among other parameters, the curvature fields of the stems (evolution of curvature in terms of
274 both function and position along the studied area), as well as the evolution of the shape of the
275 studied zone. These data are obtained for section 1 and section 3, which are the two sections
276 studied within the stem area under investigation. Based on a kinematical and model-assisted
277 phenotyping approach (explained below), the radial growth rate and the graviperceptive and
278 proprioceptive sensitivities were estimated for each stem (Mouliia et al., 2021). All these data
279 have been automatically computed from stem skeletons and exported as CSV files. The basic
280 unit of the software is the pixel. A conversion to mm has been made by using the scale described
281 in the "Plant treatment" section.

282

283 Analysis of the kinematics of poplar movements

284

285 a/ Angle and curvature changes

286

287 According to the AC model (Bastien et al 2013, Mouliia et al. 2019), the rate of change in
288 curvature (tropic bending rate) is driven by:

$$289 \quad \frac{dC(s,t)}{dt} = -\beta \sin(A(s,t)) - \gamma C(s,t) \approx -\beta A(s,t) - \gamma C(s,t) \quad (3)$$

290 Where t is time (unit hours= h), s is the spatial coordinate along the stem (curvilinear abscissa,
 291 unit cm) ranging from $s=0$ at the stem collar to $s=L$ at the mark indicating the end of the woody
 292 zone of interest, A is the angle to the vertical (measured in radian), C is the curvature, *i.e.* the
 293 rate of change of angle with spatial position s along the stem $C(s, t) = \frac{dA(s,t)}{ds}$ (unit cm^{-1}), β is
 294 the graviperceptive sensitivity (unit $\text{cm}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) and γ is the proprioceptive sensitivity (unit h^{-1}).
 295 During the experiment the angle at the base $A(0, t)$ is kept constant over time *i.e.* $A(0, t) = A_0$.
 296 Due to our experimental setting, curvature is kept rather homogeneous along the stem. Hence,
 297 we may consider only the spatially-averaged curvature of the stem (at each time t):

$$298 \quad \bar{C}(t) = \frac{A(L,t) - A(0,t)}{L} = \frac{A(L,t) - A_0}{L} \quad (4)$$

299 Then equation (4) becomes :

$$300 \quad \frac{d\bar{C}(t)}{dt} = -\beta \sin(A(L, t)) - \gamma \bar{C}(t) \approx -\beta A(L, t) - \gamma \bar{C}(t) \quad (5)$$

301

$$302 \quad \text{With } \frac{d\bar{C}(t)}{dt} = \frac{d\left(\frac{A(L,t) - A_0}{L}\right)}{dt} = \frac{dA(L,t)}{L dt}$$

303 At the beginning of the curvature phase, the tree had a tilt angle A_0 of 90° , or $-\pi/2$ rad.

304 Using equation (5) of AC model with $\sin(-\pi/2) = -1$ and with t_0 which represents the time of
 305 the beginning of the curvature phase, the evolution of the average curvature on a section of the
 306 tree is written:

$$307 \quad \frac{dC(t)}{dt} = \beta, \text{ with } C(t_0) = 0 \quad (6)$$

308 The variation in time of the curvature C is therefore the sensitivity β . The curve representing
 309 $C(t)$ has at any point a tangent with a value of β . The curve of $C(t)$ is therefore itself a straight
 310 line of slope β :

$$311 \quad C(t) = \beta(t - t_0) \quad (7)$$

312 To estimate the value of β , it is sufficient to calculate the slope of the curve of $C(t)$.

313 The slope of the linear regression of $A(L,t)/L$ versus time is therefore a statistical estimate of
 314 the gravitropic sensitivity β . To estimate the proprioceptive sensitivity γ , it is necessary to focus
 315 on the decurving phase, after the setting of the clinostat. In this condition, the equation (3)
 316 becomes:

$$317 \quad \frac{dC(s,t)}{dt} = -\gamma C(s, t) \quad (8)$$

318 Indeed $\beta = 0$ when the clinostat is activated.

319 Hence, two terminals were placed. The first is placed at the moment when the movement of
 320 return to straightness is engaged, after the clinostat has been set on (noted $t_{\beta \rightarrow 0}$). The second is

321 placed at the end of the experiment, *i.e.* when the movement back to straightness is converging
322 (noted $t_{C \rightarrow 0}$).

323 For the decurving phase ($t_{C \rightarrow 0} \geq t > t_{\beta \rightarrow 0}$), the equation (3) becomes:

$$324 \quad \frac{dC(s,t)}{dt} = -\gamma C(s,t) \Rightarrow \frac{dC(s,t)}{C(s,t)dt} = -\gamma$$

325 As the phase starts in a configuration in which the curvature is almost homogeneous, one may
326 then write:

$$327 \quad \frac{d\bar{C}(t)}{\bar{C}(t)dt} = \gamma$$

328 One may recognize here the neperian log derivative, *i.e.*

329

$$330 \quad \frac{d \ln(\bar{C}(t))}{dt} = \gamma \quad (9)$$

331 The slope of the linear regression of $\ln(\bar{C}(t))$ over time during the decurving phase ($t_{C \rightarrow 0} \geq$
332 $t > t_{\beta \rightarrow 0}$) is therefore a statistical estimate of the proprioceptive sensitivity γ .

333

334 b/ Balance Number or B

335

336 Equation (3) has been proposed as a way to phenotype plants for their graviperceptive and
337 proprioceptive sensitivities, through the use of the dimensionless number B . Within the AC
338 model (Bastien et al., 2013), the number B is created to describe the dynamics of curvature
339 response. It reflects the ratio between graviperceptive and proprioceptive sensitivities, with
340 consideration of the active zone allowing plant movements (in poplar, the secondary growth
341 zone, L). B is important because it defines the final shape of the stem, but also the dynamics of
342 recovery.

$$343 \quad B = \frac{\beta L}{\gamma} \quad (10)$$

344 c/ Time transformation accounting for possible temperature effects on the rates of radial growth 345 and of wood fibers differentiation

346

347 Because the growth temperature varied between experiments, the secondary growth rate varied
348 (S1 in Supplemental Data). Radial growth is the motor of tropic bending through tension wood
349 formation (Mouliat and Fournier 2009). Therefore, changes in radial growth rate between
350 experiments could confuse the analysis. More precisely, radial growth was monotonic (quasi

351 linear, Fig 4c) in time during one experiment, but its rate varied greatly with temperature along
 352 the season. Four types of growth-rate-corrected time were then calculated.

353 The first one is thermal time (sum of degree.days; Bonhomme, 2000) :

354

$$355 \quad \textit{Thermal time} = \sum \left(\frac{T_{max} - T_{min}}{2} - T_{base} \right) \Delta t$$

356 T_{base} is the temperature below which plant growth is zero. Here, $T_{base} = 5^{\circ}\text{C}$ (Sarvas, 1972;
 357 Hartwich et al., 2016), $\Delta t = 1$ day. This justifies the transformation,

358

$$359 \quad t \rightarrow \textit{Thermal time}$$

360 A second transformation involves the use of radial time by developing an approach inspired by
 361 Coutand et al. (2007). Radial time estimation is based on the Fournier model which accounts
 362 for the motor aspects of radial growth and tension wood formation (Fournier et al., 1994;
 363 Moulia and Fournier, 2009), with the following equation as a starting point:

364

$$365 \quad dC(s, t) = 4\alpha(s, t) \frac{1}{R^2(t)} \frac{dR}{dt} dt \quad (11)$$

366 Where $C(s,t)$ is the curvature, $\alpha(t)$ is the difference in maturation stress between the tension
 367 wood and the opposite wood.

368 If we assume that $\alpha(t)$ is constant over the experiment, we can isolate purely temporal aspect
 369 due to continuous radial growth. Integration of equation 9 was made between t_i et t_f :

$$370 \quad \int_{t_i}^{t_f} dC(t) = 4\alpha \int_{t_i}^{t_f} \frac{1}{R^2(t)} \frac{dR}{dt} dt \quad (12)$$

371 This gives,

$$372 \quad C(t_f) - C(t_i) = 4\alpha \left(\frac{1}{R(t_i)} - \frac{1}{R(t_f)} \right) \quad (13)$$

373 This justifies the introduction of the transformation,

$$374 \quad t \rightarrow \frac{1}{R(0)} - \frac{1}{R(t)} \quad (14)$$

375 The first two transformations focus on the timing of radial growth and how it may be affected
 376 by variation in temperatures. The maturation of the tension wood is assumed to be immediate
 377 and sudden, for each stem of radial growth dR (*i.e.* tension wood is being produced and fully
 378 differentiated in one time step dt). This process can also be considered as a more continuous
 379 process that may depend on temperature. But the kinetics of the relation between temperatures
 380 and maturation on one side or temperatures and radial growth on the other side, could differ.

381 We can assume that the relation between wood maturation and temperatures is either linear up
 382 to a threshold, or linear in thermal time.
 383 The last transformation consists in assuming a linear maturation in thermal time. Repeating
 384 equation (11), we obtain:

$$385 \quad C(t) - C_0 = 4\beta \int_{t_0}^t TT_{t'} \frac{1}{R^2(t')} \frac{dR}{dt'} dt' \quad (15)$$

386 We can discretize it and define radial degree-days (RDD):

$$387 \quad RDD = TT_t \frac{\dot{R}}{R^2(t)} \Delta t = TT_t \frac{\Delta R}{R^2(t)} \quad (16)$$

388 Histological analysis

389

390 a/ Analysis of tension wood formation

391

392 Tension wood production was therefore monitored in the area of interest, *i.e.* the most basal
 393 10cm of the stem. The ends of this area of interest were chosen to see if a difference in curvature
 394 between the two ends could result from a difference in tension wood production. These two
 395 areas were named Section 1 and Section 3.

396 At the end of the experiments (T-Trees and TtC-trees conditions), the poplar was removed from
 397 the sphere, and the poplar stem was immediately cut at its base to separate it from the pot using
 398 pruning shears. Section 1 and Section 3 were then sampled by cutting the first and last
 399 centimeters of the area of interest with a razor blade. Stem segments were fixed in FAA (For
 400 50ml of FAA: 5ml Formaldehyde 37%, 2.5ml Acetic Acid 100%, 25ml Ethanol 100% and
 401 17.5ml water) and rehydrated in graded ethanol baths (ethanol 50%, 30%, 15%). The stem
 402 samples were then fixed through ice on a Peltier plate. Transverse sections (25 μm-thick) were
 403 cut with a microtome (Microtome LEICA RM2165) with disposable razor blades (Feather
 404 microtome blades N35 type). Double staining with 1% safranin-astra blue
 405 ([dx.doi.org/10.17504/protocols.io.rdmd246](https://doi.org/10.17504/protocols.io.rdmd246)) was used to visualize tension wood. Data were
 406 recorded on a digital camera (AxioCam ICc 5, Zeiss) using Zen imaging software (Zeiss, Jena,
 407 Germany).

408

409

410

411 b/ Anatomical interpretation of the characteristic times of the experiment

412

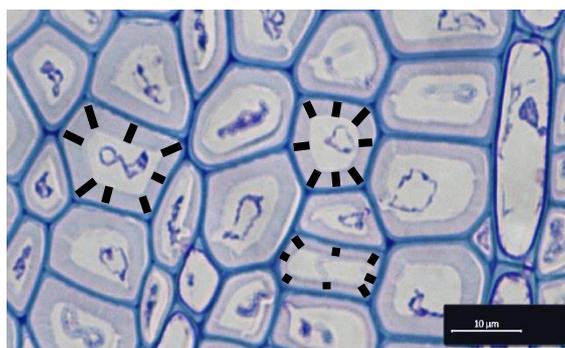
413 One of the objectives is to be able to relate the characteristic times of the experiment to the
414 anatomical changes undergone by the stem during the experiment. This work was carried out
415 on the photos of the histological sections, using the radius data provided by Interekt and data
416 measured directly on the samples. Experimental characteristic times are also plotted on the
417 graphs of radius, curvature and angle. To make this determination, a 5-step analysis algorithm
418 was developed. Details of this algorithm are given in the Supplemental Data (S13 in
419 Supplemental Data).

420 c/ Characterization of the G-layer in tension wood

421

422 For the measurements of G-layer thickness, wood sticks (1cm x 0.5cm) were sampled from the
423 sections 1 and 3 used for the analysis of the surface of tension wood areas. The wood sticks
424 were fixed in FAA, then rehydrated in graded ethanol baths (ethanol 50%, 30%, 15%) and
425 gradually infiltrated with medium grade LR white resin as described in Azri et al. (2009).
426 Transverse sections (3 μ m-thick) were cut with an ultra-microtome (Reichert Om U2 -
427 UltraMicrotome) equipped with glass knives, and stained with 0.5 % toluidine blue.
428 Visualization was performed on a digital camera (AxioCam ICc 5, Zeiss) using Zen imaging
429 software (Zeiss, Jena, Germany). Measurements of the thickness of the G-layer within tension
430 wood were carried out using FIJI (Schindelin et al., 2012) on wood sticks sampled from the
431 upper and lower faces of 6 TtC trees. For each wood stick, three photos were taken from one
432 representative cross-section per stick. 10 fibers were analyzed per photo. The G-layer thickness
433 of a single fiber was measured at 8 different positions (Figure 3). These 8 values were then
434 averaged to obtain an average value for this particular fiber. A total of 30 G-layer thicknesses
435 were measured per sample. The average G-layer thicknesses between the top and bottom face,
436 at section 1 and section 3, were analyzed using the Wilcoxon test.

437



438 **Figure 3** : Method for measuring the G-layer thickness of tension wood fibers. In one photo, ten
 439 wood fibers are analyzed (only 3 measurements are shown here). The G-layer thickness is measured at
 440 8 different positions. These measurements are averaged.

441
 442 Microfibril Angle measurements

443
 444 Diametral sticks of wood (15, 3 and 2 mm samples in longitudinal (L), tangential (T) and radial
 445 (R) directions) were taken from sections 1 and 3 (Figure 4b.). They were fixed with FAA and
 446 treated with graded ethanol baths as described in the “Histological analysis” section.

447 The sticks were then left to dry for a few days. For each stick, successive measurements of the
 448 MFA were realized every 5 millimeters along the radial direction of the stem. The MFA of
 449 crystalline cellulose was measured at the SYLVATECH platform (INRAE, Nancy, France)
 450 with an X-ray diffractometer (Supernova, Oxford-Diffraction, Abingdon-on-Thames, UK). The
 451 Supernova system consists of a kappa geometry, a four-circle goniometry for sample orientation
 452 with a detector arm, a CCD surface detector delivering a digitized signal at 18-bit resolution,
 453 and an X-ray tube, with a copper source with a nominal point at 50 keV/1 mA. Samples were
 454 dried at 12% of HR before analysis. For the measurements, samples were exposed to X-ray for
 455 60 seconds. The 002 arc intensity from the diffraction pattern (Figure 4b.) is required to estimate
 456 the MFA. The calculation of MFA is done by curve fitting using a least square routine on the
 457 002 arc intensity (Figure 4). The theoretical function considered includes two Gaussian curves
 458 and a baseline:

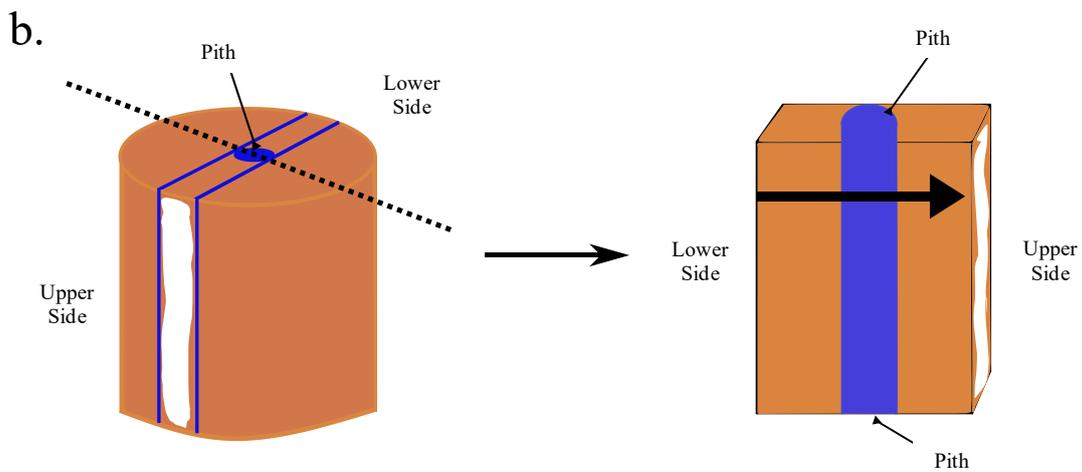
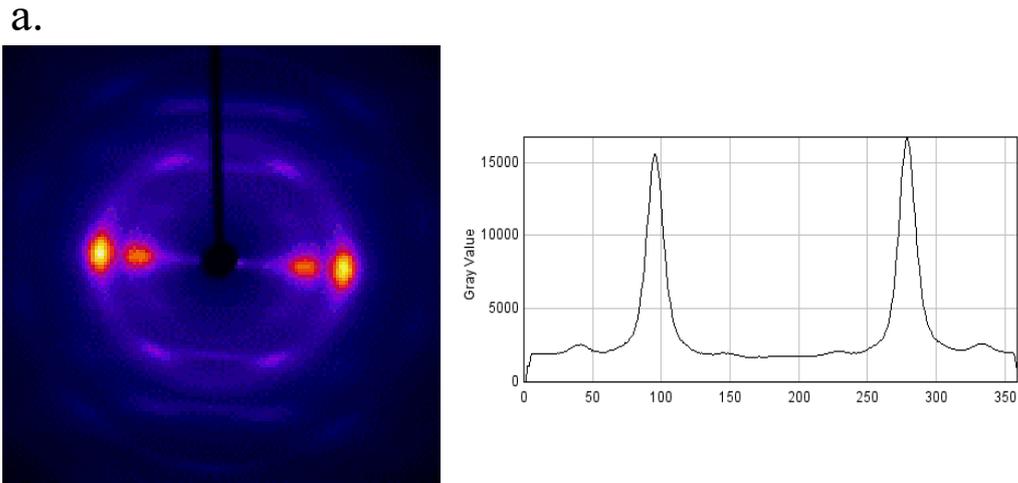
459
$$y = A_0 + A_1 e^{-\frac{(x-m_1)^2}{2\sigma_1^2}} + A_2 e^{-\frac{(x-m_2)^2}{2\sigma_2^2}}$$

460 The MFA is then deduced from the parameters of the fitted function according to Verrill et al.
 461 (2006):

462
$$MFA = 0.8 \times 0.6 \times (\sigma_1 + \sigma_2)$$

463 where σ_1 and σ_2 are the widths of the Gaussian fits of the diffraction curves.

464



466 **Figure 4 : Protocol for measuring the MFA of tension wood in poplar stems.** (a) Determination of
 467 the 002 arc intensity from the diffraction pattern of a sample. (b) Diametral sticks were cut from the
 468 upper and lower faces of the stems, and the MFA was measured across the entire length of the
 469 diametral stick.

470

471 Statistical analyses

472

473 R studio software (RStudio Team (2022). RStudio: Integrated Development Environment for
 474 R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com>) was used for statistical analysis.
 475 Kruskal-Wallis, Wilcoxon and Student's t tests were used to compare means and P values, with
 476 a significance level of ≤ 0.05 .

477

478

479

480

481 Results

482 **1/ Kinematics of movements: curving-decurving (or curving-straightening)** 483 **dynamics**

484
485 Figure 5 presents typical kinematics of changes over time for T-Trees (Tilted Trees, a_1, b_1, c_1)
486 and TtC-Trees (Tilted-then-Clinostated Trees, a_2, b_2, c_2) treatments. These changes are
487 illustrated using time-lapse photographs (a), extracted image-skeletons of the stem (with higher
488 time resolution, b), and the spatio-temporal field of curvature $C(s,t)$, depicted as an heat map
489 (c).

490 In the T-Trees, the woody part of the stem first sagged under self-weight during
491 approximately 5 days (due to a combination of passive viscoelastic creep and increase in the
492 end-load due to primary growing part of the shoot -not shown-). The active bending up then
493 took over and the stem curved up, reaching a homogeneous curvature all along the stem at day
494 10 (*i.e.* at that time, the stems shaped as an arc of circle). Then the apical part started to
495 straighten, while the curvature concentrated progressively at the basis of the stem (compare day
496 18 to day 36 on Figure 5a1. or 5c1) until a steady-state shape was reached. This is in accordance
497 with the universal pattern that has been observed in angiosperm stems during gravitropic
498 experiments (Bastien *et al.*, 2013; Coutand *et al.*, 2019). The movements observed for TtC-
499 trees, were identical to those of the T-Trees during the first 11 days of the experiment.
500 Activating the clinorotation at day 11 (Figure 5 a_2, b_2, c_2) stopped this movement and reversed
501 the dynamic. By the end of the experiment, the portion of the stem encountering secondary
502 growth had straightened out in a spatially homogeneous manner, until it reached a stable
503 rectilinear state with very little curvature. On average, the curvature of the 6 plants at the end
504 of the experiment was 0.046 cm^{-1} , significantly different from zero (p -value = 0.001; test de
505 Student). Note that the stem did not revert to the shape that it reached under sagging just after
506 tilting, but gained a much straighter shape.

507

508

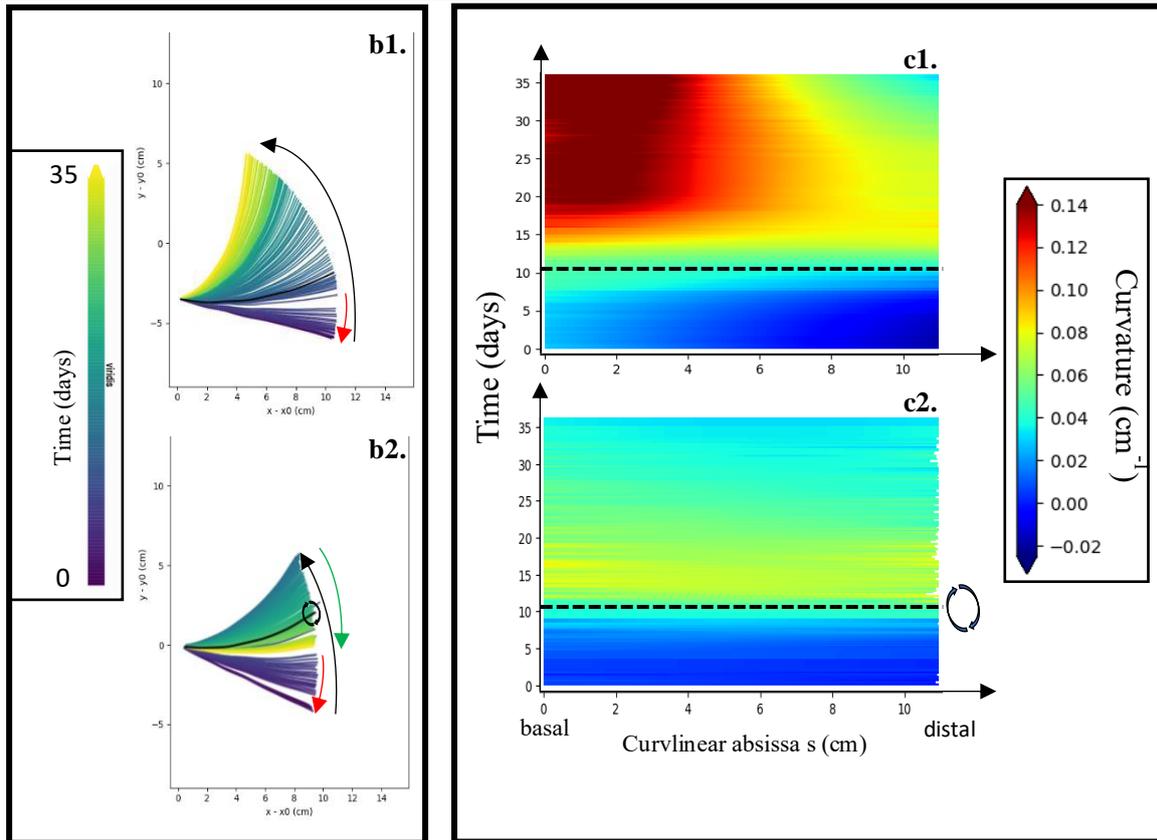
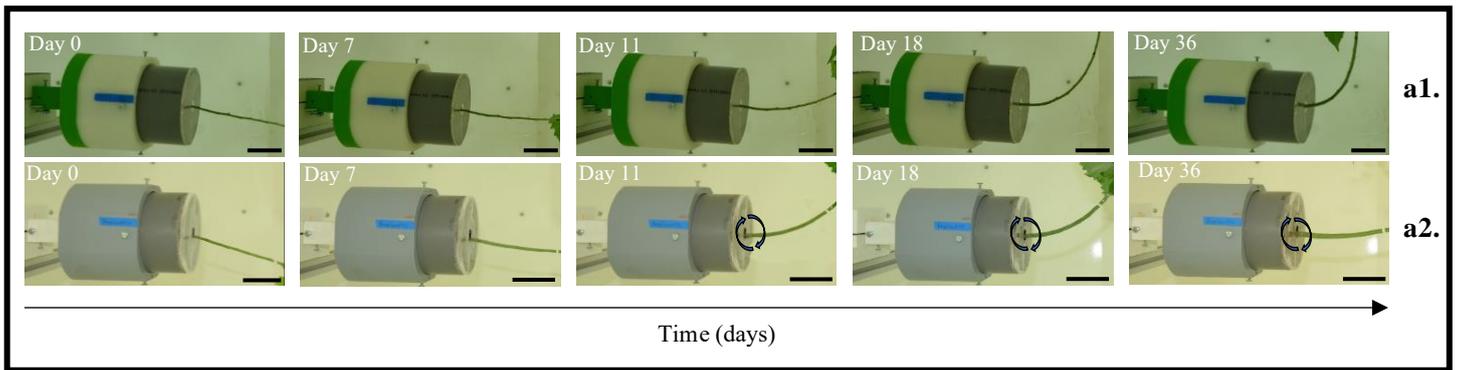
509

510

511

512

513



514 **Figure 5** : Kinematics of movement between control and clinostated individuals. (a) Time-lapse
 515 images of a T-Tree individual (a1.) and a TtC-Trees individual (a2).The black arrow represents the day
 516 of clinostat activation. Note that during clinostatic rotation, the stem is constantly turning around the
 517 horizontal axis; the pictures are taken when it passes to its original position, but in between it has
 518 experienced several rotations (2 revolutions per minute).. Scale = 5 cm. (b) Shape evolution of T-Tree
 519 stems (b1) and TtC-Tree stems (b2). The color scale is represented by the viridis palette, ranging from
 520 violet to yellow over the 35 days of experimentation. The red arrow represents the bending movement
 521 of the poplar stem under its own weight. The black arrow represents the bending movement of the
 522 poplar stem during the gravitropic and autotropic phase. The green arrow represents the movement of
 523 the poplar stem towards straightness during the strictly autotropic phase. The black arrow represents
 524 the time of clinostat activation. (c) Curvature thermograms for T-Tree plant (c1.) and TtC-Tree plant

525 (c2.). Red to green represents positive curvatures, blue represents negative curvatures. The dotted line
526 represents the day of clinostat activation

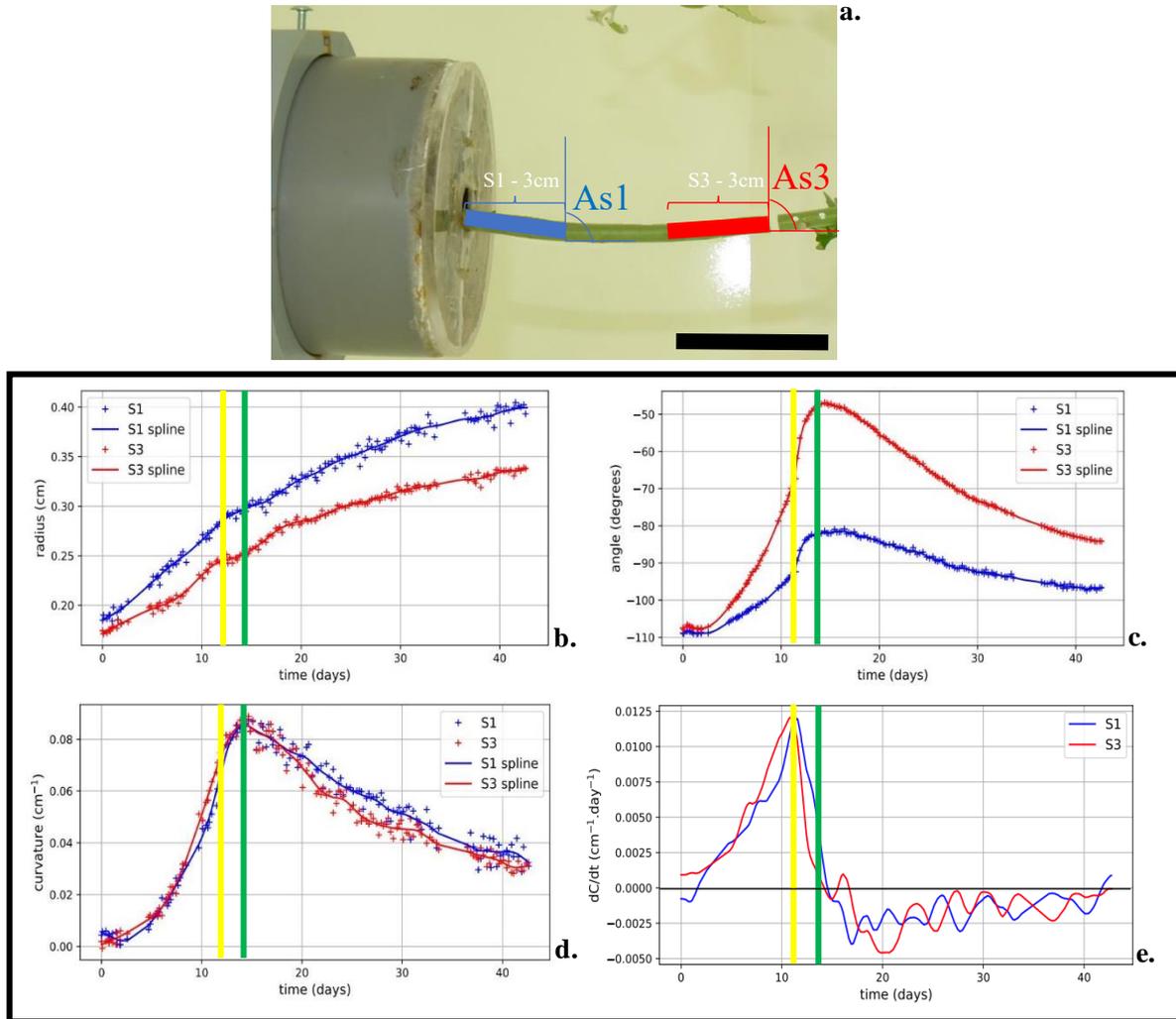
527

528 Figure 6 provides a closer look at the two sections of the stem on which the developmental
529 anatomy has been recorded. Section S1 sits at the basis of the zone studied within the woody
530 stem, whereas section S3 sits at its tip (Figure 6a). For each section $i \in \{1,3\}$, kinematical
531 analysis provides the history of the secondary growth $R_i(t)$ (Figure 6b), as well as of the two
532 relevant stimuli - *i.e.* the (tip) angle with respect to the vertical $A_i(t)$ (Figure 6c.) and the (mean)
533 curvature $C_i(t)$ (Figure 8c)-, exemplified on the same typical example as in Figure 5 (for a more
534 complete view on all the stems, see Supplemental Figures S4, S5, and S6).

535 Concentrating on the TtC treatment, we can see that the distal section S3 had a smaller initial
536 radius than the basal section S1 (the woody part of the stem is slightly tapered). This difference
537 tended to amplify slightly over time, with a greater radial growth rate in Section 1 compared
538 with Section S3 (0.0098 cm/day on average *vs* 0.0069cm/day on average; p-value = 0.003;
539 Student's t test , $n = 6$), at least until the onset of clinorotation (yellow bar). After that, the two
540 radial growth rates no longer showed any significant difference, meaning that the two sections
541 had identical radial growth (0.0061 cm/day in S1 *vs* 0.0059 cm/day in S3; p-value = 0.73;
542 Student's t test, $n = 6$). It should be noted that the start of clinostatic rotation induced a
543 significant decrease in secondary growth, but in section 1 only (0.0098 cm/day before
544 clinostatic rotation and 0.0061 cm/day after clinostatic rotation; p-value = 0.004; Student's t
545 test ; $n = 6$). This decrease was not visible in section 3, where the radial growth rate did not
546 differ before and after clinostatic rotation (0.0069 cm/day *vs* 0.0059 cm/day : p-value = 0.73 ;
547 Student's t test ; $n = 6$).

548 The kinematics of angle changes $A_i(t)$ was very contrasted between the two sections, with S3
549 reaching angles that are much closer to the vertical (*i.e.* smaller) than S1. Thus, the gravitropic
550 stimuli experienced by the two sections displayed different history, although starting to roughly
551 the same initial tilting. The S3 section had a gravitropic stimulus that decreased much more
552 rapidly over time than S1. This is just the consequence of their position along the stem, with S3
553 being moved by the bending up of a much longer part of the stem than S1 (from the stem basis
554 to S3). Overall, both displayed the same trend, with an active movement upward. This
555 movement was reverted after the onset of the clinostatic rotation, when the angle $A_i(t)$ decreased
556 toward the horizontal - which does not mean going down, as the plant was experiencing
557 continuous clinostatic rotation. Note that a lag can be observed between the onset of the

558 clinostatic rotation and the reversion of the bending. These trends are common to all the tested
 559 poplar stems (see Figure S2), with very little variability.



560 **Figure 6 : Evolution of kinematic parameters between section 1 and section 3 of a clinostated**
 561 **individual.** (a) Spatial representation on the poplar stem of TiC-trees individuals from sections 1 and
 562 3, scale = 5cm. (b) Evolution of the radius (cm) as a function of time (day) for section 1 and section 3.
 563 (c) Evolution of the tip angle (degrees) as a function of time (day) for sections 1 and 3. (d) Evolution
 564 of curvature (cm⁻¹) as a function of time (day) for section 1 and 3. (e) Evolution of dC/dt (cm⁻¹.day⁻¹)
 565 as a function of time (day) for section 1 and 3. The yellow segment represents the day of clinostat
 566 activation, the green segment the day of the peak curvature. Section 1: Blue; Section 3: Red

567
 568 The changes in curvature of the two segments also displayed a clear trend, starting with a
 569 bending up, that is reverted after the onset of the clinostatic rotation. Consequently, a maximum
 570 curvature was reached, depicted by the green bar on the graphs. The lag between the yellow
 571 and green bars shows the delay in the progressive suppression of the gravitropic bending after

572 the onset of clinostatic rotation, so that the proprioceptive straightening only takes over after a
573 few days. Note that in many cases, the bending rate even increased transiently after the onset
574 of clinostatic rotation. After considering the variables influencing the control of the gravi-auto-
575 tropic process (inputs), it is also important to look at the curving rate $(dC/dt)_i(t)$ for each
576 segment ($i \in \{1,3\}$), which is its output (Figure 6e). The curving rate increased continuously
577 until the onset of the clinostatic rotation. Then, despite the immediate acceleration, the
578 deceleration started right away. The curving rate was still positive, but it decreased rapidly,
579 down to a negative value of approximately $-0.03 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$. At that time the stem straightened
580 rapidly, reaching a maximal counter-curving rate at approx. 10 days after the onset of the
581 clinostatic rotation. Then the decurving rate relaxed to zero, when a steady state was reached in
582 an almost straight configuration. Altogether, from the kinematics, we can define two phases for
583 the TtC experiments: i) the curving phase, and ii) the straightening phase. Their boundaries can
584 be defined by two times: the time at the onset of the clinostatic rotation (end of the phase of
585 gravitropic curving-up and starting of the deceleration of the curving rate –yellow lines of the
586 graphs-), and the time when maximum curvature is reached (defining the time at which
587 straightening took over –green lines of the graphs-). Between the two phases, there is a transient
588 phase where the graviperceptive drive persists while the proprioceptive drive is progressively
589 taking over. These transient effects are not the focus of this paper and we will focus on the
590 anatomical consequences of the two clear phases.

591

592 **2/ Histological analysis: alternating tension wood formation in different** 593 **directions**

594

595

596 Figure 7 pictures the histological analysis of the S1 and S3 cross sections from a typical TtC
597 experiment (see Figure S4-S8 for a complete view on all the stems). These changes are
598 illustrated using i) optical anatomical views of the whole cross-sections in S1 and S3 (a), ii)
599 close-up views on the tension wood showing the G-layers (b), iii) profile of cellulose mean
600 Microfibril Angle (MFA) (scaled to the corresponding cross-section view (c)) and iv)
601 quantitative comparisons of the G-layer thicknesses between the upper and lower faces of the
602 stems (d). The yellow and green bars on the cross-sections correspond to the diameter of the
603 stem at the start of clinorotation (yellow) and at the peak of curvature (green), following the
604 algorithm detailed in the materials and methods section. The ends of these bars represent the
605 position of the cambium at these two characteristic times.

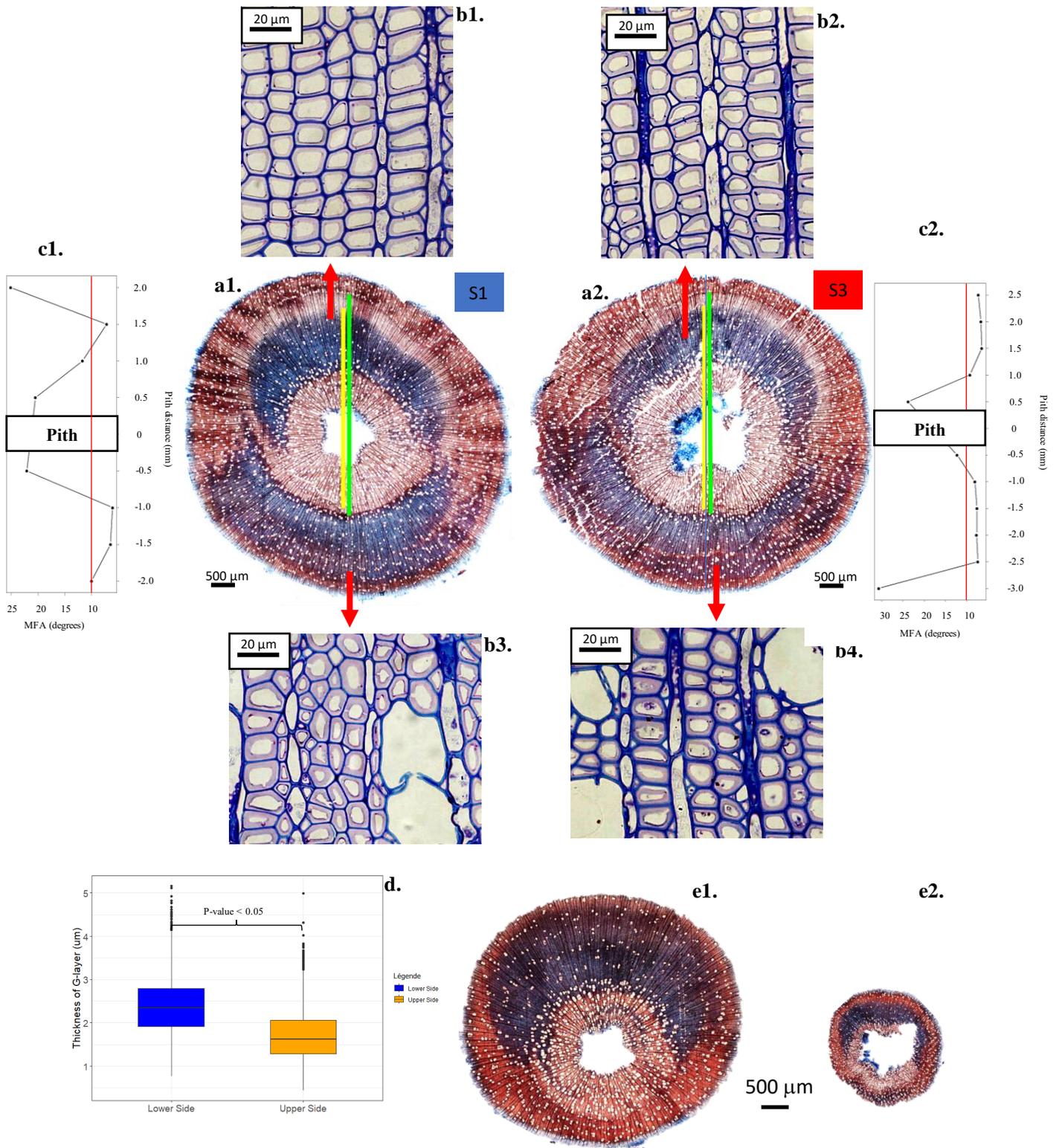
606 The anatomical sections show the formation of tension wood on the lower and upper faces of
607 sections 1 and 3 (blue growth areas in Figure 7 a₁ and a₂). These two areas of tension wood
608 show typical anatomical characteristics of tension wood (Figure 7b₁₋₄). We observe a higher
609 ratio of fiber cells to xylem vessels, the presence of a gelatinous layer (G-layer; see the thick
610 cell wall colored light blue), and an average microfibril angle (MFA) that is much lower than
611 in normal wood in relation to the fiber longitudinal axis (between 6.90° and 8° on average).

612 Time wise, the tension wood on the upper side of the stem was produced during the upward
613 bending phase, before clinorotation was activated. When clinostatic rotation was implemented,
614 a very transient false ring developed (which may be linked to the slowdown in the radial growth
615 rate illustrated earlier in Figure 6b.). This false ring has all the anatomical characteristics of
616 tension wood but without a G-layer. This may explain the deceleration in the curving rate
617 observed on Figure 6d. Very quickly, normal wood is again produced on the upper side until
618 the end of the experiment.

619 Once the clinorotation was set up, the production of tension wood on the lower side of the stem
620 continued until the end of the experiment, albeit with some heterogeneity and an apparent
621 reduction in the thickness of the G-layer (which we were unable to measure directly). This
622 production starts as soon as the curvature level drops, as seen in Figure 6d, following
623 clinorotation.

624 Despite the anatomical similarities between the tension wood on the upper and lower sides,
625 quantitative measurements revealed that the thickness of the G-layer on the lower side ($2.70 \pm$
626 $0.67 \mu\text{m}$) was highly and significantly increased by +37% compared to that of the tension wood
627 on the upper side ($1.97 \pm 0.65 \mu\text{m}$). No significant differences could be found in the MFA (p-
628 value > 0.05; Wilcoxon Test). For S1, the mean MFA angle was 6.90° (± 0.60) and 7.7 (± 0.61)
629 for the lower and upper side wood respectively. For S3, the angle was 8.1° (± 1.68) for the
630 upper side and 7° (± 0.47) for the lower side. The onset of tension wood on the upper and then
631 on the lower side of the stem occurred synchronously in S1 and S3 stem sections, consistently
632 with the similar synchrony observed for the curving rates in Figure 8d. So the formation of G-
633 layered tension wood on the upper side of the cross section corresponds to the curving up phase,
634 whereas the formation of G-layered tension wood in the lower side correspond to the
635 straightening phase.

636
637
638



639

640 **Figure 7 : Histological analysis of tension wood formation in poplar stems.** (a₁, a₂) The presence

641 of tension wood in anatomical sections of poplar stem is highlighted in section 1 (a₁) and section 3

642 (a₂.) by astrasafra blue staining in individuals from the TtC-Tree condition. (b₁,b₂,b₃,b₄) The

643 presence of the G-layer within the tension wood of the upper side (b₁,b₂) and of the lower side (b₃,b₄)

644 of poplar stems in TtC-Trees. Staining: 0.5% toluidine blue. (c₁,c₂) Profile of the distribution of MFA

645 along the upper side - lower side axis in section 1 (c1) and section 3 (c2). (d) Comparison of the
646 average thickness of the G-layer in tension wood between the upper and lower faces of the TtC-Trees
647 (Wilcoxon test). (e₁,e₂) Tension wood formation in T-Tree individuals in section 1 (e1) and near the
648 stem apex (e2).

649

650 The growth rates of tension wood were identical between the upper side and the lower side (S1
651 in Supplemental Data). During each of the two phases, the radial growth rates are likely to be
652 higher in the sector of wood that is producing tension wood than in the opposite direction
653 (opposite Normal Wood, NW). It is difficult to estimate this accurately, but by comparing the
654 differences in radial growth at the onset of clinostatic rotation and at the peak of curvature on
655 Figure 6 a₁ and a₂, a rough estimate of a 3 to 5 times higher rate can be produced. Finally, it is
656 informative to compare with the anatomical data obtained for the Tilted-Trees (T-Tree=
657 control), as depicted in Figure 7e. In the basal segment (Figure 7e₁), a crescent of typical tension
658 wood with G-layers was produced during all the experiment, consistently with the continuous
659 upper bending shown in Figure 5c₁. The ratio between the radial growth rates of the TW and
660 OW was 3.6. The apical segment shown was taken at 20 cm from the base, in a zone undergoing
661 clear straightening as observed in Figure 5c₁. It is thus much more distal than the S3 section
662 observed in the TtC treatment, which explains why it has a much smaller radius. In this cross-
663 section, a first crescent of TW in the upper side (powering curving) is shifted to a TW crescent
664 in the lower part over time (powering straightening). This shows that a shift in the position of
665 the TW is not an artefact of clinostatic rotation. It also occurs during normal gravi-autotropic
666 movements (as predicted by the AC model). Altogether, we see that both curving and
667 straightening are related to formation of G-layered tension wood that can shift from one side to
668 the other in order to actuate curving or straightening. Straightening is thus not a simple elastic
669 spring-back to the initial configuration.

670

671 **3/ Evaluating graviperceptive and proprioceptive sensitivities, taking** 672 **temperatures and growth rates into account.**

673

674 Now that we have found that both gravitropic curving-up and autotropic straightening are active
675 processes, we can estimate the graviperceptive sensitivity β and the proprioceptive sensitivity
676 γ of their control (see equation 1), by applying model-assisted phenotyping, using the AC model,
677 in the curving-up and straightening phases.

678

679 - Curving-up phase

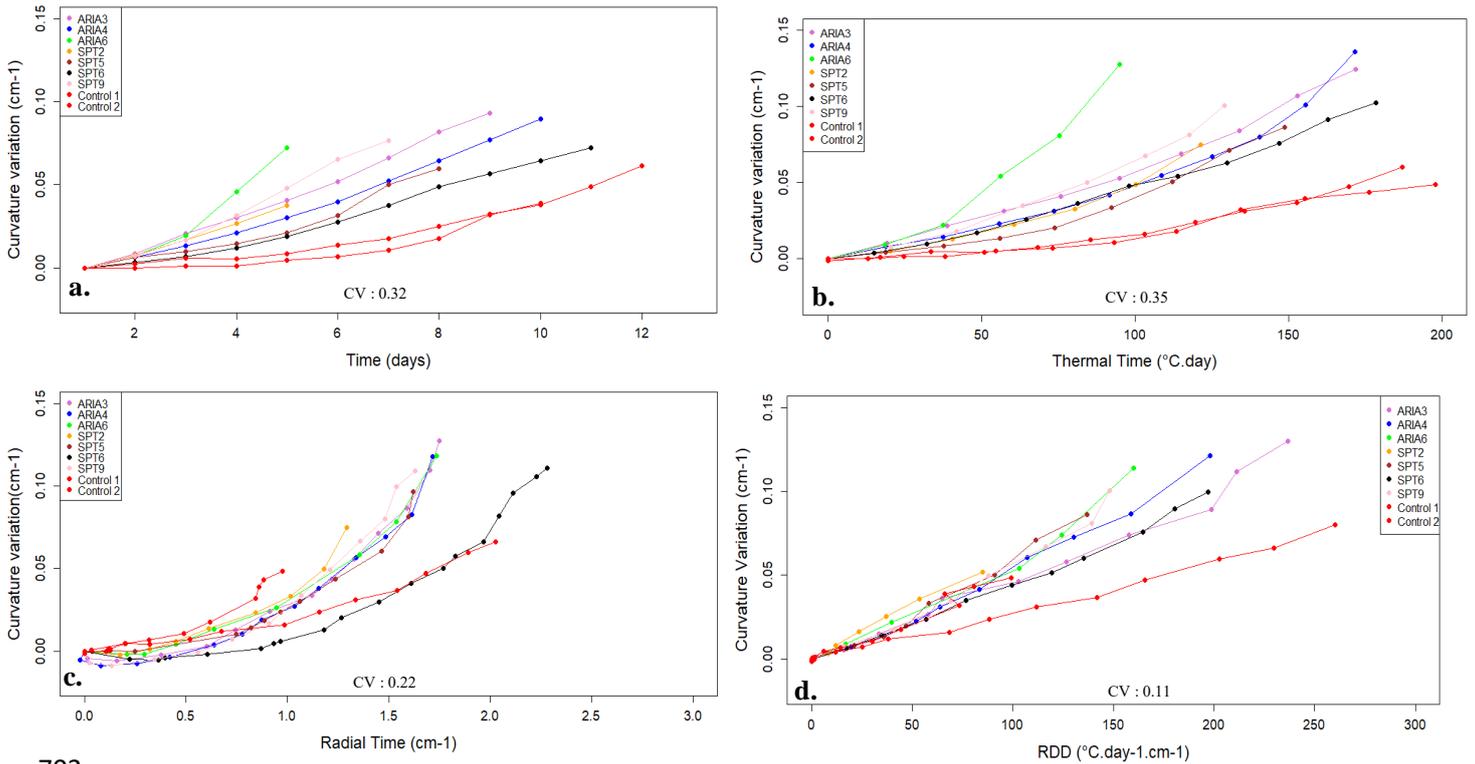
680

681 In the curving-up phase (*i.e.* during 11 days on average before the start of the clinostatic
 682 rotation), the graviperceptive sensitivity β can be evaluated by fitting a linear regression of the
 683 mean curvature $C(t)$ (see equation 1) on each individual (S10 in Supplemental Data) *versus*
 684 time. The slope of each curve was calculated to obtain the graviperceptive sensitivity β (see
 685 table I) (assuming that at the beginning of the experiment $\sin(A(0)) \approx 1$).

Table I. Quantification of the graviperceptive sensitivity according to the different times

β	Time (day) ⁻¹	Thermal Time (cm ⁻¹ .°C ⁻¹ .day ⁻¹)	Radial Time	RDD Time (°C.day) ⁻¹
Mean	4.18e ⁻⁴	7.48e ⁻²	7.37e ⁻²	6.01e ⁻⁴
Standard Deviation	1.74e ⁻⁴	2.6e ⁻²	1.67e ⁻²	0.67e ⁻⁴
Coefficient of variation	0.32	0.35	0.22	0.11

686 Figure 8a shows the average-curvature as a function of physical time in days. Although the
 687 trends of curvature changes with time are similar between all the experiments, there is quite a
 688 lot of variability (coefficient of variation of β equal to 0.32) among individuals. We assumed
 689 that this variability could be due to strong differences in temperature condition and radial
 690 growth rate between experiments. To account for this, we transformed the time, integrating
 691 temperature and radial growth rate effects of the curving velocity, in 3 distinct ways (as
 692 explained in the Material and Methods section). Figure 8b shows the curvature as a function of
 693 thermal time (°C.day), a standard in expressing data obtained in diverse thermal environment
 694 correcting the effects of temperature on growth rates. However, using thermal time did not
 695 reduce the variability between individuals, and the coefficient of variation of β estimates was
 696 not improved (0.35). When the radial time was used (cm⁻¹) (Fig 8c.), thereby taking into account
 697 the effect of radial growth on the efficiency of the bending motor, it lowered the coefficient of
 698 variation of β (0.22), but linearity was lost. The use of radial degree-days time (RDD, cm⁻¹.
 699 °C.day), which integrates both thermal and radial time, highly improved the linearity of
 700 curvature curves (Fig 8d.) and further decreased the variability of β , with a coefficient of
 701 variation getting down to 0.11. Using the $C=f(\text{RDD time})$ kinematics yielded a sensitivity β of
 702 $(6.01 \pm 0.67) \times 10^{-4} (\text{°C.day})^{-1}$.



703

704 **Figure 8 : Analysis of curvature variation (logarithm) versus time for the decurvature phase.**

705 a: Curvature as a function of time (day); b: Curvature as a function of thermal time (°C); c: Curvature
 706 as a function of radial time (cm-1); d: Curvature as a function of RDD time (°C.d.cm-1). CV =
 707 Coefficient of variation of beta. Each individual is represented by a different color. The coefficients of
 708 variation correspond to the variation of the slopes of each curve. Table II represents the proprioceptive
 709 sensitivity as a function of the different times. n=7.

710

711 - Straightening phase

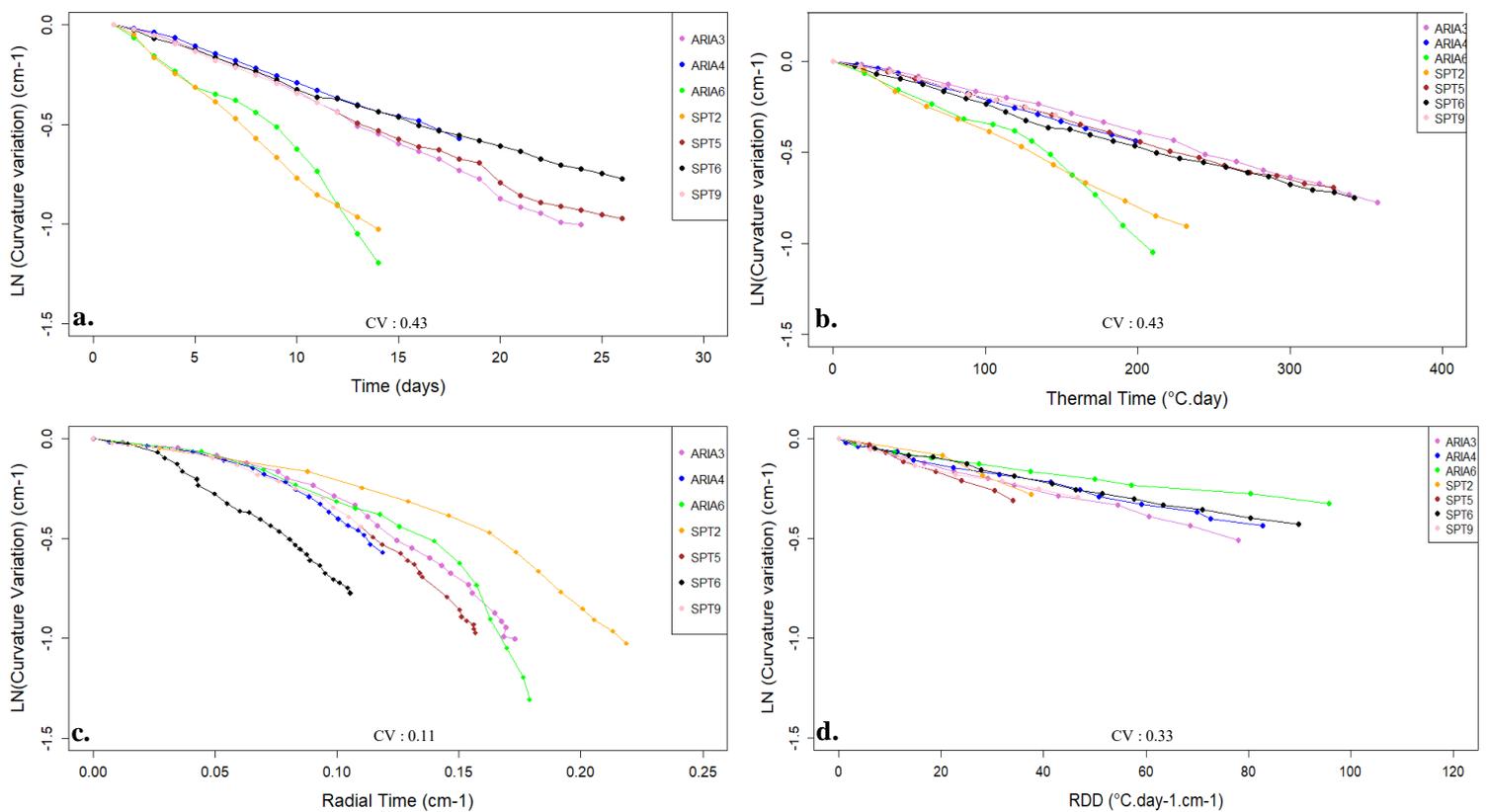
712

713 Figure 9 describes the kinematics of (log-transformed) curvature changes during the
 714 straightening phase. During this phase the proprioceptive sensitivity γ can then be evaluated by
 715 fitting a linear regression on log-transformed mean curvatures $\text{LN}(C(t))$ versus time (see
 716 Material and Methods; Table II) on each individual (S11 in Supplemental Data).

Table II. Quantification of the proprioceptive sensitivity according to the different times

γ	Time (day ⁻¹)	Thermal Time (°C.day) ⁻¹	Radial Time (cm)	RDD Time (°C.day) ⁻¹ .cm
Mean	9.95e ⁻²	2.37e ⁻⁴	-	6.02 e ⁻³
Standard Deviation	4.17e ⁻²	1.04e ⁻⁴	-	1.89e ⁻³
Coefficient of variation	0.43	0.43	-	0.31

717 As for the curving phase, different time transformations were used. The use of daytime (Fig
 718 9a.) or thermal time (Fig 9b.) produced significant variability between individuals (in terms of
 719 curvature variation, duration of the experiment). The use of radial time degraded the linearity
 720 (Fig 9c.). The transformation into RDD (Fig 9d.) improved the linearity and decreased the
 721 variability without resulting in a lower coefficient of variation of γ ($cv=0.31$). We thus retained
 722 RDD time to estimate the sensitivity $\gamma = (6.02 \pm 1.89) \times 10^{-3} \text{ (cm} \cdot \text{°C} \cdot \text{day)}^{-1}$. Altogether, using
 723 the novel RDD time, we could fit the kinematics of curvature changes in the two phases of the
 724 TtC experiment with the AC model. This provided good quantitative estimates of the gravi- and
 725 proprioceptive sensitivities in the woody part of the stem.



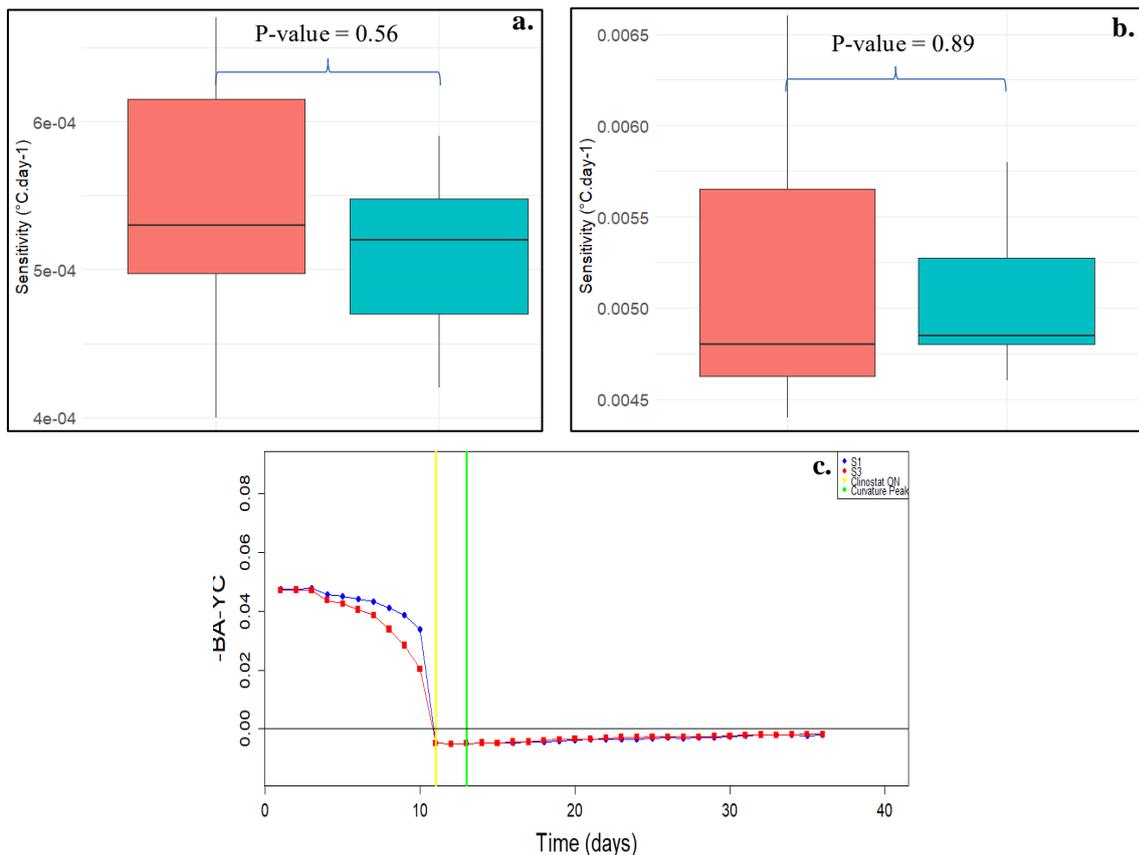
726 **Figure 9: Analysis of curvature variation versus time for the decurvature phase.** (a) Logarithm of
 727 curvature as a function of time (day). (b) Logarithm of curvature as a function of radial time (cm-1).
 728 (c) Logarithm of curvature as a function of thermal time (°C). (d) Logarithm of curvature as a function
 729 of RDD time (°C.d.cm-1). CV = Coefficient of variation of gamma. Each individual is represented by
 730 a different color. The coefficients of variation correspond to the variation of the slopes of each curve.

731 Table II represents the proprioceptive sensitivity as a function of the different times. $n=7$. Beta
 732 sensitivity for radial time is not calculated because the curves are not linear.

733
 734

735 **4/ Assessing the spatial homogeneity of the gravi- and proprioceptive**
 736 **sensitivities.**

737
 738 Using the AC model, it is possible to apply model-assisted phenotyping, to the kinematics of
 739 curvature changes (in the curving-up and straightening phases) for the S1 and S3 stem sections
 740 (Figure 8). Thereby it is possible to assess whether both the gravi- and proprioceptive
 741 sensitivities are homogeneous along the stem, as assumed in the AC model. The graviperceptive
 742 sensitivity β averaged $(5.4 \pm 9.9) \cdot 10^{-4} (\text{°C} \cdot \text{day})^{-1}$ for S1 and $(5.1 \pm 6.2) \cdot 10^{-4} (\text{°C} \cdot \text{day})^{-1}$ for S3,
 743 and proprioceptive sensitivity was $(5.1 \pm 8.7) \cdot 10^{-3} (\text{cm} \cdot \text{°C} \cdot \text{day})^{-1}$ for S1 and $5.3 (\pm 0.5) \cdot 10^{-3}$
 744 $(\text{cm} \cdot \text{°C} \cdot \text{day})^{-1}$ for S3 (Figure 10a. and b.). In both cases, no significant difference was found
 745 between the values for S1 and S3, nor between them and the mean value found for the whole
 746 stem (shown previously). Hence, gravi- and proprioceptive sensitivities are homogeneous and
 747 are intrinsic properties of the whole stem (at least in the zone encountering secondary growth).



748
 749 **Figure 10 : Estimation of graviperceptive (a) and proprioceptive (b) sensitivities for section 1**
 750 **and section 3. Section 1 is in blue and section 3 is in red. (c) Estimation of the level of stimuli**
 751 **perceived by the plant at section 1 and section 3 during the experiment.**

752

753 With these data, it is now possible to get an estimate of the level of stimulus perceived by each
754 section during the experiment (Figure 10c.) as predicted by the AC model. In this figure, we
755 can see that the two sections have a very similar stimulus level until the clinostat is activated.
756 At this point, the gravitropic stimulus can't be perceived. The only stimulus that can be
757 perceived within the stem is curvature, through the proprioceptive sensitivity. This
758 proprioceptive stimulus then decreases, becoming almost zero at the end of the experiment,
759 when the stem gets straight. .

760

761 **5/ Estimating the Balance number \mathcal{B}**

762

763 As explained in the introduction and Material and Method sections, the Balance number $\mathcal{B} =$
764 $\frac{\beta L}{\gamma}$, is the ratio between the graviperceptive sensitivity and the proprioceptive sensitivity, scaled
765 to the length L of the actively reacting part of the stem. \mathcal{B} is important because it defines the
766 final shape of the stem, but also the dynamics of the gravitropic movement. This number is
767 dimensionless so that comparison with results from previous studies is possible. In our
768 experiment (Table IV), the value of \mathcal{B} was 2.40 ± 0.66 (so that its coefficient of variation =
769 0.23).

770

771 **Discussion**

772

773 **Proprioception is a sensory process that drives active autotropic straightening movement**

774 Our results clearly demonstrate that poplar stem autotropism is not a spring-back physical
775 process due to elastic energy stored in the inner tissues (Moullia et al., 2009; Porat et al., 2020),
776 but an active bending powered through tension wood formation. It is driven by a continuous
777 proprioceptive sensing by the stem of its local curvature $C(s,t)$. As shown for the first time in
778 this study, autotropic straightening driven by proprioception occurs both when gravi-perceptive
779 sensing of stem inclination is suspended though clinostatic rotation and during normal gravi-
780 autotropic movement, when the local angle with respect to the vertical $A(s,t)$ is lowered and
781 proprioception takes over, as predicted by the AC model. This demonstrates that the control of
782 tension wood position by proprioception is not an artifact of clinostatic conditions, and that it
783 is active all the time in the stem. Altogether, this shows that proprioception is a major sensory
784 mechanism in plants. These data are consistent with results seen in Arabidopsis (Okamoto et
785 al., 2015; Ueda et al., 2015).

786 **Tension wood do not differentiate in the upper side of tilted angiosperm plants, as**
787 **textbooks say, but where it is specified by gravi- and proprioceptive control.**

788 Is a common statement that tension wood is differentiated on the upper side of tilted stem in
789 angiosperm (Dadswell and Wardrop, 1955 ; Hughes, 1965). This is due to the assumption that
790 what drives tension wood formation is the graviperceptive sensing of stem inclination. This
791 hypothesis is contradicted by our results. Tension wood location is concurrently driven by
792 graviperceptive and proprioceptive sensing. When graviperceptive sensing dominates, then
793 tension wood forms on the upper side of the stem, powering an active curving-up of the stem.
794 However, when the proprioception takes over, the location of tension wood is shifted toward
795 the convex side of the curved stem, powering a change in the sign of the curving so that
796 straightness can be achieved. These two controls are concurrent all along the stem and all the
797 time, but tension wood formation reflects which one is taking over. This clearly demonstrates
798 what Coutand et al. incidentally noticed in 2007, and it shows that the gravi-proprioceptive
799 driving over tension wood formation provides a fine tuning of tropic direction and posture
800 control in plants. The reason why the common belief of reaction wood formation in the upper
801 part of tilted angiosperm stems is persistent is that in most studies, the observations usually
802 concentrate at the stem basal part, and do not wait long enough for the balance to be achieved.
803 However, our findings explain reports of tension wood location in lateral branches (Fisher et
804 al., 1985; Fisher et al., 1981; see also Moulia et al., 2022 for a more complete discussion of
805 tropic control in lateral branches).

806

807 **Proprioception drives G-layer formation and thickness but does not change G-layer**
808 **MicroFibril Angles**

809 The G-layer differentiated under proprioceptive drive were thicker. This difference in thickness
810 could be due to a difference in the stiffness of the stem between the start of the experiment and
811 the moment when the clinostat was activated. Given that the G-layers generate the tensile
812 stresses within the tension wood, the hypothesis is that a movement back to straightness requires
813 more effort and therefore more stress than an upward bending movement (taking the gain in
814 stem diameter and the gain in stiffness due to the production of tension wood on the upper face
815 into account). Indeed Fang et al., 2008 reported that TW with thicker G layer influence the
816 magnitude of maturation stresses. Maturation stresses are also influenced by MicroFibril Angle
817 (MFA). However, we did not find that MicroFibril Angle can be changed under proprioceptive
818 drive, as suggested by Coutand et al. in 2007. The MFA values found for tension wood in our
819 study are in the same order of magnitude as previous studies in poplar (Roignant et al., 2018;

820 Lautner et al., 2012; Niez et al., 2020; Al-Haddad et al., 2013) and tropical and forest species
 821 (Ruelle et al., 2006). However, this would require additional investigation in a larger range of
 822 tree sizes and stages.

823 **Our Tilt-then-Clinostat kinematical method is a versatile tool to study sensory control of**
 824 **tropisms and the formation of tension wood**

825 The combination of i) an isotropic lighting (Coutand et al., 2019) ii) a tunable clinostat in a
 826 growth cabinet with time-lapse quantitative tracking of the growth kinematics (Hartmann *et al.*,
 827 2022) provides a unique experimental set-up for long-term tropic studies. This is complemented
 828 by a pipeline of two quantitative analyses based on image analysis and model-assisted
 829 phenotyping:

- 830 1) The continuous monitoring of stem diameter, along with the quantitative anatomical
 831 analysis of the marks left by cambial activity in response to tropic/mechanical disturbances,
 832 further enhances this analytical set-up and enables a direct connection between the history
 833 of stimuli and the growth and development of wood.
- 834 2) The use of the *AC* gravi-proprioceptive model enables to estimate the gravi- and
 835 proprioceptive sensitivities, β , γ , and the Balance number \mathcal{B} as quantitative.

836
 837 The Balance number \mathcal{B} is the more reliable parameter to compare between experiments. Table
 838 4 compares our results with those in (Coutand *et al.*, 2019), which were obtained using the same
 839 poplar clone and the spherical growth cabinets. They are very similar showing that the
 840 experiment and *AC* model assisted phenotype of \mathcal{B} is very reproducible. Our coefficient of
 841 variation is much lower, but this is due mainly to the number of replicates. This value of \mathcal{B}
 842 provides an almost optimal tropic and posture control (the theoretical optimum is 2.8) owing to
 843 the trade-off between aligning to the set-point direction and the time it takes to converge to the
 844 steady state and the amount of curving and straightening that is required (Bastien et al., 2013 ;
 845 Moulia et al., 2019).

846 **Table III. Comparison of the number balance \mathcal{B} in poplar**

	Caulus et al., 2023	Coutand et al., 2019
848 Mean \mathcal{B}	2.40	2.69
849 Standard Deviation	0.66	0.41
95% confidence interval	0.7	3.7

851 We may speculate that as active bending using Tension Wood requires more energy than
 852 differential elongation growth, there might have been a selective pressure to avoid long

853 oscillating transients. However, we need more data on trees to find firm evidence to reach that
854 conclusion.

855 Given the reproducibility of \mathcal{B} , we can thus also compare the estimates of the gravi- and
856 proprioceptive sensitivities, β , γ between (Coutand et al., 2019) and this study. It should be
857 reminded that in (Coutand et al., 2019) the procedure relies on the fitting of the *AC* model on
858 the kinematics of the gravitropic reaction. Because there are no data of temperature and radial
859 growth in (Coutand et al., 2019), we can only compare the estimates with physical time, which
860 are more noisy. (Coutand et al., 2019) only produced two replicates for β and γ estimates, and
861 they differ one from the other by more than order of magnitude (a factor of 20). And on average,
862 they differ by another order of magnitude to our estimates for β , and by 3 orders of magnitude
863 to our estimate of γ . As our coefficient of variation are much better, we think that our estimates
864 are much more reliable. This is particularly the case for γ . Indeed, the clinostatic rotation allows
865 to disentangle the gravi-and proprioceptive control and improves the statistical power (degree
866 of freedom) to estimate γ . Altogether, we were thus able to produce the first reliable estimates
867 of gravi-and proprioceptive sensitivities in a (young) tree.

868

869 **Our results are consistent with the *AC* gravi-proprioceptive model of stem posture**
870 **control, but show that it need to be improved to account for environmental effect and**
871 **time-dependency**

872 Our results are in good qualitative agreement with the predictions of the *AC* model. Yet, a more
873 detailed quantitative inspection provides several lines of evidence proving that this model may
874 need to be improved. The first element is the delay between the onset of the clinostat and the
875 peak of curvature (Figure 6c). This is not predicted by the *AC* model, which predicts an
876 instantaneous shift from curving (positive dC/dt) to straightening (negative dC/dt) (Figure 10c).
877 This delay can have two different hypothetical causes. The first one comes from a non-
878 instantaneous effect of the gravitropic drive, that could be for example linked to typical times
879 needed for PIN redistribution within the statocytes and for the onset of a transverse auxin
880 gradient (Levernier et al., 2021). This has been observed and modelled by Chauvet et al., 2019
881 and Meroz et al., 2019, and investigated recently into much more depth by Rivière et al., 2023.
882 The typical delay that they found was on the range of a couple of hours, whereas the delay
883 found in this study is of a few days. However, these estimates were obtained in wheat coleoptile,
884 which diameter is 0.7 mm, whereas our stems have a typical diameter of 7 mm, that is 10 times
885 higher. However, the limiting time is unlikely to be the time for building of the auxin gradient

886 τ_{aux} . Indeed, this time can be roughly estimated from the speed of auxin pulses in plant tissues
887 ($v \approx 3 \mu\text{m/s}$, Goldsmith, 1977; Rashotte et al., 2003). And this yields $\tau_{\text{aux}} \approx 30 \text{ s}$ (for a diameter
888 of $\sim 1 \text{ mm}$) in the case of wheat coleoptile and $\tau_{\text{aux}} \approx 300 \text{ s} = 5 \text{ min}$ for a diameter of 10 mm
889 like the one of our largest poplar stems. Levernier et al. (2021) showed that the slowest timing
890 was linked to the dynamics of PIN re-localization in the statocyte τ_{PIN} , which they estimated
891 around 15 min, and is likely not to depend on the diameter of the stem. Altogether the delay
892 due to the onset of the auxin gradient is unlikely to be a causative explanation, here. The other
893 cause for a delay may come from tension wood formation and actuation. Indeed, the shift to G
894 fiber development in Tension Wood cannot be immediate, and its biomechanical action may
895 display a visco-elastic rheology (and hence delayed) component (Pol et al., 2013 ; Dlouha et
896 al., 2009). Typical viscoelastic times were of the order of 38 hours, whereas the typical time for
897 the establishment of a new cell differentiated by the cambium is around 1 day in conifers (Cuny
898 et al., 2012; Skene et al., 1969). Another line for the necessity of taking the biomechanics of
899 tension wood formation and actuation comes from our study of the kinematics. We proposed a
900 novel physiological time, the Radial Degree Days, which includes the effect of radial growth
901 and of temperature on the velocity of the active bending. This can be very useful for the
902 comparison between experiments. Yet, the mechanisms behind the RDD time are the
903 biomechanics of bending through secondary growth and G-layered Tension Wood formation.

904

905 Altogether, our findings show that coupling AC driving model with a biomechanical model of
906 the motor process and active bending through Tension Wood development and actuation (see
907 Alméras et al., 2018; Moulia et al., 2009) would be very insightful and more prone to be generic
908 across species. Our clear demonstration that proprioception is an important sensory process
909 driving Tension Wood formation and location paves the way for such a new step.

910

911 **Almeras T, Fournier M. 2009.** Biomechanical design and long-term stability of trees: Morphological
912 and wood traits involved in the balance between weight increase and the gravitropic reaction.
913 *Journal of theoretical Biology* **256**(3): 370-381.

914 **Almeras T, Jullien D, Gril J. 2018.** Modelling, Evaluation and Biomechanical Consequences of Growth
915 Stress Profiles Inside Tree Stems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*
916 *United States of America.* pp 21-48

917 **Al-Haddad JM, Kang KY, Mansfield SD, Telewski FW 2013.** Chemical responses to modified lignin
918 composition in tension wood of hybrid poplar (*Populus tremula* x *Populus alba*). *Tree*
919 *Physiology*, **33**(4), 365-373

920 **Azri W, Chambon C, Herbette S et al 2009.** Proteome analysis of apical and basal regions of poplar
921 stems under gravitropic stimulation. *Physiologia Plantarum* **136**: 193-208

- 922 **Bastien R, Bohr T, Moulia B, Douady S. 2013.** Unifying model of shoot gravitropism reveals
 923 proprioception as a central feature of posture control in plants. *Proceedings of the National*
 924 *Academy of Sciences of the United States of America* **110**(2): 755-760.
- 925 **Bastien R, Douady S, Moulia B. 2014.** A unifying modeling of plant shoot gravitropism with an explicit
 926 account of the effects of growth. *Frontiers in Plant Science* **5**.
- 927 **Bastien R, Douady S, Moulia B. 2015.** A Unified Model of Shoot Tropism in Plants: Photo-, Gravi- and
 928 Proprioception. *Plos Computational Biology* **11**(2).
- 929 **Berut A, Chauvet H, Legue V, Moulia B, Pouliquen O, Forterre Y. 2018.** Gravisensors in plant cells
 930 behave like an active granular liquid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*
 931 *United States of America* **115**(20): 5123-5128.
- 932 **Brown AH, Dahl AO, Chapman DK. 1976.** LIMITATION ON USE OF HORIZONTAL CLINOSTAT AS A
 933 GRAVITY COMPENSATOR. *Plant Physiology* **58**(2): 127-130.
- 934 **Chauvet H, Pouliquen O, Forterre Y, Legue V, Moulia B. 2016.** Inclination not force is sensed by plants
 935 during shoot gravitropism. *Scientific Reports* **6**.
- 936 **Chauvet H, Moulia B, Legué V, Forterre Y, Pouliquen O 2019.** Revealing the hierarchy of processes and
 937 time-scales that control the tropic responses of shoots to gravi-stimulations. *Journal of*
 938 *Experimental Botany*, **70**(6), 1955-1967
- 939 **Clair B, Ruelle J, Beauchêne J, Prévost MF, Fournier M 2006.** tension wood and opposite wood in 21
 940 tropical rain forest species. *Iawa Journal* **27**(3), 329-338
- 941 **Coutand C, Adam B, Ploquin S, Moulia B. 2019.** A method for the quantification of phototropic and
 942 gravitropic sensitivities of plants combining an original experimental device with model-
 943 assisted phenotyping: Exploratory test of the method on three hardwood tree species. *Plos*
 944 *One* **14**(1).
- 945 **Coutand C, Fournier M, Moulia B. 2007.** The gravitropic response of poplar trunks: Key roles of
 946 prestressed wood regulation and the relative kinetics of cambial growth versus wood
 947 maturation. *Plant Physiology* **144**(2): 1166-1180.
- 948 **Cuny H.E., Rathgeber C.B, Lebourgeois F, Fortin M, Fournier M. 2012.** Life strategies in intra-annual
 949 dynamics of wood formation: example of three conifer species in a temperate forest in north-
 950 east France. *Tree physiology*, **32**(5), 612-625.
- 951 **Dadswell HE, Wardrop AB 1955.** The Structure and Properties of Tension Wood. *Holzforschung*, vol.9,
 952 97-104.
- 953 **Dedolph RR, Dipert MH. 1971.** PHYSICAL BASIS OF GRAVITY STIMULUS NULLIFICATION BY CLINOSTAT
 954 ROTATION. *Plant Physiology* **47**(6): 756-&.
- 955 **Dlouhá, J., Gril, J., Clair, B, Almeras T 2009.** Evidence and modelling of physical aging in green
 956 wood. *Rheol Acta* **48**, 333–342 (2009).
- 957 **Dumais J. 2013.** Beyond the sine law of plant gravitropism. *Proceedings of the National Academy of*
 958 *Sciences of the United States of America* **110**(2): 391-392.
- 959 **Fankhauser C, Christie JM. 2015.** Plant Phototropic Growth. *Current Biology* **25**(9): R384-R389.
- 960 **Fisher JB 1985.** Induction of Reaction Wood in *Terminalia* (Combretaceae) : Roles of Gravity and Stress.
 961 *Annals of Botany*. Volume 55 : 237-248.
- 962 **Fisher JB, Stevenson JW 1981.** Occurrence of Reaction Wood in Branches of Dicotyledons and Its Role
 963 in Tree Architecture. *Botanical Gazette*. 142 - 82-95.
- 964 **Goldsmith MHM 1977.** The Polar Transport of Auxin. *Annual Rev. Plant Physiol.* **28** : 439-478.
- 965 **Groover A. 2016.** Gravitropisms and reaction woods of forest trees - evolution, functions and
 966 mechanisms. *New Phytologist* **211**(3): 790-802.
- 967 **Haga K, Iino M. 2006.** Asymmetric distribution of auxin correlates with gravitropism and phototropism
 968 but not with autostraightening (autotropism) in pea epicotyls. *Journal of Experimental Botany*
 969 **57**(4): 837-847.
- 970 **Han HB, Rakusova H, Verstraeten I, Zhang YZ, Friml J. 2020.** SCFTIR1/AFB Auxin Signaling for Bending
 971 Termination during Shoot Gravitropism. *Plant Physiology* **183**(1): 37-40.
- 972 **Harmer SL, Brooks CJ. 2018.** Growth-mediated plant movements: hidden in plain sight. *Current*
 973 *Opinion in Plant Biology* **41**: 89-94.

- 974 **Hartmann FP, Chauvet-Thiry H, Franchel J, Ploquin S, Moulia B, Leblanc-Fournier N, Decourteix M**
 975 **2022.** Methods for a Quantitative Comparison of Gravitropism and Posture Control Over a
 976 Wide Range of Herbaceous and Woody Species. In: Blancaflor EB ed. *PLANT GRAVITROPISM:*
 977 *Methods and Protocols*, 117-131.
- 978 **Hejnowicz Z. 1997.** Gravitropisms in herbs and trees: A major role for the redistribution of tissue and
 979 growth stresses. *Planta* **203**: S136-S146.
- 980 **Hughes FE 1965.** Tension Wood : a review of literature. Part II. The properties and use characteristics
 981 of tension wood. *For Abstr.* 179-186.
- 982 **Kawamoto N, Morita MT. 2022.** Gravity sensing and responses in the coordination of the shoot
 983 gravitropic setpoint angle. *New Phytologist* **236**(5): 1637-1654.
- 984 **Lautner D, Zollfrank C, Fromm J 2012.** Microfibril angle distribution of poplar tension wood. *Iawa*
 985 *Journal*, 33(4), 431-439
- 986 **Levernier N, Pouliquen O, Forterre Y. 2021.** An Integrative Model of Plant Gravitropism Linking
 987 Statoliths Position and Auxin Transport. *Frontiers in Plant Science* **12**.
- 988 **Meroz Y. 2021.** Plant tropisms as a window on plant computational processes. *New Phytologist* **229**(4):
 989 1911-1916.
- 990 **Meroz Y, Bastien R, Mahadevan L 2019.** Spatio-temporal integration in plant tropisms. *Journal of the*
 991 *Royal Society Interface*, 16(154), 154.
- 992 **Moulia B, Badel E, Bastien R, Duchemin L, Eloy C. 2022.** The shaping of plant axes and crowns through
 993 tropisms and elasticity: an example of morphogenetic plasticity beyond the shoot apical
 994 meristem. *New Phytologist* **233**(6): 2354-2379.
- 995 **Moulia B, Bastien R, Chauvet-Thiry H, Leblanc-Fournier N. 2019.** Posture control in land plants:
 996 growth, position sensing, proprioception, balance, and elasticity. *Journal of Experimental*
 997 *Botany* **70**(14): 3467-3494.
- 998 **Moulia B, Douady S, Hamant O. 2021.** Fluctuations shape plants through proprioception. *Science on*
 999 *press*.
- 1000 **Moulia B, Fournier M. 2009.** The power and control of gravitropic movements in plants: a
 1001 biomechanical and systems biology view. *Journal of Experimental Botany* **60**(2): 461-486.
- 1002 **Moulton DE, Oliveri H, Goriely A. 2020.** Multiscale integration of environmental stimuli in plant
 1003 tropism produces complex behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*
 1004 *United States of America* **117**(51): 32226-32237.
- 1005 **Nakamura M, Nishimura T, Morita MT. 2019.** Bridging the gap between amyloplasts and directional
 1006 auxin transport in plant gravitropism. *Current Opinion in Plant Biology* **52**: 54-60.
- 1007 **Niez B, Dlouha J, Gril j, Ruelle J, Toussaint E, Moulia B, Badel E 2020.** Mechanical properties of "flexure
 1008 wood" : Compressive stresses in living trees improve the mechanical resilience of wood and its
 1009 resilience to damage. *Annals of Forest Science*, 77(1), 1-13
- 1010 **Okamoto K, Ueda H, Shimada T, Tamura K, Kato T, Tasaka M, Morita MT, Hara-Nishimura I. 2015.**
 1011 Regulation of organ straightening and plant posture by an actin-myosin XI cytoskeleton.
 1012 *Nature Plants* **1**(4).
- 1013 **Pol, H.V, Thete S.S, Doshi P, Lele, A.K 2013.** Necking in extrusion film casting: The role of
 1014 macromolecular architecture. *Journal of Rheology*, 57(2), 559-583.
- 1015 **Porat A, Tedone F, Palladino M, Marcati P, Meroz Y. 2020.** A General 3D Model for Growth Dynamics
 1016 of Sensory-Growth Systems: From Plants to Robotics. *Frontiers in Robotics and Ai* **7**.
- 1017 **Rashotte A, Poupart J, Waddell C, Muday G. 2003.** Transport of the Two Natural Auxin, Indole-3-
 1018 Butyric Acid and Indole-3-Acetic Acid in Arabidopsis. *Plant Physiology*. 133 : 761-772
- 1019 **Rivière M & Meroz Y 2023.** Plants sum and substrat stimuli over different timescales. *Proceedings of*
 1020 *the National Academy of Science*. 20, e230665120
- 1021 **Roignant J, Badel E, Leblanc-Fournier N, Brunel-Michac N, Ruelle J, Moulia B, Decourteix M 2018.**
 1022 Feeling stretched or compressed ? The multiple mechanosensitive responses of wood
 1023 formation to bending. *Annals of Botany* 121(6), 1151-1161.
- 1024 **Ruelle J, Clair B, Beauchêne J, Prévost MF, Fournier M 2006.** Tension wood and opposite wood in 21
 1025 tropical rain forest species. *Iawa Journal* 27(4), 341-376.

- 1026 **Skene D.S 1969.** The period of time taken by cambial derivatives to grow and differentiate into
1027 tracheids in *Pinus radiata*: D. Don. *Annals of Botany*, 33(2), 253-262.
- 1028 **Stankovic B, Volkmann D, Sack FD. 1998.** Autonomic straightening after gravitropic curvature of cress
1029 roots. *Plant Physiology* 117(3): 893-900.
- 1030 **Tarui Y, Iino M. 1997.** Gravitropism of oat and wheat coleoptiles: Dependence on the stimulation angle
1031 and involvement of autotropic straightening. *Plant and Cell Physiology* 38(12): 1346-1353.
- 1032 **Ueda H, Tamura K, Hara-Nishimura I 2015.** Functions of plant-specific myosin XI: from intracellular
1033 motility to plant postures. *Curr Opin Plant Biol.* 28:30-8.

Chapitre 3 :
Mécanismes sous-jacents au
redressement gravi- et
autotropique du blé

Le blé se trouve au deuxième rang de la production mondiale de céréales derrière le maïs (rapport FAO, 2023). Cette graminée représente donc une part importante de l'alimentation humaine lui conférant une importance économique et sociétale majeure (marché mondial estimé à 43 milliards d'euros). Par la présence dans son environnement de nombreuses perturbations, le blé peut subir des altérations de sa posture et de son architecture. Ce phénomène est appelé « verse » chez les graminées. Globalement, la verse engendre actuellement des pertes économiques importantes au niveau des cultures céréalières (environ 80 millions de dollars de perte chaque année au Royaume-Uni selon Berry, 1998). Ces pertes sont essentiellement causées par une baisse du rendement du grain pouvant atteindre 60 à 80% chez le blé (Easson et al., 1993), 30 à 65% chez l'orge (Jedel and Helm, 1991). Le changement climatique pourrait aggraver ces pertes de rendement à la fois notamment par l'augmentation du risque d'orages en période inhabituelle et durant la période de végétation des céréales (au printemps essentiellement). Ces événements seraient donc plus précoces et plus forts induisant des verses potentiellement plus importantes et fréquentes (Chapitre 11 du 6ème rapport du GIEC ; Seneviratne et al., 2021).

Mécanismes de verse chez les graminées

La verse est définie comme un état de déplacement permanent de la tige, par rapport à la verticale, provoquée en général par le vent avec une contribution possible de la pluie (on parle parfois aussi de verse liée à la grêle). On distingue habituellement deux types de verses : verse caulinaire ou verse racinaire (Berry et al., 2003 ; 2004). La verse caulinaire est liée à une rupture mécanique dans la tige ; alors que dans la verse racinaire c'est l'ancrage racinaire qui cède, entraînant un basculement de l'ensemble de la plante (ces termes sont équivalents aux appellations de volis et de chablis employées au sujet des arbres). Les deux phénomènes peuvent coexister, mais la présence de fortes pluies induisent un sol très humide réduisant alors l'ancrage racinaire et favorisant la verse racinaire. La verse étant une pression de sélection naturelle sur toutes les plantes terrestres, les graminées ont développé deux stratégies : la résistance et la résilience.

Resistance et résilience à la verse

La résistance est la capacité d'un organisme à maintenir son fonctionnement normal en présence d'un stress, et la résilience celle de se rétablir après avoir subi une perturbation, malgré l'endommagement subi (Holling, 1973, Walker et al., 2004).

La communauté scientifique a étudié en priorité l'aspect résistance à la verse caulinaire, qui se mesure par la vitesse de vent nécessaire pour conduire à la verse (Gardiner et al., 2016). Ceci a été obtenu par la modification de la hauteur des céréales, réduisant le bras de levier sur lequel agit la force de traînée au vent, la modification de la résistance mécanique de la tige (épaisseur de la paroi, accumulation de la lignine et de la cellulose), le poids des épis et des plateaux de tallage plus profond pour un meilleur ancrage (Shah et al., 2019). Lors d'une verse, la talle de blé se retrouve plus ou moins inclinée, subissant de fait une gravistimulation. La stratégie de résilience va alors permettre à la talle de blé de se redresser à la verticale par l'action d'une croissance différentielle, lui permettant de retrouver une posture érigée.

Résilience à la verse, gravitropisme et contrôle postural

La restauration de la posture est rendue possible par la présence de tropismes permettant une réorientation de la croissance. Les mécanismes impliqués et leur coordination ont été très étudiés au stade plantule (hypocotyle d'*Arabidopsis* et coléoptiles d'avoine par exemple). Sur des tiges plus développées les travaux ont porté essentiellement sur les dicotylédones herbacées (exemple : *Arabidopsis*) et ligneuses (exemple : Peuplier). Ils ont permis de distinguer deux zones actives dans les mouvements tropiques et le contrôle postural : 1) la zone subapicale en croissance primaire et 2) la zone ayant terminée sa croissance primaire, mais où la différenciation d'un méristème secondaire, le cambium, permet la croissance en diamètre et la différenciation de nouveaux tissus (avec le bois et le liber) (Mouliat & Fournier, 2009).

Dans la zone en croissance primaire, la variation de courbure active de la tige est assurée par une élévation différentielle entre les deux faces (Haga and Iino, 2006). Dans la zone en croissance secondaire, cette variation de courbure active est permise par la formation d'un bois spécialisé nommé bois de tension chez les ligneux engendrant des retraits de maturation et des tensions différentes entre les deux faces (Coutand et al., 2007 ; Gerttula et al., 2015).

Ces deux mécanismes (élévation primaire différentielle et retraits différentiels liés au bois de tension) expliquent le moteur de la variation de courbure. Mais n'explique pas comment ces mécanismes sont contrôlés lors de la réaction tropique, permettant un contrôle de l'orientation et de la posture (Mouliat et al., 2019).

Historiquement, le contrôle postural était expliqué seulement par le gravitropisme et le phototropisme. La perception de ces tropismes (graviperception de l'angle par rapport à la direction de la verticale et photoperception de l'angle par rapport à la direction principale de la lumière) est réalisée par des systèmes percepteurs différents.

Mais en 2013, Bastien et al. montrent que ces deux tropismes ne sont pas suffisants pour assurer le contrôle postural et qu'un troisième tropisme, l'autotropisme, est essentiel pour réaliser ce contrôle. Il permet de contrebalancer les effets du gravitropisme et du phototropisme permettant alors d'atteindre un état stationnaire. On parle alors de dynamique de redressement (Bastien et al., 2013). Par ailleurs, ils ont démontré que l'autotropisme implique une proprioception, c'est-à-dire la perception de sa propre forme, plus précisément de sa courbure, par la plante (Moullia et al., 2021).

Le pulvinus des Poacées

La particularité évolutive des graminées (Poacées) est d'avoir perdu la capacité de croissance secondaire. On pourrait donc penser que cela a limité leur capacité de contrôle postural et donc de la résilience à la verse à la seule zone d'élongation primaire (comme observée lors de leur germination dans leur coléoptile, Haga and Iino, 2006 ; Bastien et al 2013). Mais ce n'est pas le cas. Les tiges inflorescentielles de graminées (talles) présentent une structure particulière au niveau de chaque nœud, appelée pulvinus (Brown et al., 1959). Cette structure est un renflement de la gaine (Brown et al., 1959 ; Collings et al., 1998). Elle constitue ainsi une structure enveloppante autour de la tige. Lors d'une stimulation tropique, cette structure montre une croissance différentielle entre la face supérieure et inférieure induisant sa variation active de courbure.

Sur le plan anatomique, le pulvinus est composée d'une gaine parenchymateuse, et de nombreux amas de fibres collenchymateuses. Sa structure anatomique est toutefois variable entre les panicacées (panics , maïs, sorgho, sétaire) et les festucoïdes (fétuques, avoine, blé). Les amas de fibres collenchymateuses sont disposés en un seul anneau chez le blé ou en plusieurs anneaux chez le Panic effilé ou le maïs (Collings et al., 1998 ; Long et al., 2002). En réponse à un stimulus tropique, un allongement différentiel a été démontré au niveau des fibres des amas collenchymateux et des cellules de la gaine parenchymateuse (Collings et al., 1998). Des amyloplastés sont présents au sein du pulvinus (autour des vaisseaux cribro-vasculaires, proche des amas collenchymateux), et il a été démontré qu'ils agissaient comme des détecteurs de l'orientation par rapport à la gravité (statocytes). Au sein de la tige de graminées, le pulvinus pourrait être le seul organe aérien capable de détecter une inclinaison (Dayanandan et al., 1977). Quelques acteurs des voies de transduction et signalisation ont été décrits au niveau d'un pulvinus stimulé comme la modification du pH cytoplasmique chez le maïs (Johannes et al., 2001 ; Clore et al., 2013), l'augmentation des niveaux d'InsP3 et des ROS chez le maïs (Clore et al., 2013), de certaines protéines kinases comme les MAPK chez le maïs, blé et avoine (Clore

et al., 2013) et l'implication potentielle d'une réorientation du cytosquelette au niveau de pulvini stimulés de maïs (Collings et al., 1998). Par ailleurs, les hormones pourraient jouer un rôle dans la mise en place de l'élongation différentielle. Des premières études ont montré, au niveau d'un pulvinus gravistimulé, la présence d'un gradient d'auxine entre la face supérieure et inférieure chez l'avoine et le maïs (Dayanandan et al., 1976 ; Clore et al., 2013), mais aussi des gibbérellines chez le riz et l'avoine (Cui et al., 2015 ; Pharis et 1981 ; Ross and Wolbang, 2008). Ces gradients, pourraient impacter et stimuler l'élongation différentielle entre les deux faces du pulvinus.

En ce qui concerne le blé, les données scientifiques actuellement disponibles sont limitées (les travaux sur les pulvini ont surtout été mené sur le maïs et le l'avoine).

Dynamique de redressement de la tige inflorescentielle des Poacées

La communauté scientifique a quelque peu décrit le mouvement global de la talle, notamment chez l'avoine (Dayanandan et al., 1977), chez le riz (Azuma et al., 2011), et le maïs (Collings et al., 1998). Le redressement des graminées est composé de deux phases. Durant les premières heures suivant l'inclinaison, les talles de graminées montrent un redressement important (avec une vitesse rapide, allant de 1 à 3° par heure). En moyenne, cette phase dure entre 24h et 30h. Par la suite, le redressement de la talle ralentit voire stagne jusqu'à la fin de l'expérimentation, avec une vitesse beaucoup plus lente, chutant à moins d'1° par heure. Cette seconde phase aboutit à l'arrêt du mouvement de la talle. Il a par ailleurs été démontré que l'activité de redressement des pulvini est limitée au cours du développement. Les tiges sont très actives autour de l'épiaison, et perdent cette capacité lorsque la tige mature.

Trois hypothèses peuvent être émises pour expliquer ces deux phénomènes.

Une première hypothèse pour expliquer le ralentissement au bout d'une trentaine d'heure est l'approche de la verticale de la talle incliné, réduisant le stimulus gravitropique (Bastien et al., 2013). Cette hypothèse prédit de plus que les pulvini les plus apicaux, qui voient leur angle par rapport à la verticale diminuer plus rapidement et devraient donc ralentir les premiers. Une deuxième hypothèse fait intervenir le ratio des sensibilités gravi- et proprioceptives. En effet si la plante répond trop à la proprioception, cela réprime sa courbure active et elle peut se stabiliser dans une configuration assez inclinée ; ceci a été observé chez le coléoptile de blé (Bastien et al 2013, Moulia et al 2022). Une troisième hypothèse pour expliquer la moindre réponse des pulvini au cours du temps émise précise que la lignification des fibres collenchymateuses du pulvinus pourrait bloquer l'allongement de ces fibres et *in fine* la courbure du pulvinus chez

l'avoine (Chang et al., 2001). Ces hypothèses ne sont pas toutes exclusives. L'effet d'évolution du stimulus gravitropique pourrait expliquer le ralentissement du mouvement aux stades où la tige est capable de réaction efficace. Et la lignification pourrait expliquer l'évolution développementale de cette capacité. Par ailleurs, d'autres mécanismes pourraient aussi expliquer cette perte de capacité : disparition des amyloplastes et de la capacité de détection de l'inclinaison à la gravité, perte de capacité au transport bilatéral d'auxine. Enfin il est probable qu'une variabilité génétique existe, même au sein du blé, mais aucun résultat sur ce point n'a été publié.

Au total les données disponibles sont parcellaires tant au niveau de l'activité de courbure de chaque pulvinus et de la cinématique globale (en lien avec le nombre de pulvinus, de leur position, en lien avec le stade de développement). Elles n'explicitent pas non plus assez les mécanismes pouvant impacter négativement ou positivement ce redressement. Enfin, la capacité proprioceptive des graminées n'a pas encore été démontrée.

Les objectifs de nos expérimentations étaient donc i) d'analyser la cinématique de redressement et de la variation de courbure de chaque pulvinus en fonction de leur position sur la talle et de leur stade de développement, ii) d'étudier les mécanismes pouvant impacter ce redressement et iii) de démontrer la capacité proprioceptive du blé.

Pour remplir nos objectifs, deux génotypes de blé différents ont été utilisés. Ces génotypes ont été sélectionnés à l'aide d'une étude préliminaire menée en collaboration entre notre laboratoire et le laboratoire GDEC (INRAE Clermont-Ferrand), et montrant que ces deux génotypes avaient un comportement contrasté lors d'un redressement en plein champ (Figure 36). Dans cette expérience, les talles du premier génotype (D) se redressaient grâce à l'action conjointe des 3 pulvini, mais cette action était hétérogène d'un pulvinus à l'autre. Dans le cas du deuxième génotype (EM), tous les pulvini ne semblent pas participer au redressement. Cette étude préliminaire montre une activité du pulvinus médian et apical seulement. Le pulvinus basal ne semble pas avoir cette capacité. L'utilisation de ces deux génotypes doit nous apporter des connaissances à la fois sur le comportement précis des 3 pulvini différents (en fonction de leur position sur la talle et du stade de développement) en condition tropique normal et en condition autotropique stricte mais aussi sur les mécanismes sous-jacents importants impactant les mouvements de rectification de la talle de blé.

Diverses approches ont été utilisées dans nos expérimentations afin d'atteindre nos objectifs. La cinématique de redressement de la talle et de l'activité de courbure de chaque pulvinus (chez

nos deux génotypes et à plusieurs stades de développement) a été réalisée par prise de photos et par un suivi du mouvement de la tige.

L'objectif ici est de décrire de manière précise la cinématique de mouvement de la talle de blé et de l'évolution de la variation de courbure de chaque pulvinus au cours du temps. Cette première étape doit nous donner des informations concernant les temps importants de la phase de redressement à la verticale pouvant nous guider dans nos futurs choix concernant l'étude des mécanismes sous-jacents et des timings de prélèvement. L'approfondissement des connaissances scientifiques impactant le redressement de la talle de blé passe par l'analyse de l'auxine au sein de pulvinus stimulé en étudiant la présence d'un possible gradient entre les deux faces. Enfin nous avons choisi d'évaluer l'hypothèse et le rôle de la lignification au sein des pulvini par une approche anatomique et cytologique: Bloqueur de l'élongation ? Ou simple maturation sans impact ?

Enfin, un aspect majeur est de démontrer la capacité proprioceptive des pulvini de blé. Des premiers éléments ont été apportés au niveau des coléoptiles (notamment au niveau des mouvements automorphiques des zones les plus apicales à la suite d'un redressement), en particulier chez le blé et l'avoine (Bastien et al., 2013 ; Tarui and Iino, 1997), mais ces observations ne concernent pas encore les stades de développement plus tardif mobilisant les pulvini. L'utilisation des sphères isotropes et agravitropes pour suspendre le phototropisme et le gravitropisme constitue un excellent dispositif pour démontrer la présence de cette capacité chez le blé.

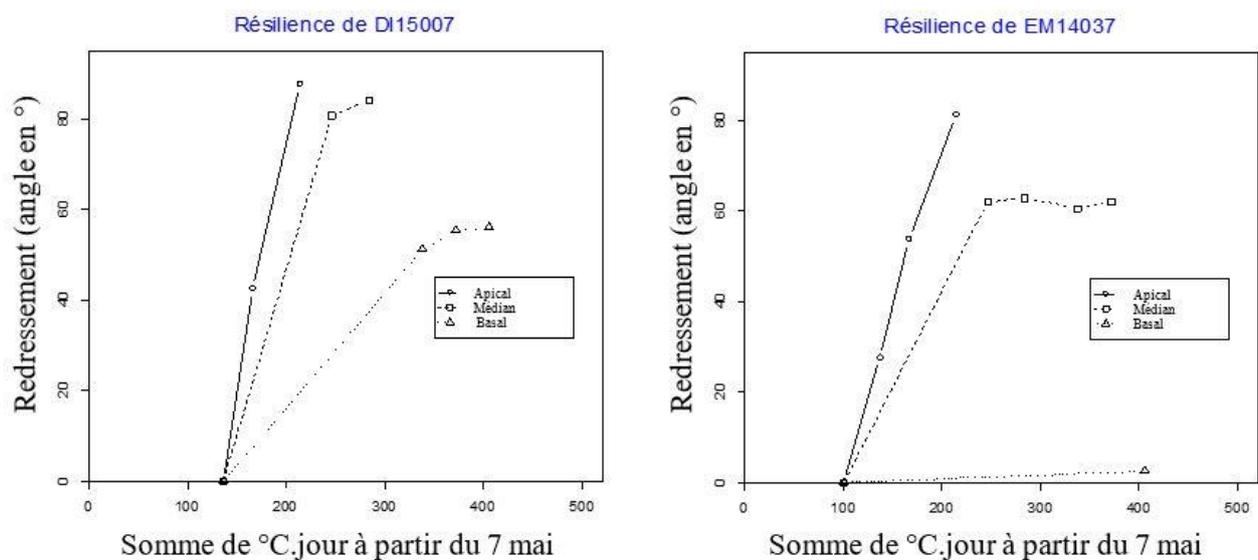


Figure 36 : Redressement des pulvini en degrés en fonction du temps thermique. Étude préliminaire du GDEC portant sur le redressement des talles de blé en plein champ. Les génotypes D et EM montrent des activités de certains pulvini différentes (essentiellement médian et basal).

I/ Matériel et Méthodes

1) Matériel végétal et conditions de culture

Les expérimentations sur le blé se sont concentrées sur deux génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum*) différents. Le premier est le génotype DI15007 (noté D) et le second est le génotype EM14037 (noté EM).

Les graines des deux génotypes ont été mises à germer dans du terreau de semis contenant de l'engrais azoté dans des godets de 0.25 litres au sein d'une chambre de culture, avec une intensité lumineuse d'environ $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, un cycle jour/nuit de 16h/8h et une température oscillante entre 19 et 21°C.

Les jeunes plantules ont ensuite été vernalisées 8 semaines en chambre froide à 4°C, avec un cycle jour/nuit de 16h/8h et une irrigation manuelle régulière. Cette étape est nécessaire au passage du stade végétatif au stade reproductif. Après cette phase de vernalisation, les plants de blés ont été soit repotés dans des pots de 4 litres contenant du terreau de fleurissement et de l'engrais azoté pour les expérimentations en serre (30 plants par génotype), soit, pour l'étude de la proprioception, dans des pots spécialement conçus contenant du terreau de fleurissement pour les expérimentations en sphère (5 plants par génotype). Chaque pot comportait un individu capable de produire en moyenne 10 à 15 talles au cours de l'expérimentation.

L'expérimentation en serre s'est déroulée entre mars et avril 2022, avec une température moyenne de 20.64 °C ($\pm 2.34^\circ\text{C}$). L'expérimentation a eu des conditions d'ensoleillement naturelles au niveau de la serre (Station météo Clermont-Aulnat la plus proche : 164h50 d'ensoleillement en mars et 190h56 en avril), mais aussi de lumière artificielle permettant la mise en place d'un cycle « jour/nuit » de 16h/8h par l'utilisation de plusieurs lampes au plafond (intensité proche de 200W/M²). Les 60 plants de blé ont été cultivés en serre jusqu'au stade demi-épiaison (environ 3 semaines plus tard que le repotage en pot de 4 litres). Pendant toute cette période, les blés ont été irrigués au goutte à goutte au moyen d'un système d'irrigation automatique.

La capacité proprioceptive du blé a été étudiée à l'automne 2022 au moyen des sphères isotropes et agravitropes. L'utilisation de ce dispositif, comme pour le peuplier, permet de pouvoir imposer une condition autotropique stricte durant l'expérimentation. Ces sphères nous permettent à la fois de suspendre le phototropisme par une lumière isotrope et de suspendre le

gravitropisme par l'utilisation d'un clinostat mettant les amyloplastes en suspension et suspendant ainsi toute perception de l'inclinaison par rapport au vecteur de gravité.

Au cours des expériences en sphères, les blés ont eu une température moyenne de 23.09 °C (\pm 4.14 °C) avec un PAR d'environ 98 (\pm 1) $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ au sein des sphères, avec une irrigation automatique et un cycle jour/nuit de 16h/8h.

Il est important de noter, qu'en raison d'un mauvais réglage du cycle jour/nuit (erreur involontaire), les blés du génotype D n'ont pas subi de période de nuit durant les expérimentations alors que le génotype EM a été cultivé avec un cycle jour/nuit de 16h/8h.

Notre dispositif expérimental comporte 3 sphères dont 2 seulement sont équipées d'un clinostat permettant d'établir une condition autotropique stricte. De plus, nous ne pouvions tester qu'un seul plant dans une même sphère à la fois. Ces deux contraintes nous ont obligés à établir une production de plants échelonnée dans le temps, en 3 phases de production, pour optimiser l'utilisation des sphères. Cette étude a été réalisée sur peu de répétitions biologiques par manque de temps, manque de matériel végétal et car les sphères ont été prioritairement affectées à l'analyse de la proprioception des jeunes tiges de peuplier.

Pour l'ensemble des expérimentations, les traitements et les prélèvements ont été définis à partir du stade dit de « demi-épiaison » (Figure 37). En effet, il s'agit d'un stade précoce du cycle de développement du blé où le redressement des tiges de Poacées est le plus fort par rapport à des stades plus tardifs (Collings et al., 1998 ; Brock and Kaufman, 1988).



Figure 37 : Stade demi-épiaison d'une talle de blé. Le stade de demi-épiaison de la talle est établi lorsque l'épi est sorti de moitié.

Les talles de blé ont été analysés à différents temps après le stade demi-épiaison (noté aussi stade J). Les stades J+7, J+10, J+14 et J+21 correspondent aux individus témoins qui ont été prélevés 7, 10, 14 ou 21 jours après le stade de demi-épiaison. Les stades J+7+1, J+7+3, J+14+1 et J+21+1 correspondent aux prélèvements des individus versés 7 jours après demi-épiaison puis récoltés 1 jour après verse ou 3 jours après. Pour le stade J+14+1 et J+21+1, les talles ont été versé 14 ou 21 jours après le stade demi-épiaison et ont été prélevés le lendemain.

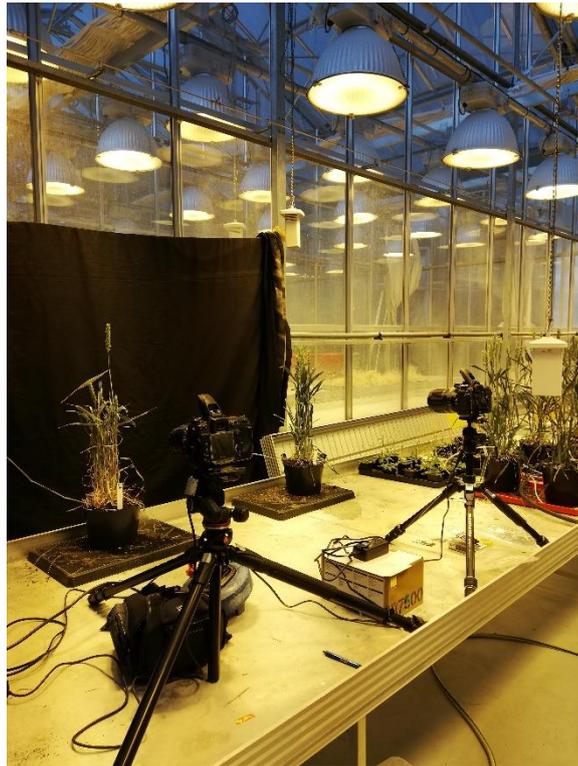


Figure 38 : Dispositif expérimental du blé en serre. Cette installation de suivi comprend un appareil photo sur son pied disposé à 1 mètre du pot de blé. La talle de blé est versée dans le même plan que son échelle disposée juste en-dessous et perpendiculairement à l'appareil photo

2) Méthodes d'analyses et protocoles

A. Étude de la cinématique de redressement

1. Dispositifs expérimentaux et prise de vue

- En serre

Pour l'analyse de la cinématique de redressement deux installations de suivi ont été installées en serre. Chaque installation comprend un appareil photo et son pied, un fond unicolore noir et une échelle adéquate pour les futures analyses (Figure 38). La cinématique de redressement en réponse à la verse a été suivie sur 9 talles par génotype, avec 3 talles pour chacun des 3 stades de développement analysés : J+7, J+14 et J+21. Au total, 18 cinématiques de redressement ont été analysées.

Pour chaque prise de vue, le plant de blé (dans son pot) a été disposé en face de l'installation (Figure 38). La talle a ensuite été inclinée manuellement en le poussant délicatement vers l'horizontale, tandis que le pot restait vertical. En moyenne, les talles de blé, tout génotype et stade de développement confondus, ont été inclinés à un angle d'inclinaison initial mesuré à la base de la talle de $88.09^\circ (\pm 8.45^\circ)$ par rapport à la verticale (mesure prise entre le plateau de tallage et le pulvinus basal). La base des talles a été maintenue en position horizontale pendant toute l'expérience en positionnant à la base un arceau-épingle enfoncé dans le terreau. Cet arceau-épingle doit être placé au plus près de la base de la talle, avant le pulvinus basal, pour éviter d'interférer avec sa participation au redressement. Pour réaliser une analyse précise, il faut que la talle inclinée soit perpendiculaire à l'axe de la prise de vue et qu'il soit également dans le même plan que l'échelle que nous utilisons. N'étant pas reliés au système d'irrigation automatique, les pots ont été arrosés manuellement, régulièrement. Un trait noir de 1cm de longueur, servant d'échelle, a été disposé au niveau de la table, juste en-dessous de la talle inclinée. Le redressement de la talle a ensuite été suivi par des prises de vue automatiques (Nikon D300) espacées de 30 minutes (y compris la nuit avec activation du flash). Pour chaque talle, le suivi de la cinématique du redressement a duré entre 2 à 3 jours (soit la durée jusqu'à l'arrêt des mouvements de redressement).

- En sphère

La capacité proprioceptive du blé a été analysée au moyen des sphères isotropes et agravitropes, comme pour le peuplier. Les plants de blé utilisés comportaient plusieurs talles dont certains uniquement étaient au stade demi-épiaison. Le dispositif utilisé ne permet d'analyser les mouvements que d'un seul de ces talles. Préalablement à l'installation du pot de blé dans la sphère, l'ensemble des talles non utilisés du pot ont donc été supprimés (Figure 39). Les pots ont été installés dans les sphères en les insérant dans le porte-pot horizontal du clinostat. Les talles ployant sous leur propre poids, ont été inclinés en moyenne avec un angle d'inclinaison initiale à la base de $102.83^\circ (\pm 4.05^\circ)$ par rapport à la verticale (mesure prise entre le plateau de tallage et le pulvinus basal). Les plants ont été arrosés par irrigation automatique tout au long de l'expérimentation.

L'étude de la capacité proprioceptive comporte 2 phases. La première est une phase de courbure vers le haut de la talle de blé. Cette phase est gravi-auto-tropique, et a une durée de 2 jours. Cette durée a été choisie sur la base des données obtenues en serre. Ensuite, la phase autotropique stricte a été déclenchée par l'activation de la clinorotation (2 tours par minute). Cette seconde phase a duré en moyenne 5 jours. Cette durée était suffisamment longue pour visualiser le mouvement de decourbure et pour arriver à l'état stationnaire du talle de blé. Durant ces deux phases, les photos ont été prises toutes les 30 minutes y compris la nuit *via* l'utilisation d'un flash.

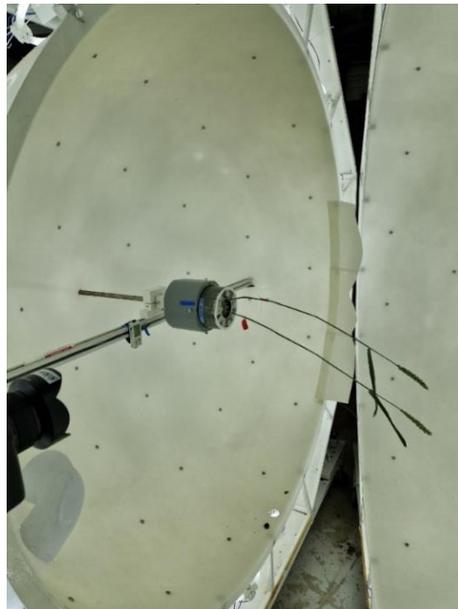


Figure 39 : Étude de la capacité proprioceptive du blé en sphère. La suppression des autres talles du pot est nécessaire pour obtenir une bonne analyse cinématique des mouvements du talle au moyen du logiciel Interekt. Cette photo montre également la flexion sous son propre poids du talle de blé.

2. Traitement d'images et phénotypage assisté par modèle au moyen du logiciel Interekt

Comme pour le peuplier, les séquences d'images générées au cours de l'expérimentation ont été traitées et analysées au moyen d'un système semi-automatique lié au logiciel Interekt, permettant le suivi de la cinématique de la tige. La première étape a été de traiter les photos pour retirer tous les éléments susceptibles d'altérer le suivi du mouvement de la talle de blé (flash de l'appareil photo, imperfections présentes sur la talle de blé). Ces suppressions ont été faites à l'aide de Microsoft Paint (Microsoft Windows, versions 21h2, système d'exploitation 19044.2486 – Microsoft Corporation). Cette étape est nécessaire pour augmenter la précision des analyses d'images. La seconde étape a consisté à utiliser Interekt pour obtenir les variables d'intérêt et paramètres pour notre étude via Interekt (INTERactive Exploration of Kinematics and Tropisms ; Hartmann et al., 2022, <https://forgemia.inra.fr/felix.hartmann/interekt>). Les images prétraitées ont été importées dans ce logiciel. Le squelette (c'est-à-dire la tige centrale) de chaque talle a été extraite semi-automatiquement de chaque image avec un algorithme spécifique (Chauvet et al., 2016). Pour réaliser cette extraction, un point de départ a été placé manuellement sur la talle de blé (au plus près de la base). Interekt détecte le squelette de la talle automatiquement à partir de ce point. Cette détection s'arrête à la marque noire laissée juste avant l'épi de blé. Une fois le traitement lancé, des variables géométriques ont été obtenues (rayon et longueur du talle, angles et courbure en fonction de la position le long du talle) pour l'ensemble des individus analysés. L'ensemble des données ont été calculées automatiquement à partir des squelettes des talles (Figure 40) et exportées sous forme de fichiers CSV. L'unité de base du logiciel est le pixel. Une conversion en cm est nécessaire et a été effectuée en utilisant une échelle décrite dans la section précédente.

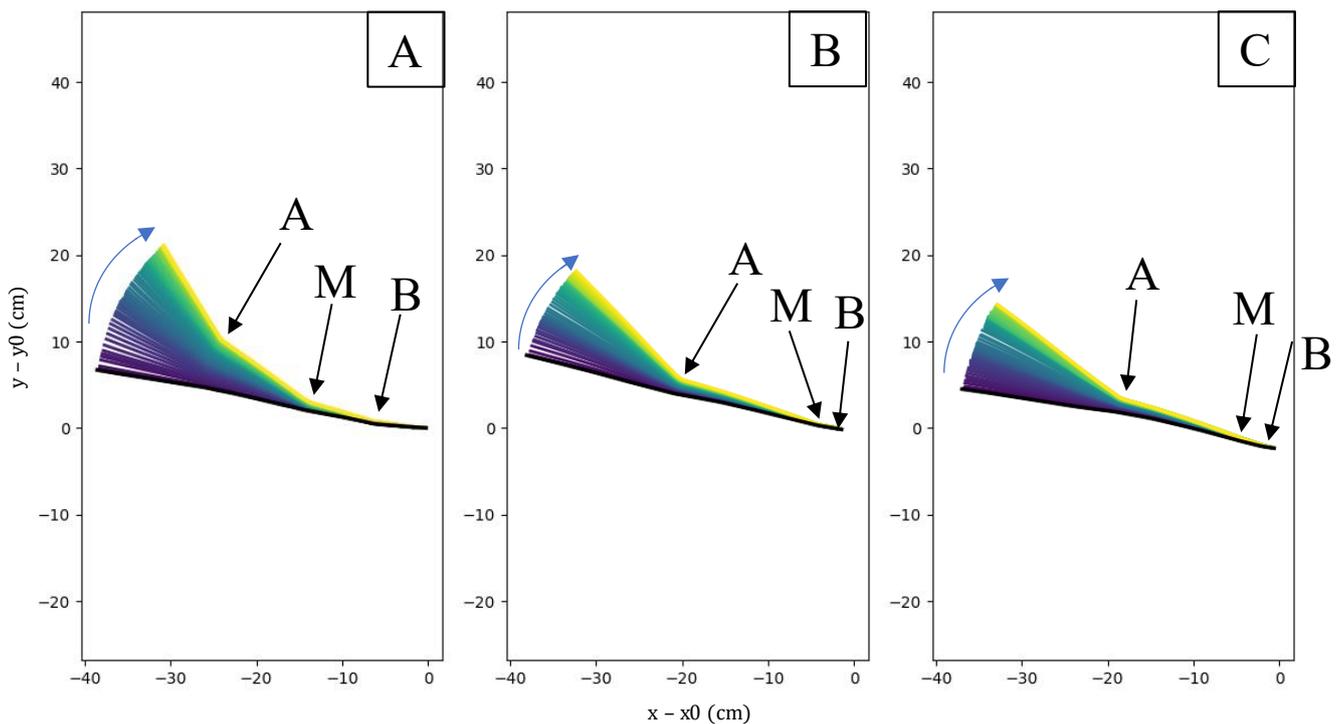


Figure 40 : Évolution de la forme de la talle de blé au cours du temps. Exemple du génotype EM.

A = stade J+7 ; B = J+14 ; C = J+21. Les couleurs représentent les formes successives de la talle de blé dans le temps (noir : première photo ; jaune = dernière photo). La flèche bleue représente le mouvement de flexion vers le haut. Chaque flèche noire indique la position d'un pulvinus (A = Apical ; M = Médian ; B = Basal). $x-x_0$ et $y-y_0$ représente la déviation d'une position par rapport à une position référence sur l'axe horizontal et vertical. Ce graphique montre l'évolution d'une forme de référence (début de l'expérimentation) définie par les coordonnées (x_0, y_0) .

3. Analyse de la cinématique des mouvements du blé : Courbure des pulvini

Le blé ayant un système articulé par la présence des pulvini (donnant un aspect « coude » au talle), qui sont des structures très localisées. Le phénotypage assisté par le modèle AC ou ACÉ proposé par le logiciel Interekt n'est donc pas adapté (à la différence des investigations qui ont été réalisées chez *Arabidopsis thaliana* et le peuplier).

Le suivi de la cinématique de redressement de la talle de blé doit passer par l'analyse de la courbure de chaque pulvinus présent sur la talle et non de la talle entière. Pour bien caractériser la réponse nous avons caractérisé la variation de la courbure de chaque pulvinus par rapport à sa courbure juste après son inclinaison, afin d'éviter de prendre en compte une éventuelle courbure préexistante avant l'inclinaison de la talle.

Il a donc été nécessaire d'obtenir les valeurs de courbure de tous les pulvini, pour nos deux génotypes et à chaque stade de développement étudié. Pour cela, il a fallu récupérer les angles avant et après chaque pulvinus, mais aussi leur longueur. L'ensemble de ces données ont été récupérées pour les 3 pulvini de chaque talle, tout au long de l'expérimentation (tous les 5°C.jour) et aux différents stades de développement étudiés (Figure 41).

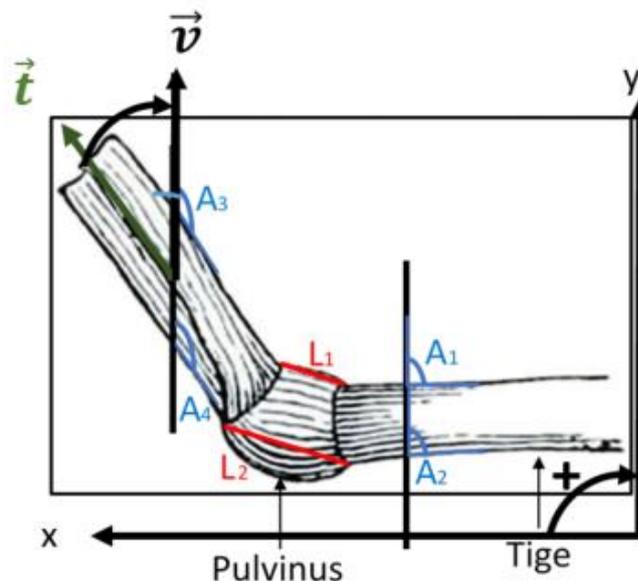


Figure 41 : Calcul des angles géométriques, longueurs du pulvinus de blé et angles supplémentaires. La mesure des angles A1 et A2 est réalisée avant le pulvinus et celle des angles A3 et A4 après le pulvinus. Ces angles sont mesurés par rapport à la verticale. Les longueurs L1 et L2 sont mesurées respectivement sur la face supérieure et inférieure du pulvinus.

Toutes les données nécessaires ont été récupérées via FIJI (Schindelin et al., 2012). La première étape consiste à récupérer les valeurs des angles avant et après le pulvinus. La valeur des angles A1 et A2 (angles avant le pulvinus), et A3 et A4 (après le pulvinus) a été mesurée par rapport à la verticale. Cependant, dans le modèle AC, l'angle pris en compte est l'angle orientée $A(t,v)$ comme détaillé sur la Figure 41. Lors de la mesure, nous avons mesuré l'angle géométrique c'est-à-dire l'angle supplémentaire de l'angle orientée. Pour rectifier cela, il suffit de soustraire la valeur mesurée à 180 pour récupérer l'angle orientée du modèle AC. Les angles A1, A2, A3 et A4 sont donc les angles supplémentaires de l'angle géométrique mesurée sur FIJI au départ. Une moyenne des valeurs A1 et A2, puis A3 et A4, est calculée pour obtenir l'angle avant le pulvinus (A_{AVP}) et l'angle après le pulvinus (A_{APP}), respectivement. La longueur du pulvinus est mesurée au niveau de la face supérieure (L_1) et de la face inférieure (L_2) pour obtenir une valeur moyenne de la longueur du pulvinus $L_{pulvinus}$ (Figure 41).

Pour faciliter l'analyse les angles moyens avant et après pulvinus sont convertis en radian (équation 15 et 16) :

$$A_{AVP}(radian) = A_{AVP}(^{\circ}) * \frac{\pi}{180}$$

$$A_{APP}(radian) = A_{APP}(^{\circ}) * \frac{\pi}{180}$$

Nous calculons la différence entre ces deux angles, que nous divisons par la longueur du pulvinus pour obtenir la valeur de la courbure :

$$Courbure = \left(\frac{1}{L_{pulvinus}} \right) * (A_{APP} - A_{AVP}) \quad (17)$$

Avec A_{AVP} , l'angle moyen avant le pulvinus en radian ; A_{APP} l'angle moyen après le pulvinus en radian ; $L_{pulvinus}$ la longueur du pulvinus en cm ; la courbure en cm^{-1} . La variation de courbure a été obtenue en soustrayant la valeur de la courbure initiale à $T = 0$ de l'ensemble des courbures calculées tout au long de l'expérimentation :

$$\Delta Courbure = Courbure_{T_n} - Courbure_{T_0} \quad (18)$$

Les données ont été présentées sous la forme de la variation de la courbure en fonction du temps thermique. Cette transformation des données est nécessaire d'une part pour être cohérent avec les analyses portant sur le peuplier mais aussi car ce temps est le plus utilisé par la communauté scientifique dans les analyses portant sur le blé. La formule utilisée est la même que pour le peuplier :

$$Thermal\ time = \sum \left(\frac{T_{max} - T_{min}}{2} - T_{base} \right) \Delta t \text{ (}^{\circ}\text{C.jour)} \quad (19)$$

T_{base} est la température en dessous de laquelle la croissance de la plante est nulle. Pour le blé, $T_{base} = 0^{\circ}\text{C}$. Ceci justifie donc la transformation suivante :

$$t \rightarrow Thermal\ time$$

Contrairement au peuplier, le temps radial ne peut pas être utilisé ici. La croissance radiale n'étant pas présente chez le blé, cette croissance ne peut pas être le moteur des mouvements chez cette graminée. La transformation du temps jours en temps radial est donc impossible et inutile.

B. Étude de l'état de lignification du pulvinus

1. Protocole expérimental

Les connaissances scientifiques tendent à montrer la possible implication de la lignine durant la phase de redressement chez les Poacées. Cette molécule pourrait en effet freiner ou « gripper » les amas de fibres collenchymateuses au sein du pulvinus et stopper la croissance différentielle entre les deux faces en bloquant l'allongement des fibres, et donc altérer le redressement à la verticale. Notre approche implique l'analyse de la lignification au niveau de coupes fraîches de pulvinus et par analyse d'images.

Pour vérifier ces hypothèses, notre plan d'expérimentation comporte 8 conditions différentes (représentant des stades précoces à tardifs). L'ensemble des inclinaisons pour les individus inclinés, et les prélèvements des témoins non inclinés ont été réalisés en suivant le même protocole et à la même heure pour chaque génotype.

- Condition Témoin

- Prélèvement 7 jours après le stade de demi-épiaison sans inclinaison
- Prélèvement 10 jours après le stade de demi-épiaison sans inclinaison
- Prélèvement 14 jours après le stade de demi-épiaison sans inclinaison
- Prélèvement 21 jours après le stade de demi-épiaison sans inclinaison

- Condition Inclinée

- Inclinaison 7 jours après demi-épiaison et prélèvement le lendemain (soit J+7 + 1 jour de verse)
- Inclinaison 7 jours après demi-épiaison et prélèvement 3 jours plus tard (soit J+7 + 3 jours de verse).
- Inclinaison 14 jours après demi-épiaison et prélèvement le lendemain (soit J+14 + 1 jour de verse)
- Inclinaison 21 jours après demi-épiaison et prélèvement le lendemain (soit J+21 + 1 jour de verse)

Il est à noter que les prélèvements des génotypes D et EM n'ont pas pu être synchronisés. En effet, de manière inattendue, le temps nécessaire pour atteindre le stade demi-épiaison s'est révélé différent pour les deux génotypes, avec une avance d'environ 2 semaines du génotype EM sur le génotype D.

Les talles ont été prélevés en les coupant à la base à l'aide d'un cutter. Par la suite, une marque jaune a été appliquée sur la face supérieure des pulvini des individus inclinés. L'isolement des pulvini du reste du talle a été réalisé en coupant la tige à l'aide d'une lame de rasoir juste en-dessous et au-dessus du pulvinus. Les pulvini ont ensuite été immédiatement placés dans du fixateur FAA (pour 50ml : 5ml de Formaldéhyde ; 25ml d'Éthanol 50% ; Acide Acétique 5% 2.5ml et QSP H₂O), puis conservés en chambre froide à 4°C.

Avant la réalisation des coupes transversales, une déshydratation des échantillons a été réalisée par plusieurs bains successifs d'éthanol (éthanol 50%, puis 30 et enfin 15%) durant 30 minutes chacun dans la glace. Les échantillons ont ensuite été conservés dans de l'éthanol 15%, en chambre froide à 4°C.

Les coupes transversales de pulvini ont été réalisées à l'aide d'un microtome auto-rétractable (Microtome LEICA RM2165) à effet Peltier, avec des lames de rasoir jetables (lames de microtome Feather type N35). Le pulvinus a été positionnée sur une plaque refroidie présente sur le microtome permettant la réalisation de coupe transversales. Grâce à l'effet Peltier, l'échantillon prend en glace sur la plaque. Les coupes réalisées avaient une épaisseur de 20 µm et ont été réalisées au centre de chaque pulvinus. Pour localiser le centre du pulvinus, nous avons préalablement mesuré sa longueur. Les coupes transversales réalisées ont été placées dans de l'eau à température ambiante en attendant leur coloration.

L'étape de coloration permet de mettre en évidence la présence ou non de lignine sur nos coupes. Le colorant choisi pour cette étude est le phloroglucinol (le phloroglucinol réagit avec les cinnamaldéhydes). Ce choix est justifié par le fait que c'est une coloration rapide et simple à réaliser, mais aussi car cette coloration est plus spécifique pour la lignine et que c'est la plus utilisée par rapport aux autres colorants disponibles comme le carmino-vert.

La première étape a consisté à placer les coupes transversales dans des bains successifs d'éthanol (30% ; 50% ; 70% et enfin 95%) pendant 1 minute. Cette étape permet de déshydrater nos échantillons avant la coloration et d'éliminer les restes de fixateur.

Ensuite, les coupes ont été placées dans de la phloroglucine chlorhydrique 1% (1mg de phloroglucine dissous dans 100ml d'éthanol 95%) durant 5 minutes, puis dans de l'acide chlorhydrique 37% dilué de moitié durant 5 minutes également. La coloration rouge, marqueur de la présence de lignine, apparaît au dernier bain. Les coupes ont été disposées entre lame et lamelle dans une goutte d'eau, sans rinçage préalable. Il est nécessaire de réaliser la prise de vue immédiatement car cette coloration se dissout rapidement. À la suite de la coloration, les coupes ont été observées et photographiées au moyen d'un microscope optique (Zeiss Axio Observer Z1) équipé d'une caméra (AxioCam ICC 5, Zeiss). Les images ont été traitées et

enregistrées au moyen du logiciel Zen (Zen imaging software system) (Zeiss, Jena, Germany). Les caractéristiques histologiques des pulvini ont été mesurées avec le logiciel FIJI (Schindelin et al., 2012).

2. Méthode d'analyse

L'analyse quantitative de l'état de lignification est rendue difficile par le fait que cette analyse se fait notamment via l'intensité de la coloration. Cette intensité peut différer d'une coupe à l'autre, d'un échantillon à l'autre, pour des motifs autres que des raisons physiologiques (durée de coloration, intensité de lumière du microscope si erreur de réglage, colorant peu stable). Il a donc été choisi d'analyser l'état de lignification par une étude qualitative. Cette analyse portera sur la présence ou non de la lignification au sein des amas de fibres collenchymateuses du pulvinus.

Les objectifs du microscope utilisé pour la prise de vue des coupes de pulvini ne permettent pas d'obtenir une image complète d'une coupe en une seule photo. Le pulvinus étant malgré tout une structure de petite taille, 4 à 5 photos sont suffisantes pour couvrir l'ensemble de cet organe. La reconstitution d'une image complète de la coupe transversale de pulvinus à partir des prises de vue individuelles (Figure 42) a été réalisée manuellement avec le logiciel PowerPoint. Cette reconstitution manuelle implique cependant de ne pas modifier les paramètres d'éclairage et d'intensité lumineuse du microscope entre les différentes prises de vue. Afin de distinguer la face supérieure de la face inférieure, il est important de réorienter les coupes en plaçant la marque (déposée sur le pulvinus au moment du prélèvement) en haut de l'image pour représenter la face supérieure de nos coupes. La face supérieure et la face inférieure (seulement pour les individus inclinés) ont ensuite été délimitées en considérant que cette limite doit passer par le centre de la tige. Nous avons positionné le centre de la tige en mesurant son diamètre (ou celui de l'espace laissé vacant par la tige si elle n'est plus présente sur la coupe), et nous avons divisé cette longueur par deux (segment rouge sur la Figure 39). La limite entre les deux faces a ensuite été matérialisée par un segment noir horizontal dessiné manuellement sur la coupe. Sur la photo reconstituée, si les amas de fibres collenchymateuses étaient présents sur le segment noir, nous avons considéré qu'ils appartenaient à la face supérieure.

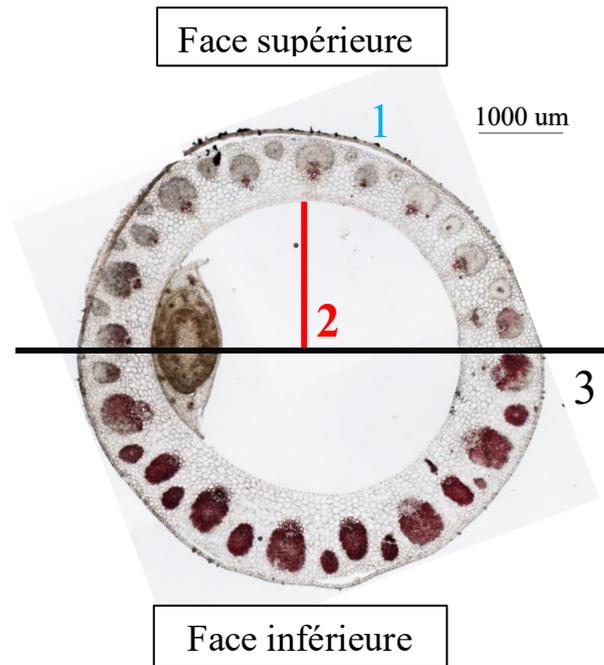


Figure 42 : Méthode de quantification qualitative de l'état de lignification des amas de fibres collenchymateuses sur une coupe transversale de pulvinus de blé. L'étape 1 (bleue) est le positionnement de l'image de la coupe de telle sorte que la marque noire soit en haut de la coupe. L'étape 2 (rouge) est de calculer la longueur de la moitié du pulvinus. L'étape 3 (noir) permet de diviser le pulvinus entre la face supérieure et inférieure. La coloration au phloroglucinol en rouge montre la lignification.

Pour chaque face de chaque pulvinus, le nombre total d'amas de fibres collenchymateuses présent a été évalué. Les pulvini comportent deux principales classes d'amas : amas collenchymateux de grande taille, avec des fibres et vaisseaux cribro-vasculaires bien visibles ; des amas collenchymateux de petite taille, où le nombre de fibres est faible et où les vaisseaux cribro-vasculaire ne sont généralement pas visibles (Figure 43). Tous les amas, y compris les plus petits, sont inclus dans ce décompte.

Un second comptage est réalisé pour récupérer le nombre d'amas présentant une coloration, donc une lignification, y compris débutante (Figure 43). Ainsi, un pourcentage d'amas lignifiés est obtenu pour la totalité du pulvinus, mais aussi pour chaque face. Ce pourcentage a été calculé pour les deux génotypes, aux 3 positions possibles du pulvinus (apical, médian, basal) de la taille, ainsi que pour les 8 conditions testées. Un test de Wilcoxon puis Tukey ont été utilisés pour évaluer la significativité des différences observées.

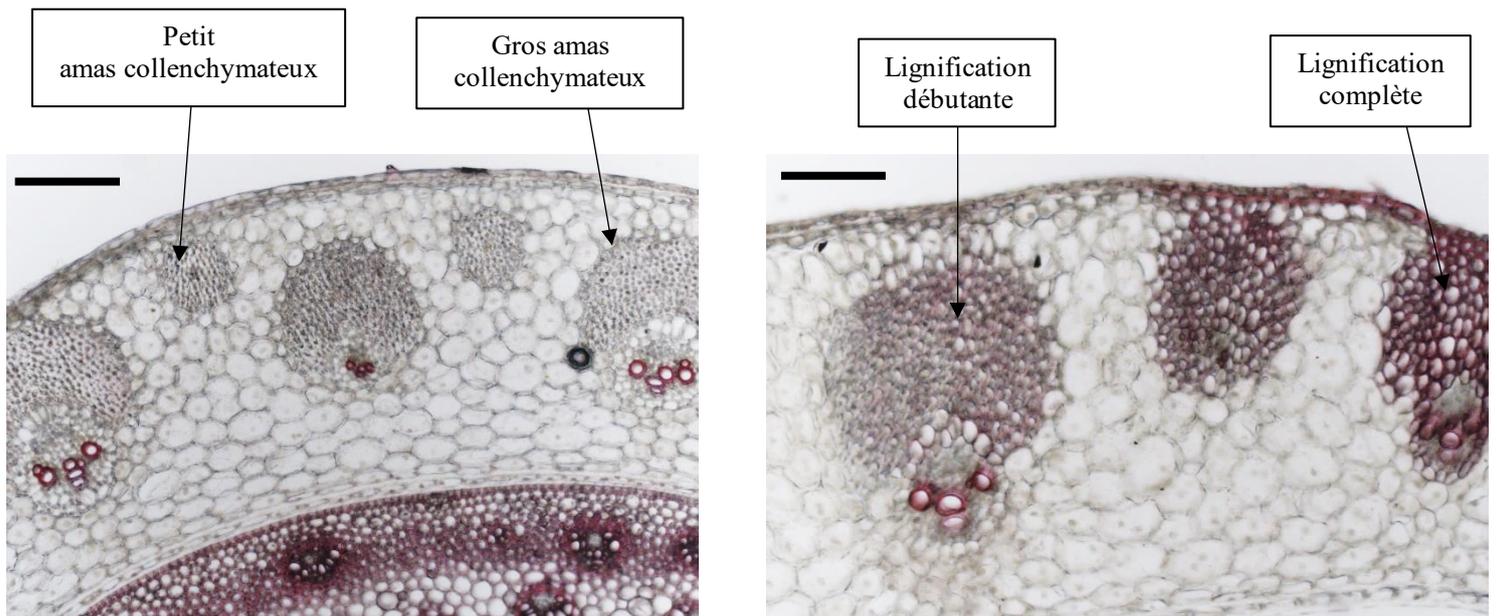


Figure 43 : Amas collenchymateux du pulvinus de blé. Les amas peuvent être de grande taille avec présence visible des vaisseaux cribro-vasculaire ou de petite taille sans visibilité des vaisseaux. La lignification des amas montre diverses étapes allant de la lignification débutante à la lignification complète de l'amas. La coloration en rouge représente la présence de lignine, par l'utilisation de phloroglucinol. Échelle : 200 μ m.

C. Suivi de l'auxine au sein des pulvini en réponse à la gravistimulation

1. Dosage de l'indole-3-acetic acid : protocole expérimental

L'indole-3-acetic acid, *via* son dosage, a été étudiée entre la face supérieure et inférieure des 3 pulvini présents sur la talle de blé chez nos deux génotypes.

Les talles de blé au stade J+7 ont été gravistimulées par la même méthode que celle décrite dans le paragraphe « étude de la cinématique de redressement », puis prélevés au bout de 4h. Des talles non inclinés J+7 ont été prélevées en parallèle. Le stade J+7 est justifié ici par le fait qu'à ce stade l'ensemble des pulvini, en dehors des pulvini basaux du génotype EM, présentent une capacité de courbure permettant une bonne capacité de redressement des talles. Le prélèvement 4h après la gravistimulation a été choisi d'après les données obtenues chez d'autres Poacées.

Que ce soit pour la condition témoin ou inclinée, 30 talles ont été prélevées par génotype, soit 60 par condition. Le prélèvement des pulvini a été réalisé de la même manière que pour l'étude de la lignification.

Nous avons prélevé le pulvinus en coupant la tige à l'aide d'une lame de rasoir juste avant et juste après cette structure. Puis, les pulvini ont été coupés en deux moitiés afin de séparer la face supérieure de la face inférieure. Après avoir pris soin d'éliminer la portion de tige attachée à chaque moitié de pulvinus, les moitiés de pulvini ont été congelées à l'azote liquide et conservées à -80°C. Au total, près de 360 pulvini ont été prélevés provenant à la fois des deux génotypes entre nos deux conditions testées.

Le dosage de l'indole-3-acetic acid a été réalisé par chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse sur la plateforme « Observatoire du Végétal-chimie, métabolisme » (Institut Jean-Pierre Bourgoïn & INRAE – Versailles). Une première étude a été réalisée pour mettre au point la technique utilisée à nos échantillons. Cette mise au point permet d'évaluer l'adéquation et la sensibilité de cette technique par rapport à notre matériel végétal.

En amont de la réalisation des dosages, nous avons pris soin d'évaluer l'erreur de mesure associée au protocole de dosage. Elle est de 3,33 ng/gDW pour l'indole-3-acetic acid. Cette phase de mise au point a également été l'occasion d'identifier la quantité minimale de matériel végétal à envoyer à la plateforme pour obtenir des résultats fiables et vérifiables. Cette quantité est de l'ordre de 10mg de matière végétale sèche, mais le pulvinus étant une petite structure, avec une masse faible (autour de 1mg de matière sèche pour une face d'un pulvinus basal, autour de 3mg pour une face d'un pulvinus apical), il a été nécessaire de réaliser des pools d'individus pour l'obtenir. Pour chaque condition, 3 lots de pools de faces de pulvini (pour la condition inclinée) ou de pulvinus entier (pour la condition non inclinée) ont été constitués. Chacun des 3 pools rassemblent des faces de pulvini issus de 10 individus (10 talles différents). Les pools d'échantillons ont ensuite été broyés à l'azote liquide puis lyophilisés (lyophilisateur Lyovac GT2 de Leybold-Heraeus) durant 2 jours. Par la suite, l'ensemble des échantillons, soit 60 tubes, ont été envoyés à l'Observatoire du Végétal pour analyse et quantification.

2. Immunolocalisation de l'auxine

Cette expérimentation, portant uniquement sur le génotype EM par manque de matériel végétal, avait pour objectif de visualiser la localisation de l'auxine au sein du pulvinus par immunolocalisation.

Les talles de blé du génotype EM ont été versées de la même façon que les précédentes expérimentations puis prélevées 4h après. Nous avons prélevé les pulvini en coupant la tige juste avant et après cette structure à l'aide d'une lame de rasoir, puis ont été directement placés dans du fixateur FAA à 4°C en chambre froide.

Nous avons décidé de réaliser une inclusion en paraffine pour réaliser cette expérimentation. Cette inclusion permet d'obtenir à l'aide d'un microtome des coupes fines de quelques micromètres d'épaisseur. De plus, les blocs de paraffine contenant le matériel peuvent être conservés très longtemps avant de réaliser les coupes. Cette inclusion passe d'abord par une étape de déshydratation des échantillons par des bains successifs d'éthanol gradué de 30 minutes chacun à 4°C (50%, 70%, 95%, 100%), puis les échantillons ont été plongés dans de l'éthanol 100% durant une nuit à 4°C. La seconde étape a consisté à échanger les solvants (l'éthanol et la paraffine ne sont pas miscibles, l'éthanol doit être remplacé progressivement par l'Histoclear II), en passant de l'éthanol à de l'Histoclear, par des bains successifs : 2h d'incubation dans un mélange Histoclear II 2/3 et éthanol 1/3, 2h d'incubation d'Histoclear II ½ et éthanol ½, 2h d'incubation d'Histoclear II 1/3 et éthanol 2/3. Enfin, 2 incubations de 1 à 2h ont été réalisées avec l'Histoclear II pur.

Par la suite, l'imprégnation de nos échantillons a été réalisée par l'utilisation de la paraffine (Paraplast Plus). Nos échantillons contenus dans un mélange Histoclear et pastille de Paraplast sont incubés 2 à 3h à 50°C dans un bain-marie. Des ajouts progressifs de pastilles de Paraplast ont été réalisés durant ce temps pour obtenir un milieu saturé en Paraplast (50 à 60 pastilles pour 5 ml d'Histoclear). Le milieu obtenu est ensuite laissé une nuit à 60°C dans une étuve.

La dernière étape est l'inclusion finale. Cette étape est la disposition des échantillons, avec la bonne orientation pour la réalisation de coupe longitudinale ou transversale, dans un tube Eppendorf tronqués (tube de 1.5ml dont on a éliminé le fond). À l'aide d'une pince, les échantillons sont disposés dans ces tubes contenant de la paraffine liquide. Ces tubes sont placés immédiatement dans de la glace pour permettre la solidification de la paraffine. Par la suite, les échantillons sont placés à 4°C en chambre froide. Les coupes transversales de pulvinus ont été réalisées après inclusion en paraffine à l'aide d'un microtome (Microtome rotatif semi-automatique HM 340E – Thermo Scientific).

Nous avons utilisé la technique de l'immunolocalisation pour évaluer la localisation de l'auxine. Cette technique permet la localisation des protéines au niveau tissulaire ou cellulaire, en faisant intervenir la reconnaissance antigène – anticorps, grâce à des anticorps dirigés contre la protéine recherchée.

Les coupes transversales de pulvinus ont été déposées sur des lames de type Superfrost Plus pendant plusieurs heures à 42°C pour éviter un décollement des coupes durant les différents bains. Les lames sont plongées dans deux bains successifs d'Histoclear II pur pour éliminer le fixateur et le reste de paraffine.

Une réhydratation a été ensuite réalisée pour éliminer l'Histoclear II pur avec des bains d'1 minute d'éthanol de concentration décroissante à température ambiante (95% à 30%).

La première étape est la saturation des sites non spécifiques par l'utilisation de PBX 1X et de Triton X-100 0.1%. Les lames sont plongées dans du PBS 1X + Triton X-100 0,1 % durant 15 min puis dans du PBS 1X + Triton X-100 0,1 % + Glycine 0,2% durant 15 min puis dans PBS 1X + Triton X-100 0,1 % durant 10 min et enfin dans du tampon de saturation 1 : PBS 1X + Triton X-100 0,1 % + Tween 20 0,2% + BSA 0,1% + NGS 5%, durant 45 min à l'obscurité.

La seconde étape est la réalisation de la réaction avec l'anticorps primaire. L'anticorps primaire est ici un anticorps dirigé contre plusieurs épitopes de l'auxine. Il est dilué dans le tampon de saturation précédent et est mis en présence des coupes durant une nuit à l'obscurité et dans une atmosphère humide. Le lendemain, les coupes ont été lavées par des bains successifs pour éliminer l'anticorps primaire : 2 bains de 20 minutes de PBS 1X + Triton X-100 0,1% puis 2 bains de 15 minutes de TBS 1X + Triton X-100 0,2%.

La troisième étape est la saturation des sites non spécifiques avant la mise en contact avec l'anticorps secondaire. Cette étape passe par le plongeon des coupes dans du tampon de saturation (TBS 1X + Triton X-100 0,2% + Tween 20 0,2% + BSA 1% + NGS 5%) pendant 45 minutes à l'obscurité.

La réaction avec l'anticorps secondaire dilué au 1/40^{ème} dans le tampon de saturation précédent a été réalisée ensuite pendant 2h30 à l'obscurité (anticorps de chèvre anti – anticorps primaire). Suite à cette réaction, 3 lavages successifs de 15 minutes chacun ont été réalisés avec la même solution que lors de la mise en contact de l'anticorps primaire, durant 15 minutes. La révélation a été rendue possible par l'utilisation d'un Kit Biorad permettant de mettre en évidence la coloration de la phosphatase alcaline, qui est une enzyme couplée à l'anticorps secondaire. À la suite de la coloration, les coupes ont été observées et photographiées au moyen d'un microscope optique (Zeiss Axio Observer Z1) équipé d'une caméra (AxioCam ICC 5, Zeiss). Les images ont été traitées et enregistrées au moyen du logiciel Zen (Zen imaging software system) (Zeiss, Jena, Germany).

3. Analyse statistique des données de dosage

Les moyennes pour chaque condition et chaque hormone ont été obtenues, en fonction de la face du pulvinus et de sa position sur la talle. Un test de Wilcoxon et Tukey a été utilisé pour évaluer si les différences des valeurs de dosage entre la face supérieure et inférieure sont significatives ou non.

Un test ANOVA 2 permet de montrer s'il y a un effet face (supérieure et inférieure) et position (basal, médian, apical) pour les teneurs hormonales. Cependant le faible nombre d'échantillons ne permet pas l'utilisation de test statistique assez puissant pour évaluer cette significativité.

D. Étude de l'allongement des fibres au sein d'un pulvinus stimulé

1. Protocole expérimental

Dans cette expérimentation, les talles ont été utilisées au stade J+7. Les talles ont été inclinées pendant 2 jours, puis le prélèvement des pulvini a été réalisé en suivant le même protocole que celui décrit dans la partie « Étude de l'état de lignification du pulvinus ». Les pulvini ont été placés dans du fixateur FAA (pour 50ml : 5ml de Formaldéhyde ; 25ml d'Éthanol 50% ; Acide Acétique 5% 2.5ml et QSP H₂O). La première étape consiste à placer les pulvini dans des bains successifs d'éthanol (30% ; 50% ; 70% et enfin 95%) pendant 1 minute. Cette étape permet de déshydrater nos pulvini avant la coloration et d'éliminer les restes de fixateur. Ils sont ensuite conservés à 4°C. Les pulvini ont été rincés 4 fois à l'eau distillée puis coupés en deux moitiés de manière à séparer les faces supérieures et inférieures. Par la suite, chaque face a été traitée individuellement. Afin de désolidariser les amas de fibres collenchymateuses des tissus environnants (parenchymes principalement), nous avons utilisé un traitement au Na₂CO₃, une molécule désestérifiante connue pour solubiliser les pectines et aider ainsi à la séparation des cellules (Jarvis et al., 1981 ; McAtee et al., 2009).

L'isolement des amas de fibres a été réalisé en faisant bouillir les moitiés de pulvinus dans 30 ml de Na₂CO₃ (0,05 M) pendant 20 à 30min, sur une plaque chauffante avec agitation magnétique (200-250 rpm). Ce traitement a le double avantage de :

- (1) Ramollir les tissus entourant les amas de fibres. Ceci augmente le contraste de rigidité entre les amas de fibres et les parenchymes et facilite ainsi l'isolement des amas
- (2) Rendre l'épiderme et les parenchymes des pulvini plus transparents. Ceci augmente le contraste de coloration entre les amas de fibres et les tissus environnants, facilitant ainsi l'identification et l'isolement des amas ciblés

Pour chaque moitié de pulvinus, seuls le ou les 2 amas de fibres les plus centraux (correspondant aux amas les plus apicaux pour la face supérieure, et les plus basaux pour la face inférieure) ont été isolés et conservés (Figure 44). Afin de faciliter leur manipulation, les amas ont été colorés 30s dans une solution de bleu de toluidine 0,5%, puis rincés à l'eau distillée. La partie centrale

des amas de fibres a ensuite été dilacérée et grattée avec une lame de scalpel sous loupe binoculaire afin de faciliter l'isolement de fibres individuelles. Les extrémités des amas de fibres n'ont pas été conservées dans cette approche. En effet, étant durcies par la lignification, leur participation à l'élongation différentielle est très probablement plus faible que celle des fibres plus médianes qui, elles, ne sont pas ou comparativement peu lignifiées. Les fibres et groupes de fibres isolés ont été conservés dans une goutte d'eau, montés entre lame et lamelle, puis observés et photographiés au moyen d'un microscope optique (Zeiss Axio Observer Z1) équipé d'une caméra (AxioCam ICC 5, Zeiss). Les images ont été traitées, et la longueur des fibres a été mesurée au moyen du logiciel Zen (Zen imaging software system) (Zeiss, Jena, Germany)

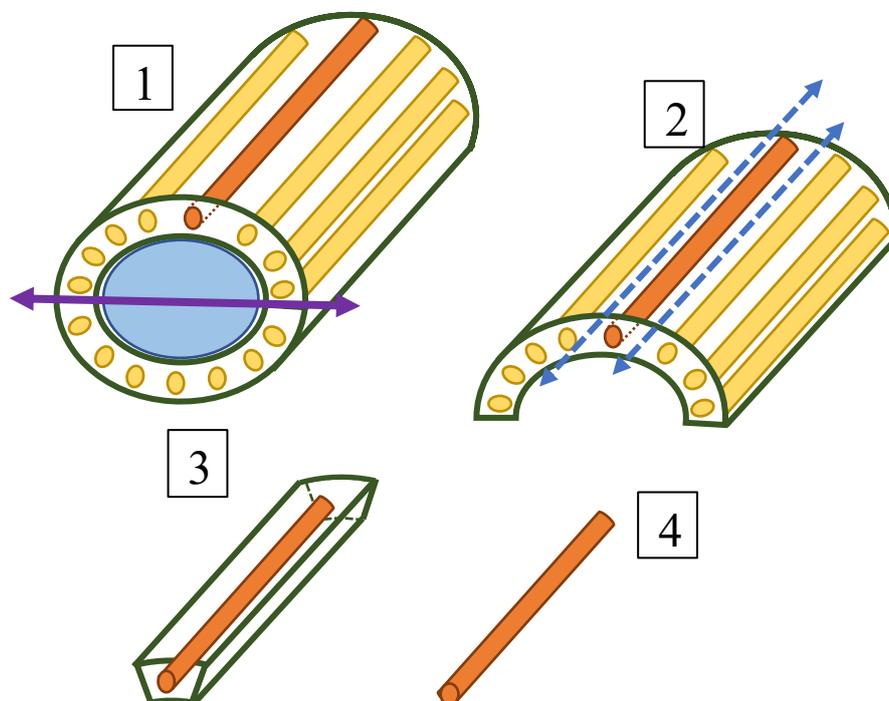


Figure 44 : Isolement des fibres collenchymateuses du pulvinus. L'isolement des fibres comprends 4 étapes. (1) Séparation de la face supérieure et inférieure du pulvinus. (2) Sélection du/des amas de fibres les plus apicaux ou basaux de chaque face. (3) Désolidarisation des amas de fibres collenchymateuses des tissus environnants. (4) Isolement de l'amas de fibres collenchymateuses. La tige est représentée en bleu, en jaune les amas collenchymateux et en orange l'amas collenchymateux sélectionné.

2. Méthode d'analyse

Les longueurs des fibres ont été moyennées par face et par génotype. Un test de Wilcoxon a été utilisé pour comparer les moyennes de ces longueurs entre la face supérieure et la face inférieure

du pulvinus chez nos deux génotypes. De plus, un ratio de longueur a été calculé entre les fibres de la face inférieure et supérieure.

II/ Résultats

1) Étude de la cinématique de redressement du blé en serre

Afin d'étudier le redressement des talles de blé, une analyse de la cinématique de mouvement de la talle et de la courbure de chaque pulvinus a été utilisé.

A. Analyse de l'angle au bout des talles de blé

Les time-lapse pour nos deux génotypes montrent que les talles de blé, quel que soit le stade de développement, ont un mouvement global de courbure vers le haut (Figure 45 et 46) Ces talles ont été inclinées en moyenne avec un angle d'inclinaison initiale de $88.09^\circ (\pm 8.45^\circ)$.

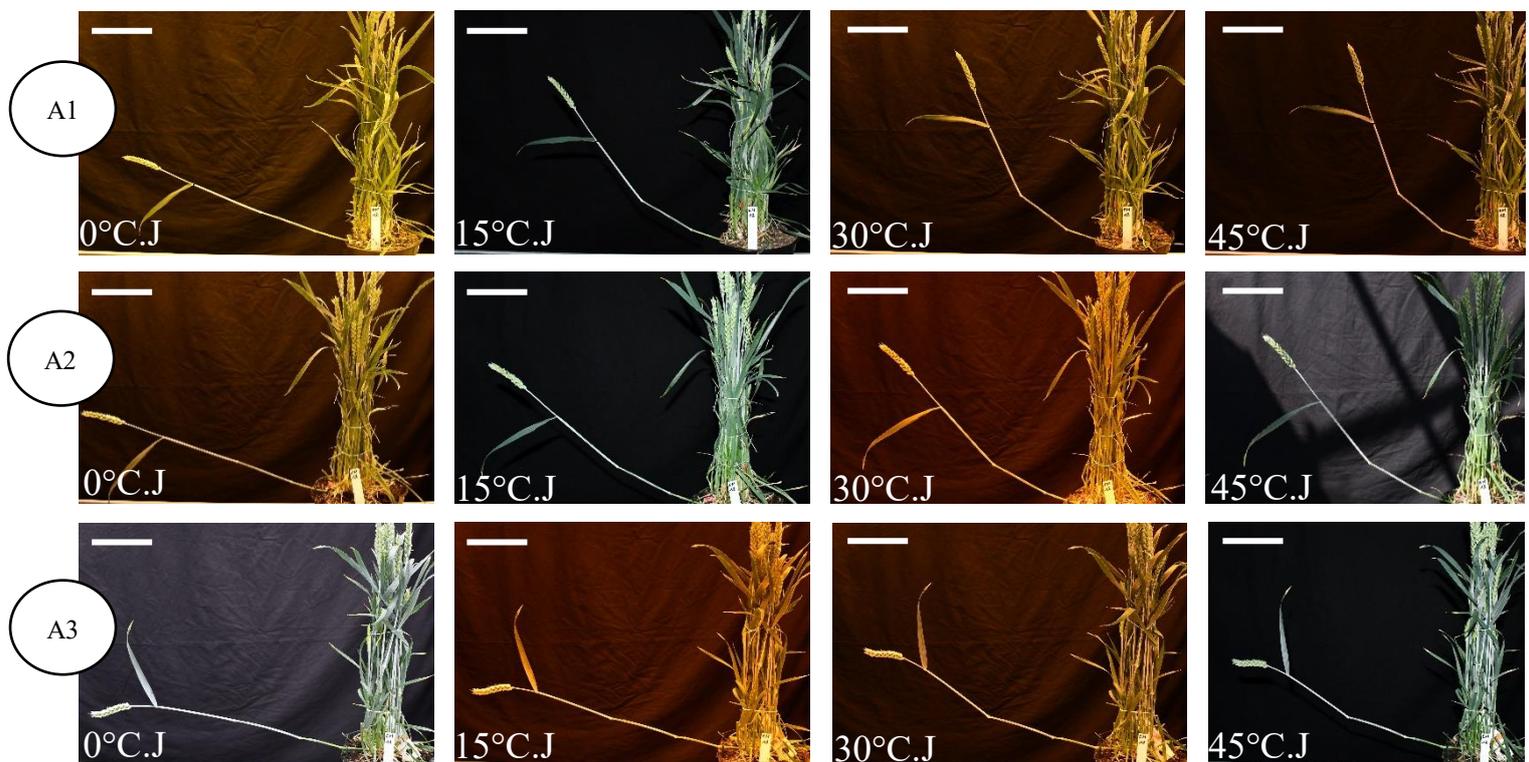


Figure 45 : Cinétique d'évolution du redressement du talle de blé du génotype EM (temps exprimé en temps thermique). Au temps t0 (noté 0°C.jour), les talles sont inclinées. Puis le redressement de la talle est suivi pendant 2 jours (avec prise de photos toutes les 30 minutes). La

cinétique est montrée à 4 différents (0°C.jour, 15°C.jour, 30°C.jour et 45°C.jour). A1 : suivi d'une talle inclinée au stade J+7 ; A2 : suivi d'une talle inclinée au stade J+14 ; A3 : suivi d'une talle inclinée au stade J+21. Échelle = 10 cm

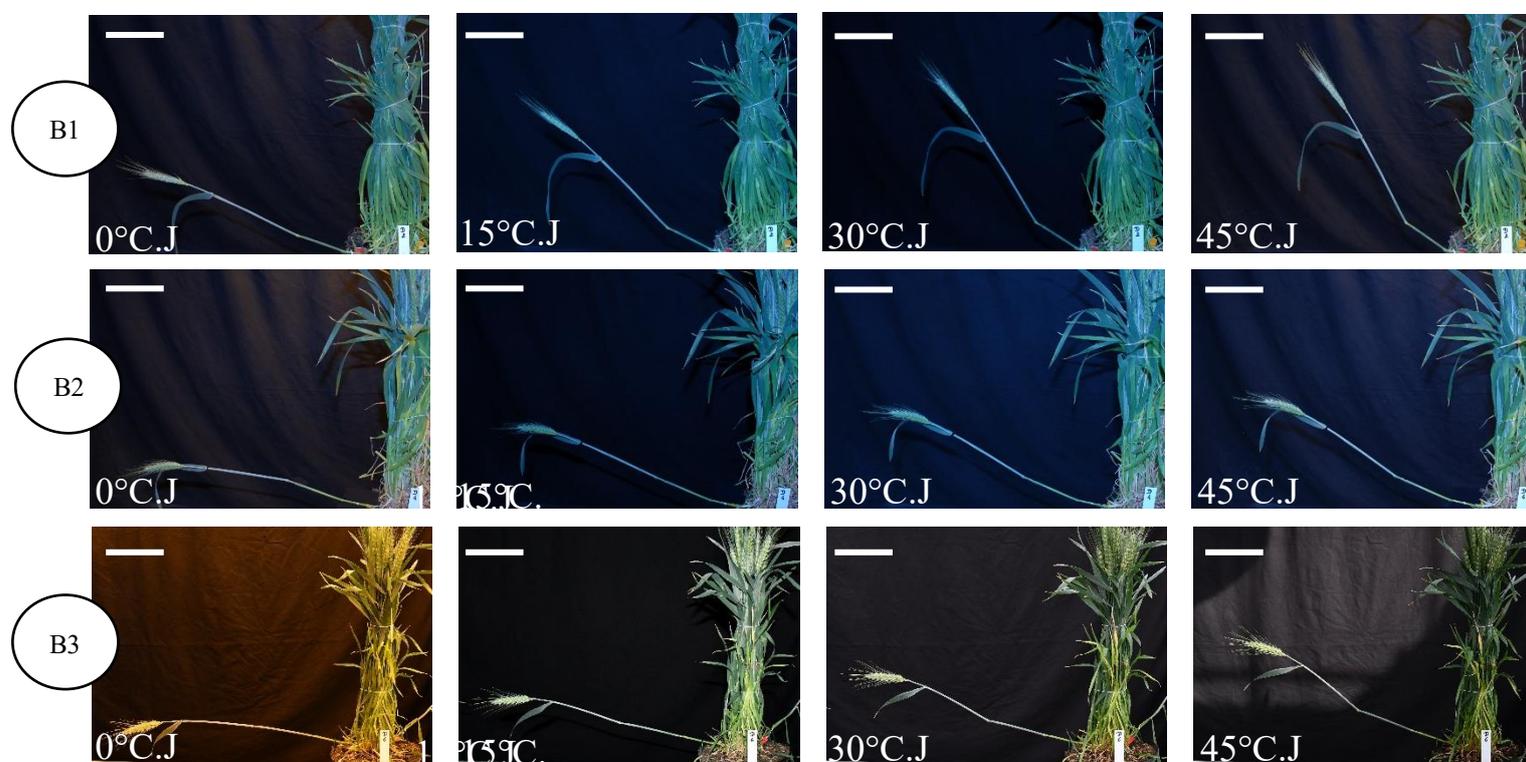


Figure 46 : Cinétique de l'évolution du redressement de talles de blé du génotype D (temps exprimé en temps thermique). Au temps t0 (noté 0°C.jour), les talles sont inclinées. Puis le redressement de la talle est suivi pendant 2 jours (avec prise de photos toutes les 30 minutes). La cinétique est montrée à 4 différents (0°C.jour, 15°C.jour, 30°C.jour et 45°C.jour). B1 : suivi d'une talle inclinée au stade J+7 ; B2 : suivi d'une talle inclinée au stade J+14 ; B3 : suivi d'une talle inclinée au stade J+21. Échelle = 10 cm

Au stade le plus précoce, l'angle au bout des talles de blé montrent un gain de 40.35° pour le génotype D et de 46.14° pour le génotype EM (p-value = 0.86 ; test de Student). Au stade intermédiaire, ce gain est de 21.33° pour le génotype D et de 31.02° pour le génotype EM (p-value = 0.77 ; test de Student). Enfin, au stade le plus tardif, les gains sont de 27.28° pour le génotype D et de 19.65° pour EM (p-value de 0.76 ; test de Student). Nos deux génotypes montrent le même redressement quel que soit le stade de développement étudié (Figure 47). Nos résultats montrent, notamment au stade J+7 (Figure 47A), un ralentissement de l'évolution de l'angle au bout à partir de 30°C.jour chez nos deux génotypes. Le gain d'angle est de 50° durant les 30 premiers degrés jours pour le génotype D et de 50° pour le génotype EM au stade

J+7. Ce gain est de 0° et 5° pour le génotype D et EM respectivement entre 30 et 45°C.jour. Le ralentissement de l'évolution de l'angle au bout au cours de l'expérimentation est moins visible au stade J+14 et J+21 pour nos deux génotypes.

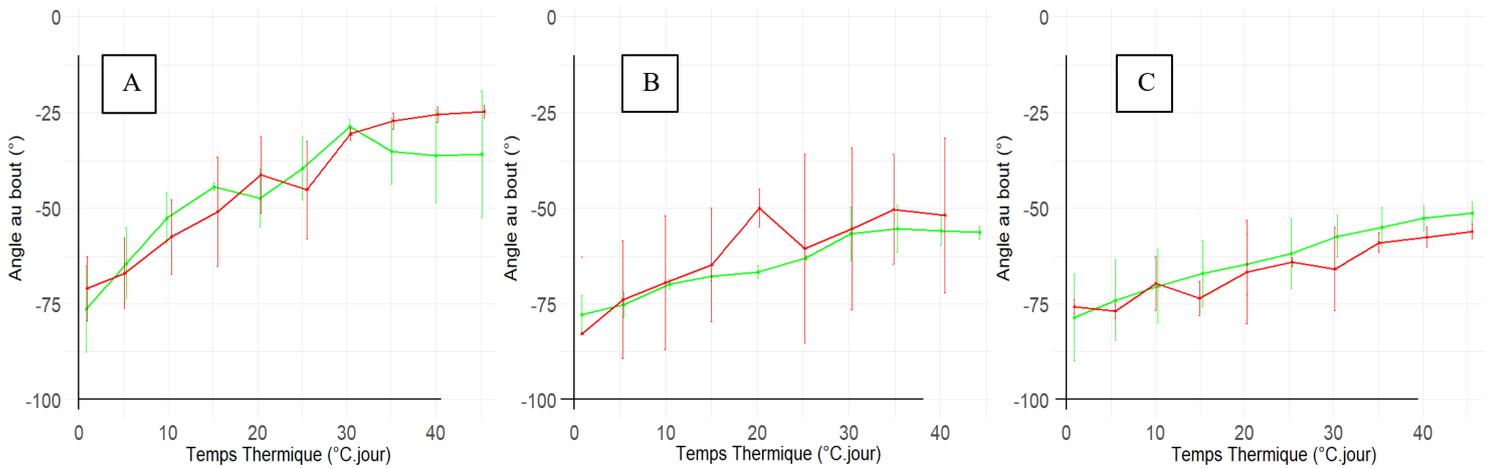


Figure 47 : Effet du stade de développement et du génotype sur l'évolution de l'angle au bout d'une talle de blé. La courbe rouge représente les talles du génotype EM et la courbe vert les talles du génotype D. La figure A porte sur l'évolution de l'angle au bout des talles EM et D au stade J+7 ; la figure B sur les talles au stade J+14 et la figure C aux talles du stade J+21. L'angle au bout a été pris tous les 5°C.jour

En étudiant chaque génotype en fonction des 3 stades de développement, nous montrons que les talles de blé au stade J+7 (Figure 48A) présentent un redressement significativement plus important par rapport aux talles du stade J+14 et J+21 (courbe bleue pour J+7 et courbe orange et violette pour J+14 et J+21 respectivement). Ces différences sont surtout visibles à la fin de l'expérimentation pour le génotype EM alors que ces différences sont visibles à un stade plus précoce chez le génotype D.

Entre les deux stades les plus tardifs, il n'y a pas de différence significative de l'évolution de l'angle au bout (test de Student : p-value = 0.89). Les résultats sont similaires pour le génotype EM, avec cependant une moindre différence entre l'évolution de l'angle au bout des talles aux stades J+7 et J+14 (Figure 45B ; p-value = 0.65 ; test de Student). L'évolution de l'angle au bout présentent des zones de replats notamment autour de 20°C.jour et 40°C.jour. Ces zones de replats sont liées aux périodes de nuit de l'expérimentation. Cela implique que l'évolution de l'angle au bout et donc du redressement de la talle est plus lent durant les périodes de nuit. De plus, au bout de 30°C.jour pour nos deux génotypes, l'angle au bout ne montre plus aucune évolution. On peut donc supposer qu'à la fin de l'expérimentation (soit à 45°C.jour), l'état stationnaire est proche d'être atteint pour la talle de blé.

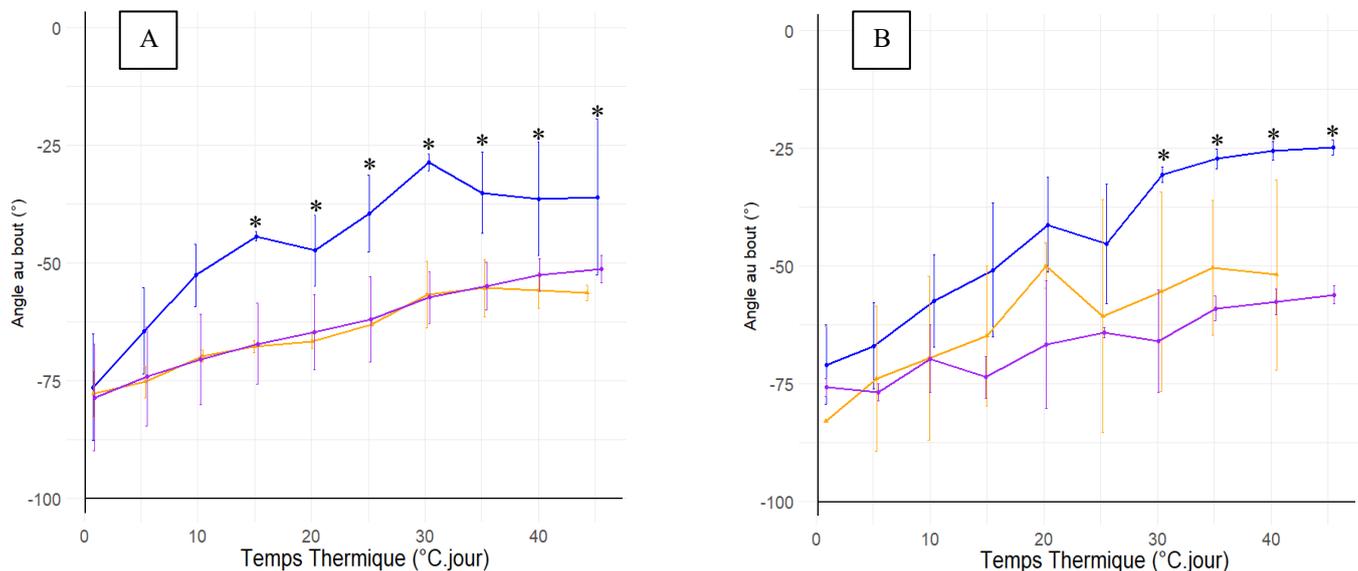


Figure 48 : Effet du stade de développement de la talle de blé au moment de la verse sur sa capacité de redressement. A = Génotype D ; B = Génotype EM. La courbe bleue représente le stade J+7, la courbe orange le stade J+14 et la courbe violette le stade J+21. Les angles au bout ont été pris tous les 5°C.jour. Les étoiles représentent des différences significatives d'angle au bout entre le stade J+7 et le stade J+14/J+21. Les étoiles représentent le seuil de différence significatif entre les valeurs (p-value inférieure 0.05 ; test de Student).

Cependant pour une analyse plus précise et cohérente avec les précédentes expérimentations sur le peuplier, l'étude de la cinématique de redressement doit être réalisée par l'analyse de la de variation de courbure, et plus précisément de la variation de courbure de chaque pulvinus, et non pas de la talle entière. Ce choix est justifié par le fait que seuls les pulvini sont les zones actives permettant les mouvements de la talle de blé.

B. Évolution de la variation de courbure

1. Comparaison entre nos deux génotypes

Au niveau des talles du génotype EM, les pulvini apicaux et médians montrent une activité de courbure à tous les stades de développement (Figure 49 A1 – B1). Le pulvinus basal ne montre pas de variation de courbure quel que soit le stade de développement, résultat concordant avec

les résultats préliminaires du GDEC (Figure 49C1). Au sein de ce génotype, le redressement de la talle de blé ne semble être réalisé que par l'action du pulvinus médian et apical.

Au niveau du génotype D, l'ensemble des pulvini montre une activité de courbure notamment au stade le plus précoce (Figure 49 A2, B2 et C2). Comme pour le génotype EM, la capacité de courbure semble diminuer pour certains pulvini au cours du temps. Ces premiers éléments montrent donc une première différence d'activité des pulvini au cours du temps entre nos deux génotypes.

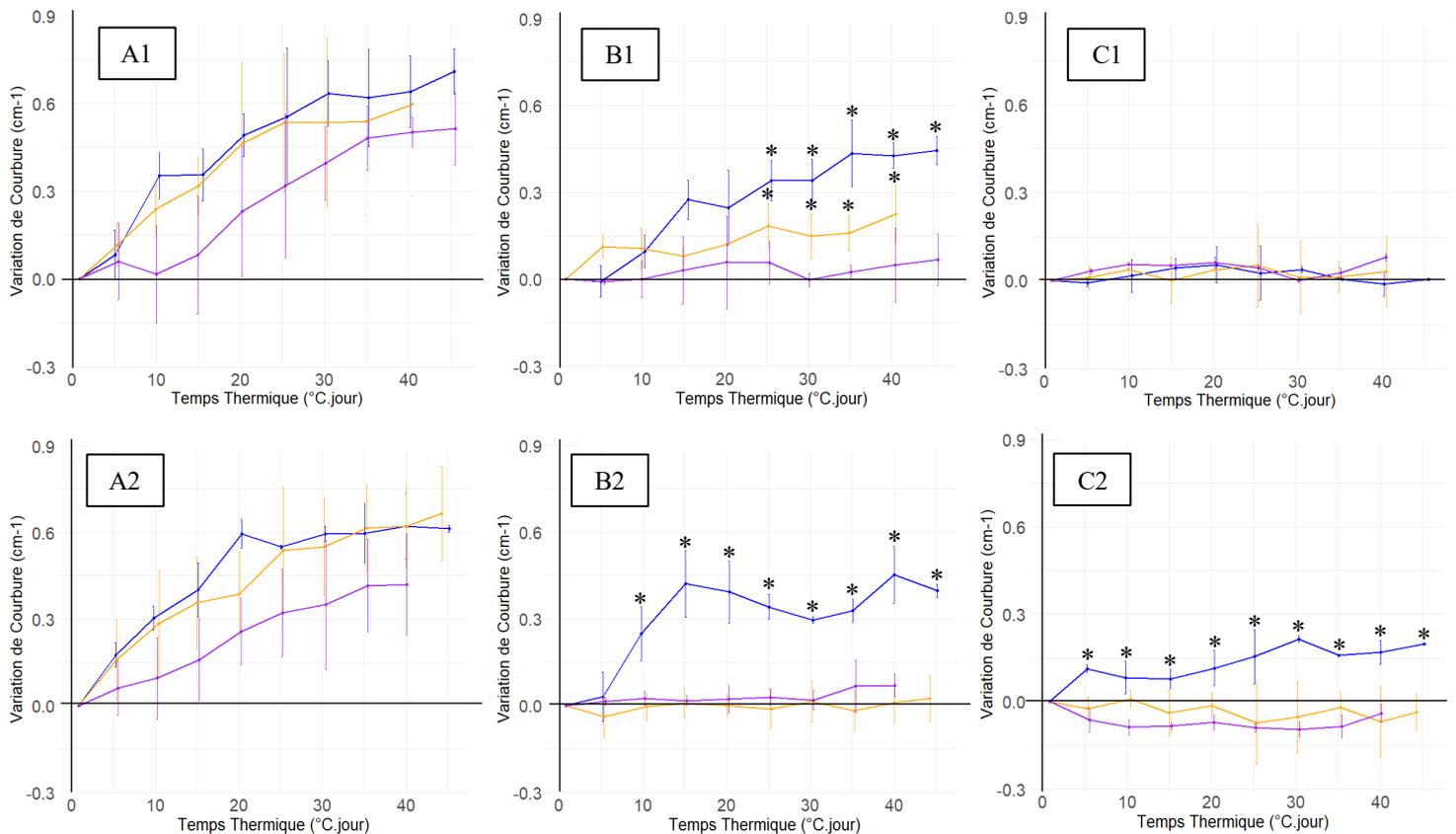


Figure 49 : Effet du stade de développement de la talle de blé au moment de la verse sur la variation de courbure des pulvini. A1 et A2 : Pulvinus apical (EM – A1 et D – A2) ; B1 et B2 : Pulvinus médian (EM – B1 et D – B2) ; C1 et C2 : Pulvinus Basal (EM – C1 et D – C2). La variation de courbure est la courbure induite à la suite de l'inclinaison. La courbe bleue représente le stade J+7, la courbe orange le stade J+14 et la courbe violette le stade J+21. Les étoiles représentent le seuil de significativité de différence entre nos valeurs (seuil à 0.05 avec le test de Student).

2. Comparaison de la variation de courbure au niveau de chaque pulvinus

Préalablement à la comparaison de la variation de courbure de chaque pulvinus, il est nécessaire de vérifier l'absence de différence au niveau de l'angle d'inclinaison initiale de l'ensemble de nos talles et de la longueur des pulvini. Ces deux éléments peuvent en effet expliquer des différences de variation de courbure : une talle moins fortement inclinée nécessitera moins de courbure pour se redresser pour atteindre la verticale par rapport à une talle plus fortement inclinée. Le calcul de la courbure est lié à la longueur de la zone active permettant la courbure. Pour les deux génotypes, aux 3 stades de développement utilisés, il n'y a de différence significative ni au niveau de l'angle d'inclinaison initiale et ni au niveau de la longueur des pulvini (Figure 50 ; test de Tukey ; p-value inférieure à 0.05).

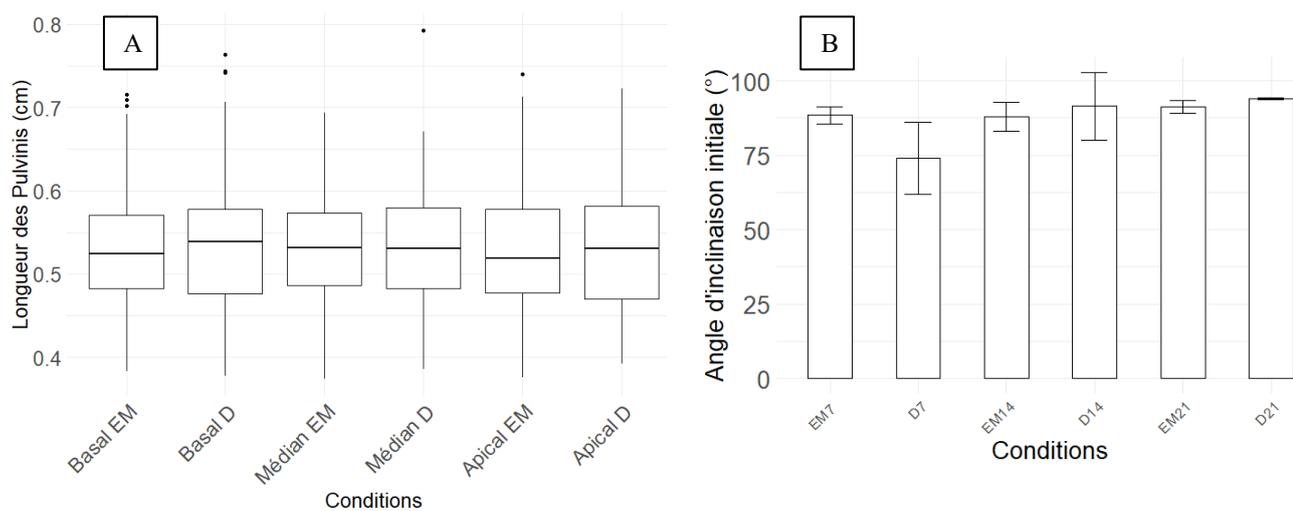


Figure 50 : Longueur des pulvini et angle d'inclinaison initiale des talles de blé. A = Longueur des pulvini en fonction de la position du pulvinus et du génotype (longueur en cm) ; B = Angle d'inclinaison initiale des talles de blé en fonction du génotype et du stade de développement. Ces angles ont été mesurés la base de la talle, entre le plateau de tallage et le pulvinus basal

i. Pulvinus Basal

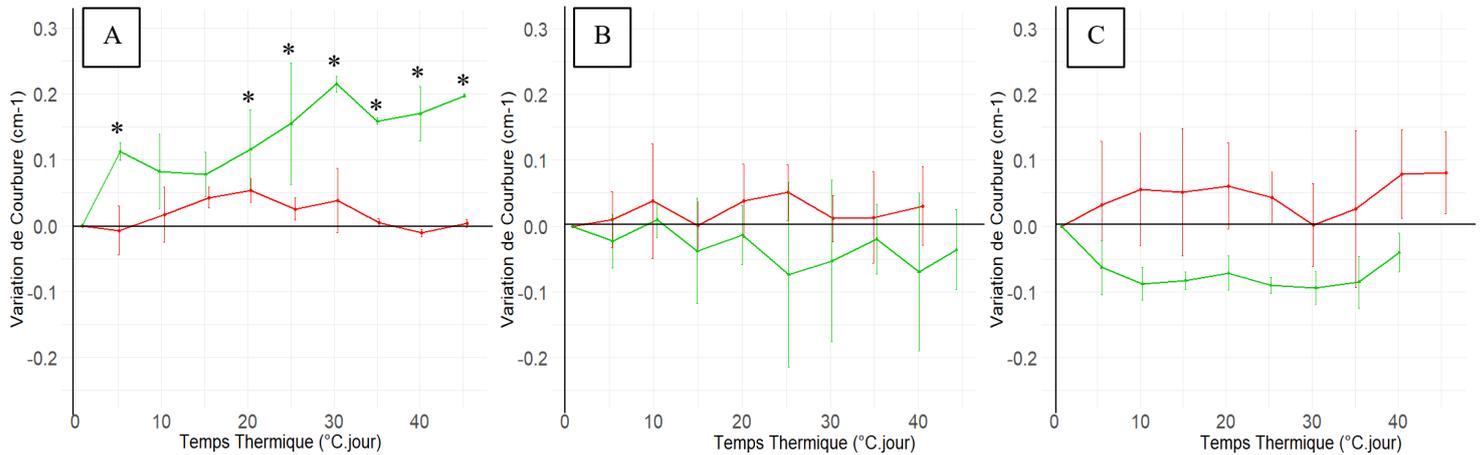


Figure 51 : Variation de courbure (cm⁻¹) en fonction du temps thermique (°C.jour) du pulvinus basal en fonction du génotype (EM ou D) aux 3 stades de développement étudiés. A = stade J+7 ; B = stade J+14 ; C = stade J+21. La courbe verte représente le génotype D et la courbe rouge le génotype EM. La variation de courbure est la courbure induite à la suite de l'inclinaison. Les étoiles représentent le seuil de significativité de différence entre deux valeurs (seuil à 0.05 avec le test de Student).

Le pulvinus basal du génotype D montre une activité de courbure significativement plus forte au stade le plus précoce par rapport aux stades intermédiaire et précoce (p-value inférieure à 0.05 ; test de Student ; Figure 51A.). En revanche, cette activité montre une chute brutale de 100% à partir du stade intermédiaire (passant de 0.19 cm⁻¹ à -0.03 cm⁻¹, en fin d'expérimentation). Il y a donc perte de la capacité de courbure du pulvinus basal, à partir du stade intermédiaire.

Quant au pulvinus basal du génotype EM, il ne montre aucune activité de courbure au cours du temps, et ce, pour tous les stades de développement (0.003 cm⁻¹ à J+7 ; 0.03 cm⁻¹ à J+14 ; 0.07 cm⁻¹ à J+21 à la fin de l'expérimentation). Il n'y a aucune différence significative ici entre les 3 stades de développement (p-value supérieure à 0.05 ; test de Student).

Si l'on compare nos deux génotypes pour ce pulvinus, nos résultats montrent qu'au stade le plus précoce, la variation de courbure est significativement différente entre le génotype EM et D (0.19 cm⁻¹ pour le génotype D contre 0.003 cm⁻¹ pour le génotype EM). À ce stade, le

pulvinus basal du génotype D montre encore une faible capacité de courbure, alors que celui du génotype EM n'en montre pas.

À partir du stade intermédiaire, le pulvinus basal de nos deux génotypes ne montre aucune variation et donc activité de courbure (-0.03 cm^{-1} à J+14 et J+21 pour D ; 0.03 cm^{-1} et 0.07 cm^{-1} à J+14 et J+21 pour EM).

Le pulvinus basal montre donc un comportement différent entre les deux génotypes. Chez le génotype EM, ce pulvinus ne montre aucune capacité de courbure, quel que soit le stade de développement. Le pulvinus basal du génotype D montre une faible capacité de courbure au stade J+7 mais cette capacité disparaît à partir du stade J+14. Nos résultats confirment les résultats préliminaires obtenus par le GDEC sur ce pulvinus.

ii. Pulvinus médian

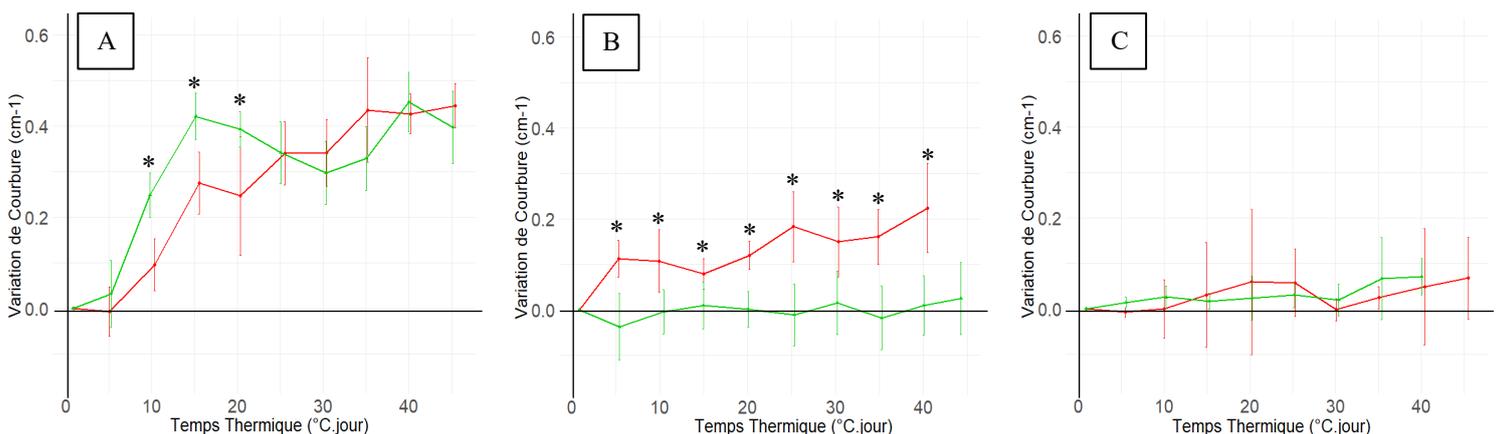


Figure 52 : Variation de courbure (cm^{-1}) en fonction du temps thermique ($^{\circ}\text{C}.\text{jour}$) du pulvinus médian en fonction du génotype, aux 3 stades de développement étudiés. A = stade J+7 ; B = stade J+14 ; C = stade J+21. La courbe verte représente le génotype D et la courbe rouge le génotype EM. La variation de courbure est la courbure induite à la suite de l'inclinaison. Les étoiles représentent le seuil de significativité de différence entre deux valeurs (seuil à 0.05 avec le test de Student).

Le pulvinus médian du génotype D montre au stade le plus précoce une variation de courbure positif et importante atteignant 0.39 cm^{-1} à la fin de l'expérience (Figure 52A.). Il est important de noter qu'à ce stade, la vitesse de courbure de ce pulvinus semble stagner au bout de $15^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ montrant possiblement l'arrivée à un « plafond d'activité » ($0.02 \text{ cm}^{-1}/^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ puis $0 \text{ cm}^{-1}/^{\circ}\text{C}.\text{jour}$).

À partir du stade intermédiaire, ce pulvinus montre une chute de 95% de sa variation de courbure (passant de 0.39 cm^{-1} à 0.02 cm^{-1} à la fin de l'expérimentation ; Figure 52B.). Cette chute brutale indique la perte de la capacité de courbure de ce pulvinus à partir du stade intermédiaire. Au stade tardif, la variation de courbure reste nulle au cours du temps (Figure 52C.)

Au niveau du génotype EM, le pulvinus médian montre une activité de courbure forte au stade le plus précoce (0.44 cm^{-1} à la fin de l'expérimentation ; Figure 52A.). Au stade intermédiaire, ce pulvinus montre une réduction de 50% de sa variation de courbure (0.44 cm^{-1} à 0.22 cm^{-1} à la fin de l'expérimentation). Enfin, au stade tardif, ce pulvinus montre une réduction de sa capacité de courbure de 72% (passant de 0.22 cm^{-1} à 0.06 cm^{-1}), arrivant pratiquement à une activité de courbure nulle à ce stade (Figure 52B. et 52C.). L'activité de courbure, entre les 3 stades de développement, est significativement différente (p-value en dessous de 0.05 ; test de Student). Au fil de l'avancée du stade de développement, la capacité de ce pulvinus à se courber est fortement réduite, et devient nulle au stade le plus tardif.

Si l'on compare nos deux génotypes, nous voyons que le pulvinus médian montre la même activité au stade le plus précoce avec des niveaux de variations de courbure globalement très proche (0.39 cm^{-1} contre 0.44 cm^{-1}). Nos génotypes montrent également la même forte vitesse de courbure de ce pulvinus durant les $20^{\circ}\text{C}.\text{jour}$, puis montre un ralentissement jusqu'à la fin de l'expérimentation ($0.02 \text{ cm}^{-1}/^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ pour D et $0.015 \text{ cm}^{-1}/^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ pour EM puis 0 et $0.008 \text{ cm}^{-1}/^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ à partir du second jour d'expérimentation).

Au niveau du stade intermédiaire, nos deux génotypes montrent des variations de courbures significativement différentes (test de Student : p-value inférieure à 0.05). À ce stade, le pulvinus D médian n'est plus capable de se courber contrairement au pulvinus médian EM. Les deux génotypes montrent donc, après le pulvinus basal, une autre différence de régulation et d'activité des pulvini.

Au stade J+21 (Figure 52C.), les pulvini médians des deux génotypes ne présentent aucune capacité de courbure, avec une variation de la courbure oscillante autour de 0 cm^{-1} durant l'expérimentation. Contrairement au pulvinus basal, le pulvinus médian semble montrer une capacité à se courber au stade J+14, avec des différences entre les deux génotypes.

iii. Pulvinus apical

Dans le cadre de l'étude préliminaire du GDEC, la variation de courbure du pulvinus apical ne semble pas être différente entre les génotypes.

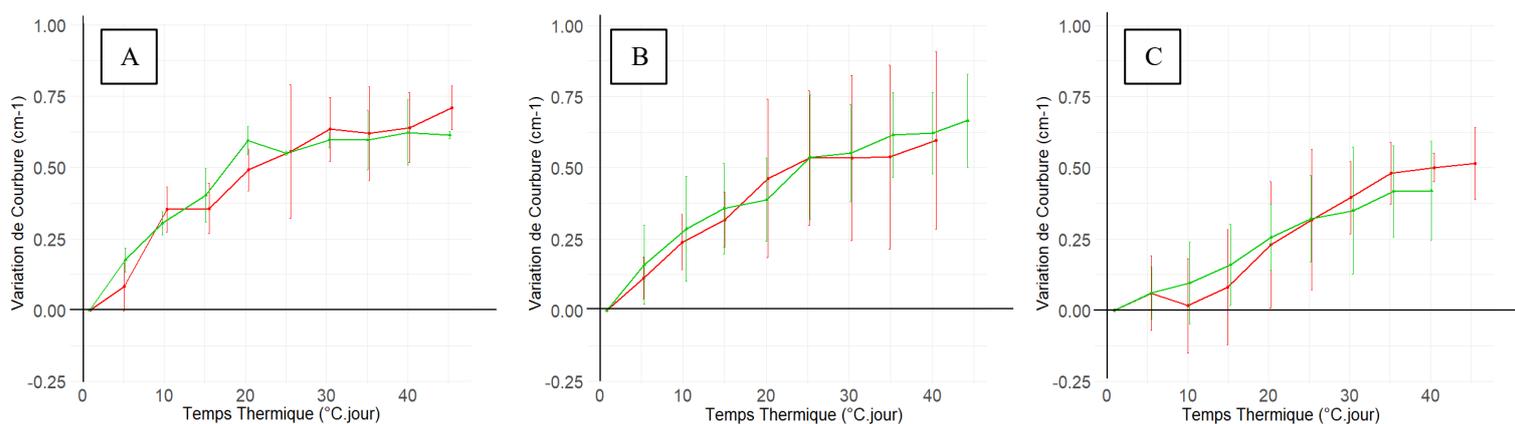


Figure 53 : Variation de courbure (cm^{-1}) en fonction du temps thermique ($^{\circ}\text{C}.\text{jour}$) du pulvinus apical en fonction du génotype EM ou D aux 3 stades de développement étudiés. A = stade J+7 ; B = stade J+14 ; C = stade J+21. La courbe verte représente le génotype D et la courbe rouge le génotype EM. La variation de courbure est la courbure induite à la suite de l'inclinaison.

Au niveau des tiges du génotype D, le pulvinus apical montre une forte variation de courbure au cours du temps, quel que soit le stade de développement (0.61 cm^{-1} à J+7 ; 0.66 cm^{-1} à J+14 ; 0.42 cm^{-1} à J+21 à la fin de l'expérimentation ; Figure 53). Entre le stade précoce et intermédiaire, cette variation est identique et ne montre pas de différence significative (test de Student ; $p\text{-value} = 0.78$). Cependant, en comparant avec le stade le plus tardif, une réduction significative de la variation de courbure est observée à partir de ce stade-là (test de Student ; $p\text{-value} = 0.02$ avec le stade précoce et $p\text{-value} = 0.04$ avec le stade intermédiaire). Le pulvinus apical montre un léger décrochage de sa capacité de courbure à partir du stade le plus tardif. Le pulvinus apical EM montre des forts niveaux de courbure identiques entre les 3 stades de développement étudié (0.49 , 0.08 et 0.27 de $p\text{-value}$; Test de Student). Le léger décrochage au niveau du génotype EM n'est pas présent ici.

iv. Conclusion

Nos premiers résultats montrent des différences de variation de courbure en fonction du stade de développement notamment au niveau du pulvinus basal et médian où on observe une décréue avec la progression de ce stade. Nous observons également des différences d'activité entre nos deux génotypes, avec un pulvinus basal plus actif chez le génotype D que chez le génotype EM ; mais un pulvinus médian plus longtemps actif et efficace au niveau du génotype EM que D.

2) Allongement des fibres collenchymateuses

Afin d'étudier l'allongement différentiel des fibres collenchymateuses entre la face inférieure et supérieure du pulvinus, une approche anatomique a été utilisée sur des pulvini basaux et médians gravistimulés. L'ensemble des résultats sont récapitulés dans la table I.

Table I. Longueur des fibres collenchymateuses (en μm) en fonction de la face, du génotype et de la position du pulvinus sur la talle de blé à la suite d'une inclinaison de 2 jours au stade J+7

	Face Supérieure	Face Inférieure
Génotype D		
Basal	286 (\pm 106)	666 (\pm 287)
Médian	214 (\pm 61)	508 (\pm 85)
Génotype EM		
Basal	221 (\pm 55)	727 (\pm 238)
Médian	193 (\pm 27)	506 (\pm 24)

A. Entre la face supérieure et inférieure du pulvinus basal

Nos résultats montrent que les fibres collenchymateuses de la face inférieure sont significativement plus longues que celle de la face supérieure du pulvinus basal chez nos deux génotypes (test de Wilcoxon ; p-value < 0.05). En moyenne, les fibres de la face inférieure sont 2.56 fois plus longues (292 μm (\pm 92) contre 739 μm (\pm 214) que la face supérieure chez le génotype D) et de 3.13 fois supérieure chez le génotype EM (223 μm (\pm 25) contre 681 μm (\pm 213). La Figure 52 présente la longueur des fibres collenchymateuses de la face inférieure en fonction de celle de la face supérieure. Le ratio entre les deux valeurs a été ajouté.

Des fibres longues sur une face n'impliquent pas forcément des fibres longues sur l'autre face (Figure 54). Les ratios de longueurs des fibres entre face inférieure et supérieure pour le pulvinus basal, sont compris entre 1.75 et 4.07. Il y a donc une différence importante de longueur et donc un allongement différentiel entre les deux faces.

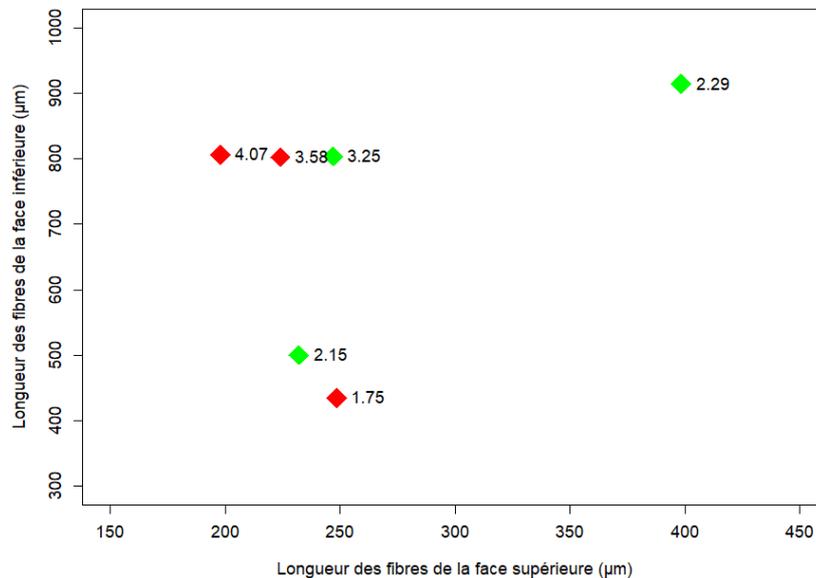


Figure 54 : Analyse de la longueur des fibres collenchymateuses entre la face supérieure et inférieure des pulvini basaux. Le ratio de ces longueurs a été ajouté. Ce ratio est obtenu en divisant la longueur des fibres de la face inférieure par la longueur des fibres de la face supérieure. Les points verts représentent les pulvini basaux du génotype D et les points rouges ceux du génotype EM

B. Entre la face supérieure et inférieure du pulvinus médian

Nos résultats montrent que les fibres collenchymateuses de la face inférieure sont significativement plus longues que celle de la face supérieure du pulvinus médian chez nos deux génotypes (test de Wilcoxon ; p -value < 0.05). En moyenne, les fibres de la face inférieure sont 2.40 fois plus longues ($214 \mu\text{m} (\pm 61)$) contre $508 \mu\text{m} (\pm 85)$ que la face supérieure chez le génotype D) et de 2.64 fois supérieure chez le génotype EM ($193 \mu\text{m} (\pm 27)$ contre $506 \mu\text{m} (\pm 24)$). La Figure 55 présente la longueur des fibres collenchymateuses de la face inférieure en fonction de celle de la face supérieure. Le ratio entre les deux valeurs a été ajouté. Comme pour le pulvinus basal, des fibres longues sur l'une des deux faces n'impliquent pas forcément des fibres longues sur l'autre face montrant bien qu'il y a eu un allongement différentiel. Les ratios pour le pulvinus médian, sont compris entre 2.20 et 2.91.

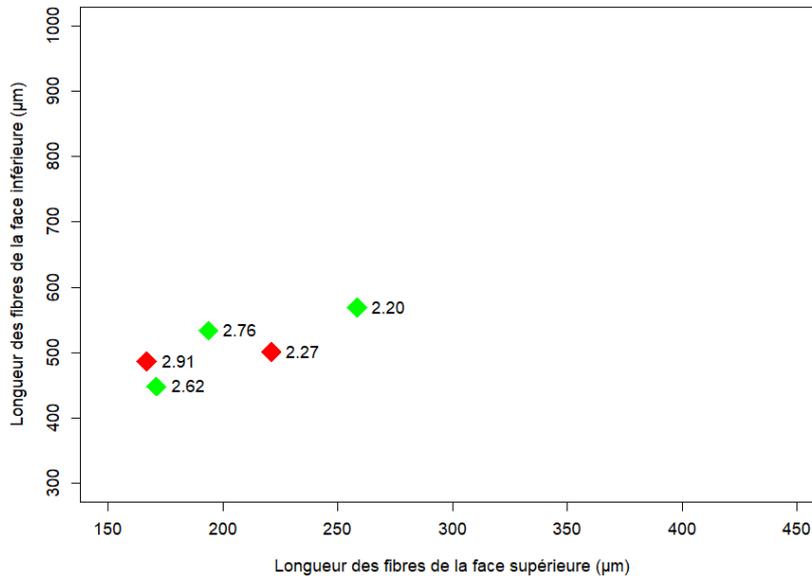


Figure 55 : Analyse de la longueur des fibres collenchymateuses entre la face supérieure et inférieure des pulvini médians. Le ratio de ces longueurs a été ajouté. Le ratio est obtenu en divisant la longueur des fibres de la face inférieure par la longueur des fibres de la face supérieure. Les points verts représentent les pulvini basaux du génotype D et les points rouges ceux du génotype EM. Les points verts représentent les pulvini médians du génotype D et les points rouges ceux du génotype EM.

3) Étude de l'auxine chez un pulvinus gravistimulé

L'auxine est l'une des hormones végétales les plus étudiées, et qui est impliquée dans de nombreux mécanismes. Afin de vérifier son rôle dans la mise en place de la courbure au niveau des pulvini, nous avons doser l'indole-3-acetic acid et immunolocaliser cette hormone pour les 3 pulvini et chez nos 2 génotypes.

A. Dosage de l'indole-3-acetic acid

Le faible nombre de répétitions biologiques pour cette expérimentation ne permet pas de réaliser des tests statistiques assez puissants pour évaluer la présence ou non de différences significatives entre les deux faces d'un même pulvinus.

Les teneurs en indole-3-acetic acid entre nos deux génotypes ont été poolés afin de voir si le gain en répétition permettait de révéler un effet de la face ou de la position le long de la tige. Une ANOVA 2 non paramétrique montre un effet significatif de la face mais pas de la position sur la teneur en indole-3-acetic acid (p-value de 0.001 pour la face et 0.40 pour la position) (Figure 56). Au niveau du pulvinus basal, les teneurs en indole-3-acetic acid des deux faces sont très proches (15.43 ng/gDW (\pm 1.86 ng/gDW) pour la face supérieure contre 19.16 ng/gDW (\pm 6.49 ng/gDW) pour la face inférieure). Il semble donc y avoir une absence de gradient d'indole-3-acetic acid au niveau de ce pulvinus chez le blé.

Au niveau du pulvinus médian, les teneurs en indole-3-acetic acid de la face inférieure sont 2 fois plus importante par rapport à la face supérieure (11.55 ng/gDW (\pm 2.04 ng/gDW) pour la face supérieure contre 20.67 ng/gDW (\pm 3.48 ng/gDW) pour la face inférieure). Cependant, le faible nombre de répétitions réduit la puissance des tests statistiques qui ne révèlent pas de différences significatives.

Enfin, au niveau du pulvinus apical, l'indole-3-acetic acid montre des niveaux 1.5 fois supérieure sur la face inférieure par rapport à la face supérieure (15.28 ng/gDW (\pm 5.10 ng/gDW) pour la face supérieure contre 23.78 ng/gDW (\pm 2.26 ng/gDW) pour la face inférieure). Comme pour le pulvinus médian, le faible nombre de répétitions réduit la puissance des tests statistiques qui ne révèlent pas de différences significatives.

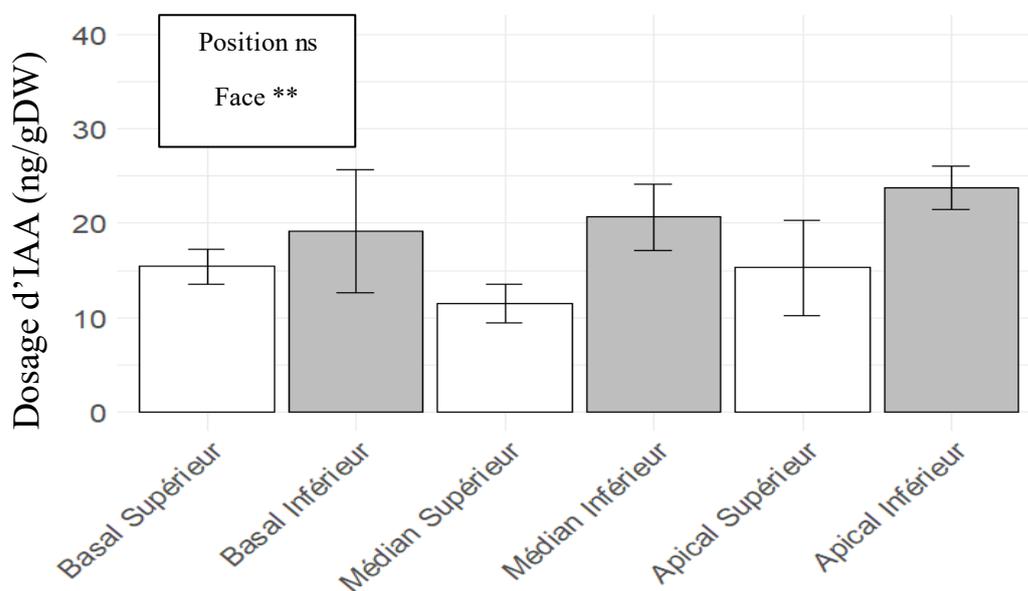


Figure 56 : Quantification de l'indole-3-acetic acid en fonction de la face du pulvinus chez le blé.

Les barres blanches représentent la face supérieure du pulvinus, et les barres grises les faces inférieures. Chaque donnée représente une moyenne de la teneur d'indole-3-acetic acid du génotype

EM et D. Les barres noires fines représentent les écarts-types de chaque moyenne. Un test ANOVA 2 a été réalisé pour évaluer l'effet face et position.

B. Immunolocalisation de l'auxine

Nos résultats montrent que le marquage de l'auxine semble être plus présent au niveau du pulvinus que de la tige (Figure 57A). Au sein du pulvinus, nous voyons une prédominance de du marquage de l'auxine au niveau des amas collenchymateux et autour de la zone des vaisseaux cribro-vasculaires présents. Cependant, l'auxine est également retrouvée de manière plus dispersée dans la gaine parenchymateuse.

Nous pouvons également noter un gradient de marquage de l'auxine entre le pulvinus apical, médian et basal (Figure 57B). Une première description montre que l'auxine semble être plus présente dans le pulvinus apical, puis décroît jusqu'au pulvinus basal.

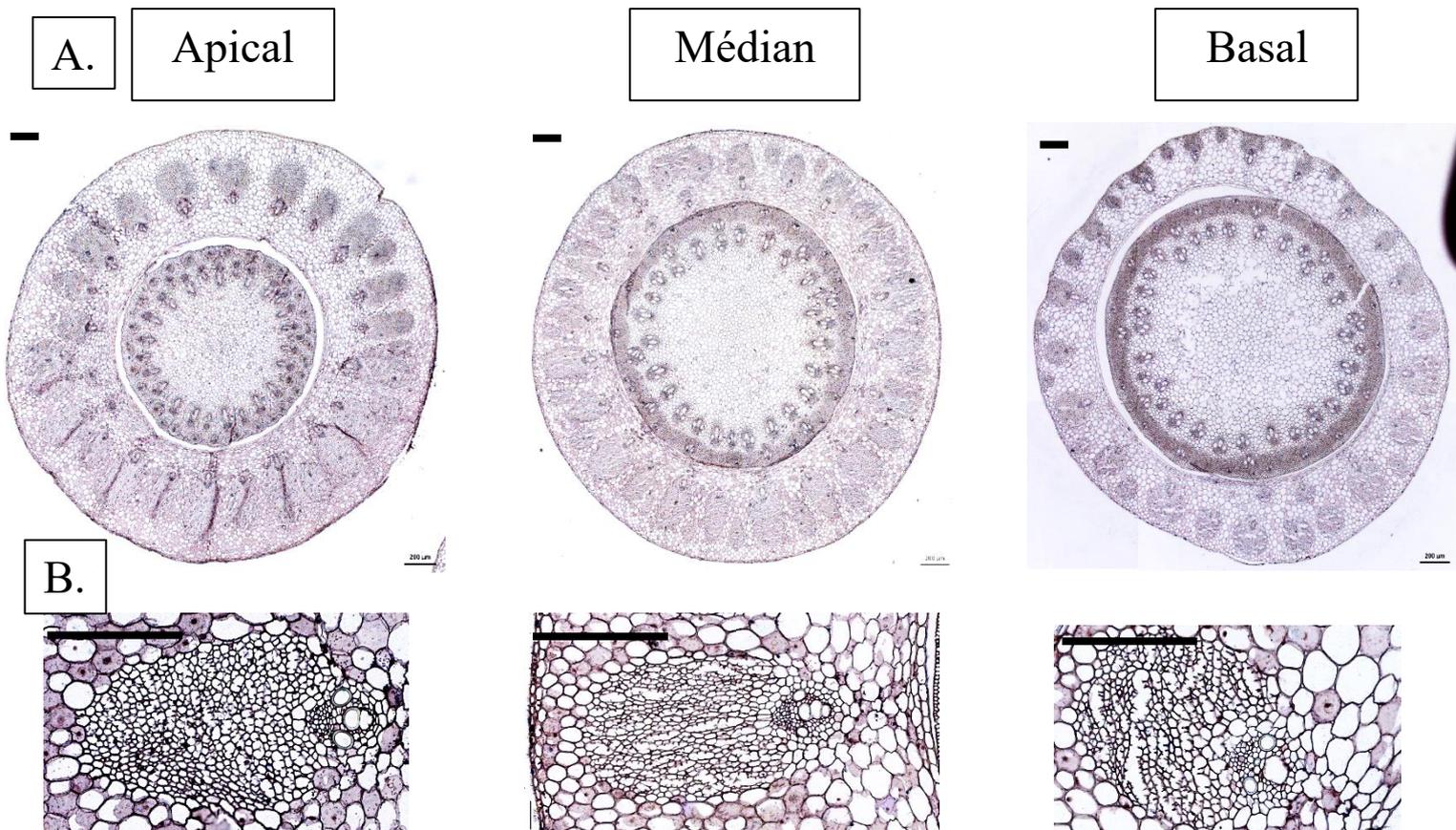


Figure 57 : Immunolocalisation de l'auxine au sein des pulvini de talle versée du génotype EM.

A = Immunolocalisation globale de l'auxine sur l'ensemble du pulvinus. La coloration rosée montre la

présence d'auxine. Échelle : 200 μm . B = Immunolocalisation de l'auxine avec un focus au niveau des amas collenchymateux du pulvinus. Échelle = 100 μm (Photo : Nicole Brunel-Michac).

4) Capacité proprioceptive des pulvini chez le blé

Afin d'étudier et de démontrer la capacité proprioceptive du blé, nous avons réalisé une étude de la cinématique via l'utilisation des sphères isotropes et agravitropes (Figure 58). Cette stratégie a pour intérêt de suspendre le phototropisme et le gravitropisme et étudier le comportement de la talle de blé dans un contexte autotropique stricte.

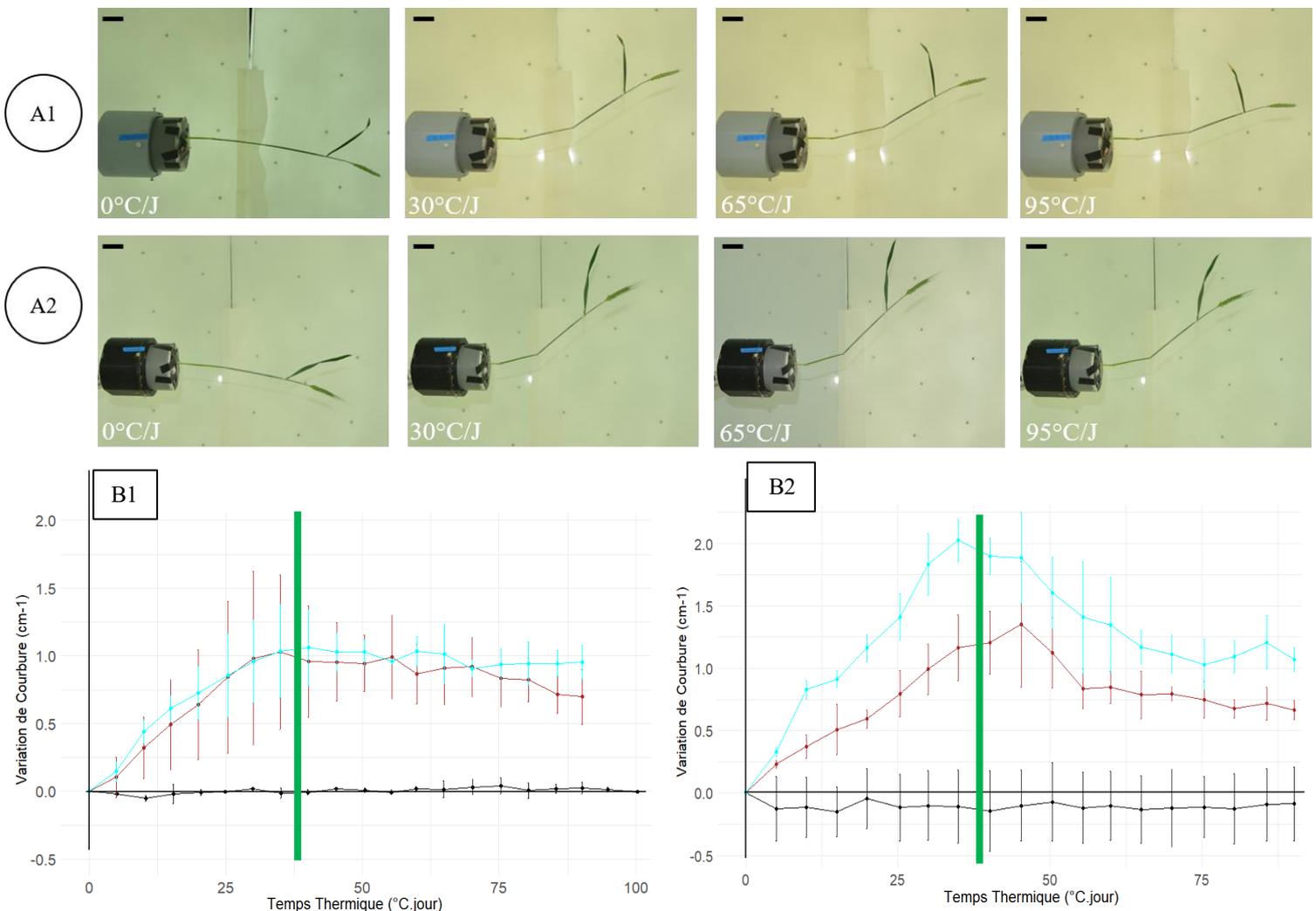


Figure 58 : Etude de la capacité proprioceptive de la talle de blé. Time-lapse de l'évolution du mouvement du blé en dispositif sphère (A1 & A2). L'expérimentation s'est déroulée en sphère isotrope et agravitrope durant 7 jours. De 0°C.jour à 30°C.jour, la talle de blé est en condition gravi- et

autotropique. De 30°C.jour à 95°C.jour, la talle de blé est en condition autotropique stricte. A1 : Génotype EM ; A2 : Génotype D. Échelle = 5 cm. Temps = Temps thermique en degrés.jour. Variation de courbure (cm^{-1}) en fonction du temps thermique ($^{\circ}\text{C}.\text{jour}$) des 3 pulvinis chez nos deux génotypes (B1 & B2). B1 = Génotype EM ; B2 = Génotype D. La courbe noire représente le pulvinus basal, la courbe marron représente le pulvinus médian et la courbe bleue le pulvinus apical. Le segment vertical vert représente le jour de l'activation du clinostat. La variation de courbure est la courbure induite à la suite de l'inclinaison.

Le pulvinus basal de nos génotypes ne montre aucune courbure durant la phase gravitropique et autotropique. L'activation de la clinorotation n'engendre pas de modification de la variation de courbure de ce pulvinus (Figure 58B1. et 58B2.).

Pour les deux génotypes, le pulvinus médian montre une courbure croissante avant activation du clinostat, qui s'inverse et devient décroissante après activation du clinostat. Au niveau des talles du génotype D, le pulvinus médian montre une variation de courbure de 1.02 cm^{-1} au bout de $35^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ contre 1.16 cm^{-1} au même temps chez le génotype EM (Figure 58B1. et 58B2.). Dans cette phase, la variation de courbure n'est pas différente entre nos deux génotypes. Dès l'activation du clinostat, le pulvinus médian montre un mouvement de décourbure chez nos génotypes, montrant une baisse du niveau de courbure de 43% pour les talles du génotype D et de 40% pour le génotype EM (Figure 59A.). Cette baisse de la variation de courbure est plus franche dès les premières heures de la clinorotation. La variation de courbure se stabilise jusqu'à la fin de l'expérimentation autour de 0.66 cm^{-1} pour les médians du génotype EM (différent de 0 ; p-value de 0.004 ; test t bilatéral) et de 0.58 cm^{-1} pour ceux du génotype D (différent de 0 , p-value de 0.04 ; test t bilatéral).

Le pulvinus apical montre un mouvement de courbure durant la phase de flexion vers le haut. Chez le génotype D, la variation de courbure maximum est de 2.02 cm^{-1} au bout de $35^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ et de 1.03 cm^{-1} au même temps pour la talle du génotype EM. Après la mise en place de la clinorotation, le pulvinus apical montre un mouvement de décourbure, par une baisse de la variation de courbure d'environ 47% pour le génotype D mais seulement de 10% au niveau des talles du génotype EM (Figure 59). Comme pour le pulvinus médian, cette baisse de la variation de courbure est plus rapide et franche dès l'activation de la clinorotation (sur le génotype D). La courbure tend à se stabiliser et stagne $10^{\circ}\text{C}.\text{jour}$ après cette activation, autour de 1.08 cm^{-1} pour le génotype EM (différent de 0 ; p-value de 0.001 ; test bilatéral) et de 1.23 cm^{-1} pour le génotype D (différent de 0 ; p-value de 0.005 ; test t bilatéral). Les valeurs de stabilisations de

tous les pulvini sont différentes de 0, indiquant que les talles ne deviennent pas rectilignes durant la clinorotation et que ce mouvement est incomplet.

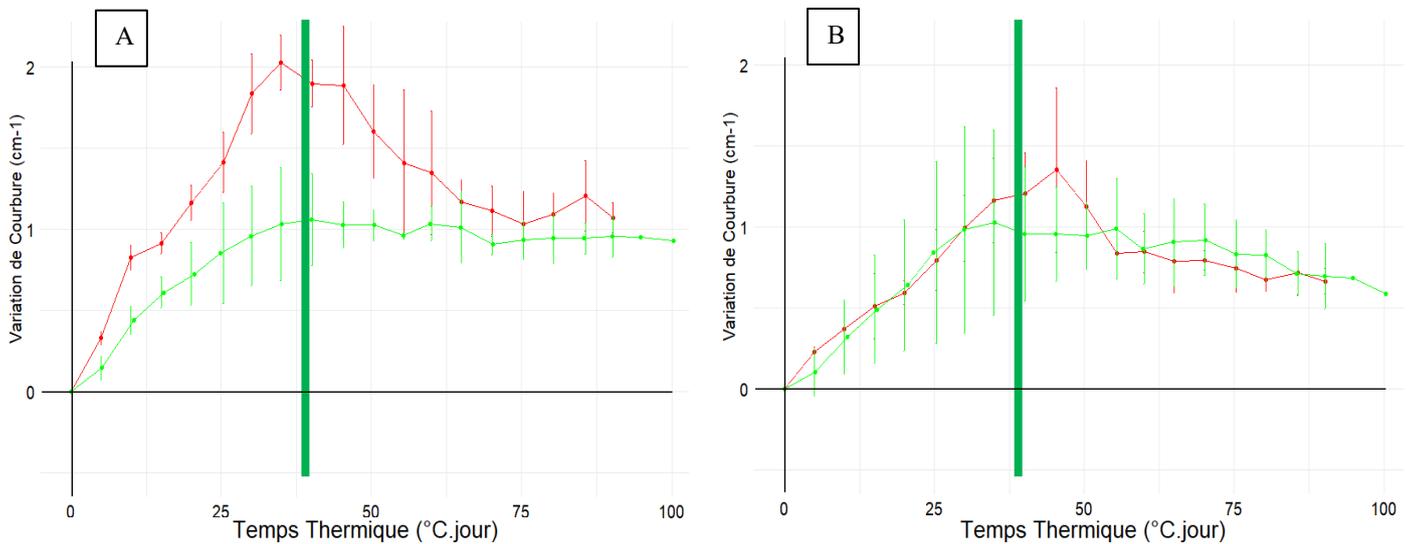


Figure 59 : Variation de courbure (cm⁻¹) en fonction du temps thermique (°C.jour) des 2 pulvini en fonction de nos deux génotypes. A = Pulvinus Apical ; B = Pulvinus Médian. La courbe verte représente le génotype D et la courbe rouge le génotype EM. Le segment vertical vert représente le moment d'activation de la clinorotation. La variation de courbure est la courbure induite à la suite de l'inclinaison.

5) Etude de l'état de lignification des fibres collenchymateuses et de son impact lors de la phase de courbure vers le haut du blé

Afin d'étudier l'impact de la lignification des amas collenchymateux des pulvini sur le redressement des talles de blé, une approche anatomique et cytologique a été utilisée en analysant des coupes de pulvinus colorés au phloroglucinol chez nos deux génotypes et à divers stades de développement.

A. Rôle de la lignification des fibres collenchymateuses dans la courbure des pulvini

Dans un premier temps, l'influence du stade de développement sur l'état de lignification des amas de fibres collenchymateuses a été analysée en comparant les génotypes D et EM et les

niveaux de pulvinus (apical, médian, basal) (Figure 60). Ces pourcentages représentent la part des amas collenchymateux montrant une lignification. Chez les talles de blé non-inclinées, les pulvini apicaux ne présentent aucune lignification quel que soient le génotype ou le stade de développement étudié.

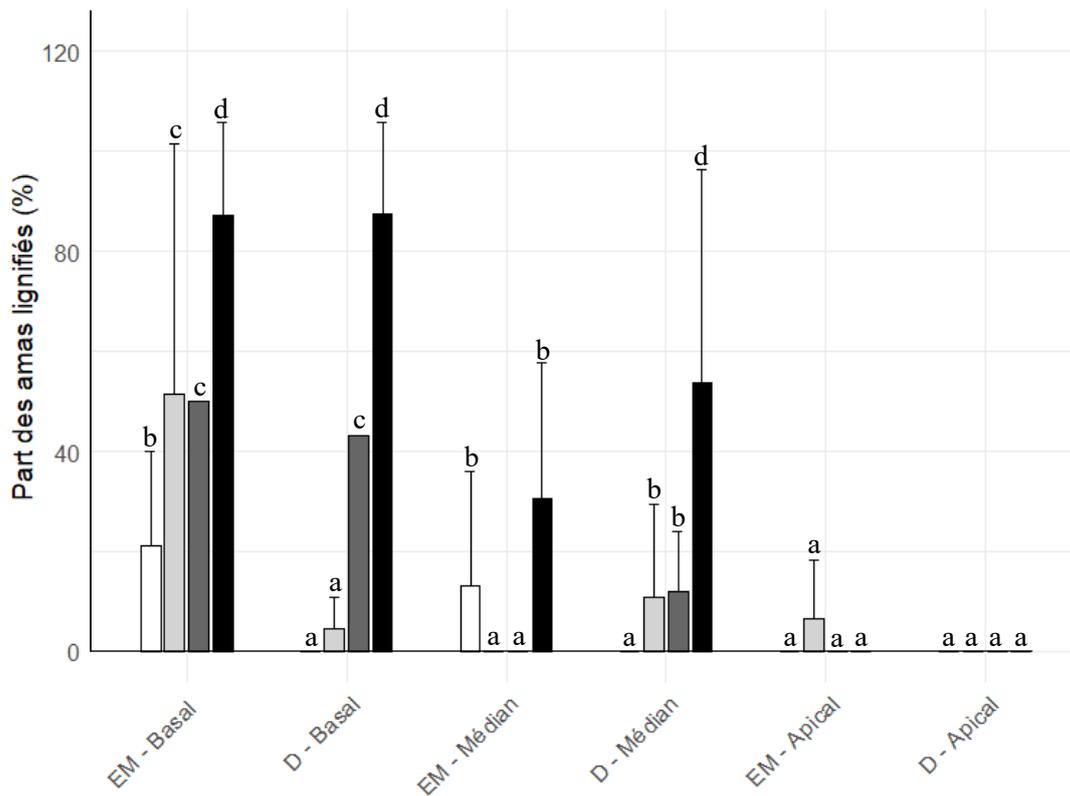


Figure 60 : État de lignification des amas de fibres collenchymateuses du pulvinus en fonction du génotype, de la position du pulvinus sur la talle et du stade de développement. Barre blanche = stade J+7 ; barre gris clair = stade J+10 ; barre gris foncé = stade J+14 et barre noir = stade +21. Les barres noirs fines représentent les écarts-types de chaque moyenne, et les lettres la significativité des résultats (test de Tukey avec p-value inférieure à 0.05)

Au niveau des pulvini médians, la lignification est très faible voire absente aux stades J+7 et J+14, quel que soit le génotype avec des valeurs oscillant entre 0% et 13%. Cette lignification n'est observable qu'au stade le plus tardif, à J+21, avec un pourcentage de 30.57% ($\pm 27.11\%$) pour le génotype EM et 53.69% ($\pm 42.78\%$) pour le génotype D, mais sans que ces valeurs soient significativement différentes.

Au contraire des pulvini apicaux et médians, les pulvini basaux des talles de blé non-inclinés présentent un fort pourcentage de lignification des amas de fibres collenchymateuses dès le stade J+7. Au stade J+7, la lignification moyenne au sein du pulvinus basal du génotype EM

est de 21.22% ($\pm 18.79\%$) contre 0% chez le génotype D. Au stade J+10, soit 3 jours plus tard, le pulvinus basal EM présente un état de lignification significativement plus important que celui du génotype D (51.42% ($\pm 50.05\%$) pour le génotype EM contre 4.54% ($\pm 6.42\%$) pour le génotype D). Dans les stades de développements plus tardifs, les états de lignification des individus témoins ne sont pas différents entre les génotypes.

En résumé, en absence de gravistimulation, les deux génotypes présentent une lignification des amas de fibres collenchymateuses des pulvini basaux dès le stade J+7. L'initiation de cette lignification ainsi que sa progression semblent différer selon le génotype considéré. Concernant le pulvinus médian, la lignification débute faiblement à partir du stade intermédiaire et devient plus conséquente à partir du stade le plus tardif (stade J+21). Pour le pulvinus apical, aucune lignification n'est présente.

B. Effet de la gravistimulation sur la lignification des amas de fibres collenchymateuses

1. Pulvinus apical et médian

Au stade précoce et intermédiaire, les pulvini médians et apicaux ne présentent aucune lignification des amas collenchymateux. Au stade le plus tardif, une très faible augmentation de la lignification des amas de fibres collenchymateuses a été observé au niveau du pulvinus médian (autour de 10%) ce qui n'est pas le cas pour le pulvinus apical où la lignification reste absente. Ces pulvini ne montrent pas de différence entre des individus témoins et inclinés, démontrant que l'inclinaison de ces pulvini n'engendrent pas une lignification plus importante. Il n'y a pas non plus de différence entre les deux faces du pulvinus chez les individus inclinés puisque dans la très grande majorité des cas, la lignification est totalement absente.

2. Pulvinus basal

Au stade précoce, le pulvinus basal des talles de blé du génotype EM ne montre pas de différence significative de lignification entre les individus témoins et les individus inclinés quel que soit le stade de développement (test de Tukey, p-value supérieure à 0.05 ; Figure 61). L'inclinaison n'engendre pas de lignification plus importante des amas collenchymateux dans ce pulvinus (Figure 61A.). En revanche, une augmentation de la lignification est visible entre les individus témoins et inclinés au niveau du génotype D. La lignification est nulle pour les individus J+7 et J+10 (0% et 2.88% ($\pm 6.42\%$) respectivement) mais montre une forte

augmentation chez les individus inclinés (64.58% ($\pm 17.67\%$) pour les individus J+7+1 et de 29.12% ($\pm 25.22\%$) pour les individus J+7+3). La gravistimulation des talles de blé au stade le plus précoce (J+7) semble donc stimuler la lignification des amas de fibres du pulvinus basal, mais chez le génotype D uniquement.

Aux stades les plus tardifs, les amas collenchymateux sont très lignifiés chez les individus du génotype EM (entre 75% et 100% des amas lignifiés). L'état de lignification entre le stade J+14 et J+21 (versé ou non) ne montre pas de différence significatives (Test de Tukey ; p-value à 0.05 ; Figure 61B.). Dans le pulvinus basal du génotype D, aux stades J+14 et J+21, les pulvini sont déjà partiellement lignifiés (50% des amas lignifiés à J+14 et J+14+1 et 85% à J+21 et J+21+1) mais il n'y a pas de différence significative entre les individus témoins et les individus inclinés. Il n'y a donc pas d'effet de l'inclinaison sur la lignification des amas des fibres collenchymateuses dans le pulvinus basal du génotype D aux stades J+14 et J+21.

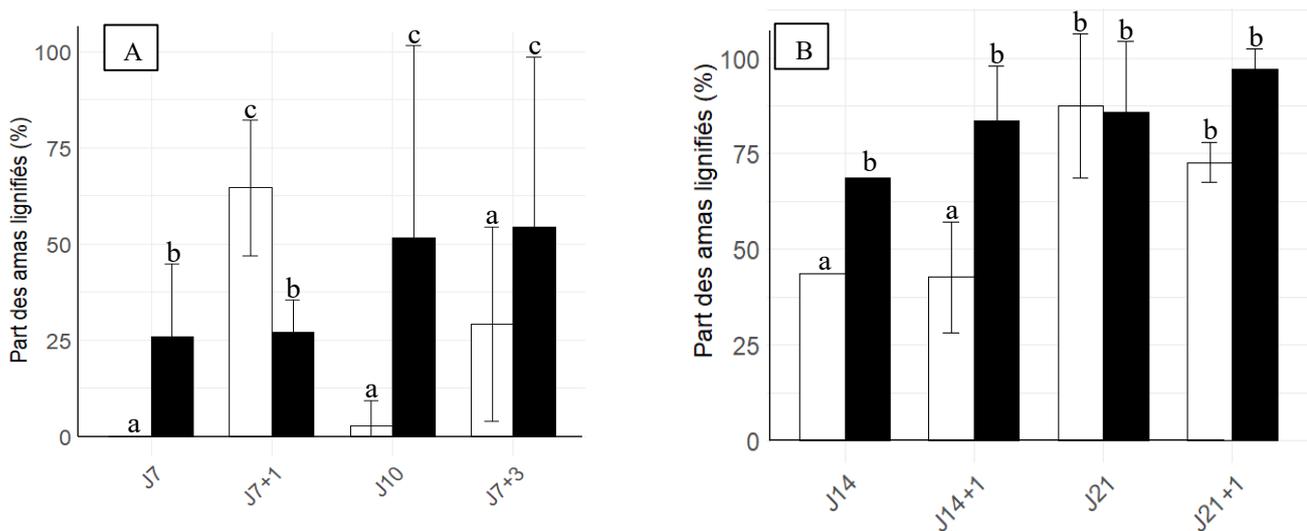


Figure 61 : État de lignification des amas du pulvinus basal en fonction du génotype et du stade de développement. Barre blanche = Génotype D ; Barre noire = Génotype EM. A = Stade J+7 et J+10. B = Stade J+14 et J+21. Les barres noirs fines représentent les écarts-types de chaque moyenne, et les lettres la significativité des résultats (test de Tukey avec p-value inférieure à 0.05).

En étudiant l'état de lignification des amas collenchymateux en fonction de la face, nous voyons au stade le plus précoce (stade J+7 avec 1 jour de verse ; Figure 62A.), que pour le génotype EM, les amas de la face supérieure sont plus lignifiés que ceux de la face inférieure (EMBSF vs EMBFI: 43.85% ($\pm 10.10\%$) vs 8% ($\pm 13.58\%$)). Le génotype D montre un pattern inverse, avec une lignification plus importante sur la face inférieure par rapport à la face supérieure (DBFS vs DBFI : 12.5% ($\pm 0\%$) vs 90.62% ($\pm 13.25\%$)). Cette tendance se retrouve de nouveau

au stade J+7 et 3 jours de verse (Figure 62B.) seulement au niveau du génotype D ($2\% \pm 3.60\%$ pour la face supérieure et $54.71\% \pm 45.95\%$ pour la face inférieure). Les deux faces du génotype EM ne montrent pas de différence significative ici.

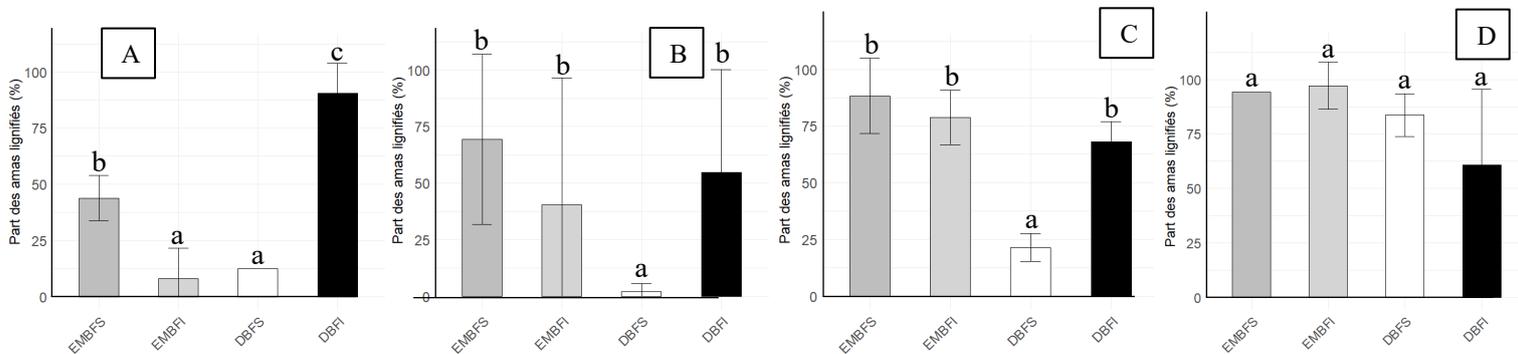


Figure 62 : Comparaison de l'état de lignification des amas de fibres entre la face inférieure et supérieure du pulvinus basal en fonction du génotype et du stade de développement. A = Stade J+7 et 1 jour de verse ; B = Stade J+7 et 3 jours de verse ; C = Stade J+14 et 1 jour de verse ; D = Stade J+21 et 1 jour de verse. EMBFS correspond à la face supérieure du pulvinus basal du génotype EM, EMBFI à la face inférieure du pulvinus génotype EM, DBFS à la face supérieure du pulvinus basal du génotype D et DBFI à la face inférieure du pulvinus basal du génotype D. Les barres noires fines représentent les écarts-types de chaque moyenne, et les lettres la significativité des résultats (test de Tukey , p-value inférieure à 0.05).

Chez le génotype EM, au stade J+14, et après 1 jour de verse, on n'observe plus de différence significative du niveau de lignification entre les deux faces ($88.23\% \pm 16.63\%$ pour la face supérieure et $78.78\% \pm 11.95\%$ pour la face inférieure). Le génotype D quant à lui montre une nouvelle fois une différence significative de lignification entre les deux faces ($21.42\% \pm 11.95\%$ pour la face supérieure et $68.08\% \pm 8.87\%$ pour la face inférieure).

Enfin, au stade J+21 et 1 jour de verse, que ce soit pour le génotype EM ($94.11\% \pm 0\%$ pour la face supérieure et $97.11\% \pm 10.82\%$ pour la face inférieure) ou pour le génotype D ($83.63\% \pm 9.79\%$ pour la face supérieure et $60.78\% \pm 34.69\%$ pour la face inférieure), il n'y a pas de différence significative entre les deux faces du pulvinus. Chez les deux génotypes, les taux de lignifications sont très importants au stade J+21, avec pratiquement l'ensemble des amas du pulvinus basal qui sont lignifiés. Les photos de ce pulvinus et pour nos deux génotypes sont présentées dans la Figure 63.

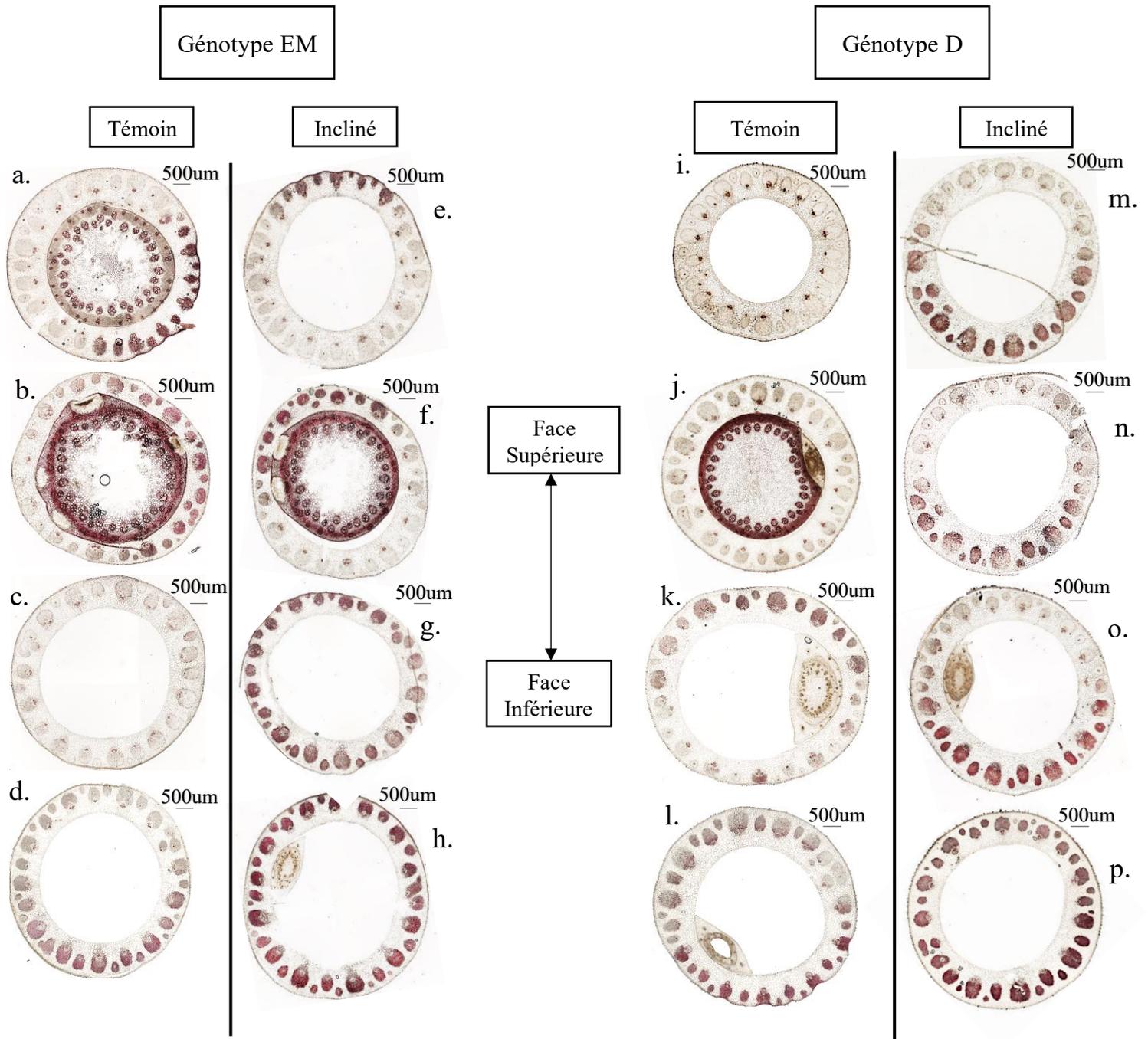


Figure 63 : Coupes anatomiques de l'état de lignification des pulvini pour le génotype EM (a. à h.) et le génotype D (i. à p.). La coloration rouge montre la présence de lignine. Échelle = 500 µm. Les coupes a., b., c., d., i., j., k et l. représentent les pulvini témoins non inclinés au stade J+7 (a. pour EM et i. pour D), stade J+10 (b. pour EM et j. pour D), stade J+14 (c. pour EM et k. pour D), stade J+21 (d. pour EM et l. pour D). Les coupes e., f., g., h., m., n., o. et p. représentent les pulvini des individus inclinés du stade J+7 (e. pour EM et m. pour D), stade J+10 (f. pour EM et n. pour D), stade

J+14 (g. pour EM et o. pour D) et du stade J+21 (h. pour EM et p. pour D). Ces coupes sont orientées, avec la face supérieure en haut.

III/ Discussion du chapitre III

Le blé, comme les autres Poacées, présente la particularité d'avoir un système sensori-moteur articulé. La rectification de la posture est permise par une structure spécialisée sur la talle nommée pulvinus. Le mécanisme moteur est identique à celui rencontré chez les herbacées dicotylédones comme Arabidopsis, avec une élongation différentielle entre les deux faces qui engendre un mouvement de courbure vers le haut. Cette expérimentation avait pour objectif de mieux comprendre le phénomène de résilience du blé suite à une inclinaison, mais aussi d'approfondir nos connaissances sur les mécanismes et éléments pouvant impacter ce redressement. Nos résultats apportent des connaissances scientifiques sur l'ensemble de ces points.

L'étude de la cinématique du redressement de la talle établit des modèles de régulation et d'activité des pulvini différents chez le blé

Étude de la cinématique de mouvement en lien avec le modèle gravi-proprioceptif du modèle AC

La cinématique de mouvement de redressement de la talle de graminée a été peu décrite par la communauté scientifique. Dayanandan et al. en 1976 montrent chez l'avoine, à un stade plus précoce que notre étude (épi sur le point d'émerger chez Dayanandan et al. en 1976 contre un stade où l'épi est sorti depuis quelques jours dans notre expérimentation), que le redressement est rapide durant la première journée suivant la gravistimulation avec un gain de 50° en 24h, soit une vitesse de 2°/h (Dayanandan et al., 1976).

La cinématique de mouvement de la talle de blé montre deux phases. La première est une phase de redressement forte induite par une vitesse rapide, phase plus ou moins intense en fonction du stade de développement. On observe un gain moyen de 32° lors de la première journée pour le stade le plus précoce, de 18.5° pour le stade intermédiaire et de 14° au stade le plus tardif. Ces vitesses sont donc plus lentes chez le blé que l'avoine lors de cette première phase (1.33°/h au stade le plus précoce et 0.58/h au stade le tardif contre 2°/h pour l'avoine – Dayanandan et al., 1976). La différence de vitesse peut s'expliquer par un stade de développement différent

(10 jours d'écart), par l'impact du poids de l'épi (non émergé dans le premier cas, émergé dans l'autre), ou de la température. La seconde phase de la cinématique montre un ralentissement du redressement, avec des vitesses 2 à 3 fois plus faibles que durant la première phase ($0.52^\circ/\text{h}$ à J+7 ; $0.62^\circ/\text{h}$ à J+14 et $0.37^\circ/\text{h}$ à J+21).

À partir de nos résultats, il est possible de tester notre première hypothèse, à savoir que ce ralentissement est lié à la perception par les pulvini de la décroissance de leur inclinaison par rapport à la verticale, et de l'augmentation de leur courbure.

Nous l'avons testé au stade J+7, où la capacité de redressement est maximale, et sur le pulvinus apical, qui est celui qui, pour des raisons géométriques, a la plus grande variation d'angle au cours de la phase de courbure vers le haut (puisque celle-ci intègre aussi l'action des pulvini plus basaux, amplifiée par l'effet bras de levier des entrenoeuds).

La Figure 64 montre une évolution typique du pulvinus apical (sur le géotype D). La Figure 64A. présente l'évolution de la courbure locale C de ce pulvinus en fonction de son angle par rapport à la verticale. L'angle montre une forte augmentation au cours de l'expérimentation (passant de 40 à 90° ; par rapport à la verticale). Dans la phase précoce (angle passant de 40 à 50°), l'évolution de l'angle A est complètement décorrélée de celle de la courbure locale du pulvinus apical (Figure 64A.). Par la suite, il existe une réelle corrélation entre l'évolution de l'angle A et de la courbure C locale jusqu'à la fin de l'expérimentation. Il est donc possible de tester la dépendance de la vitesse de courbure (DC/Dt où le temps est exprimé en temps thermique) en fonction de la perception de l'angle à la verticale et de la courbure. Cette dépendance est représentée graphiquement en 3D sur la Figure 64B1., et pour chacune des variables sur les Figures 64B2. et 64B3. Ces graphiques montrent que la vitesse de courbure diminue linéairement lorsque l'angle A par rapport à la verticale diminue (c'est-à-dire que le pulvinus s'approche de la verticale). Par ailleurs, cette vitesse diminue linéairement avec l'augmentation de la courbure locale C du pulvinus.

De manière globale, ce schéma est cohérent avec le modèle gravi-proprioceptif proposé par Bastien et al. en 2013, ce qui valide notre première hypothèse sur le déterminisme de la cinématique de redressement.

Il faut noter que la relation avec l'angle d'inclinaison par rapport à la vertical (Figure 64B2.) présente un intercept non nul, dans notre exemple $A_0 = 44.4^\circ$. Lorsque $A(t) = A_0$, le pulvinus arrête toute activité de courbure. Si tous les pulvini présents sur la talle font de même, la talle se stabilise à un angle A_0 , qui joue donc le rôle d'un angle de consigne pour le gravitropisme (Gravitropic Set-point Angle, GSA).

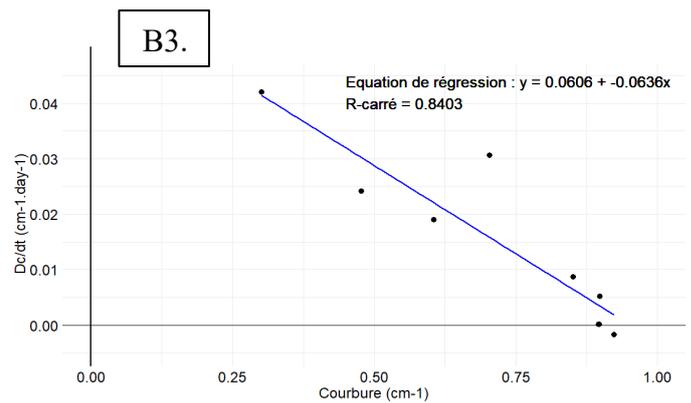
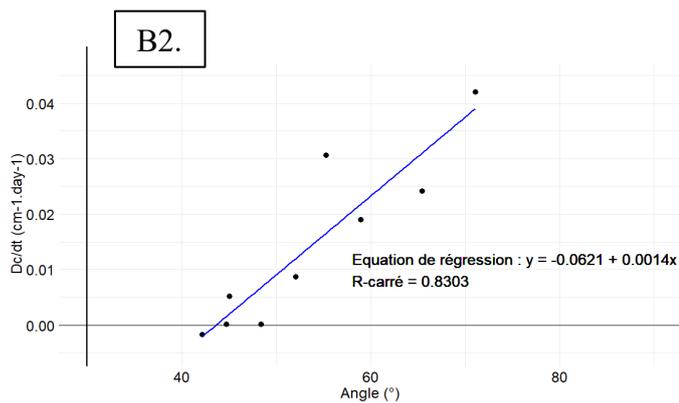
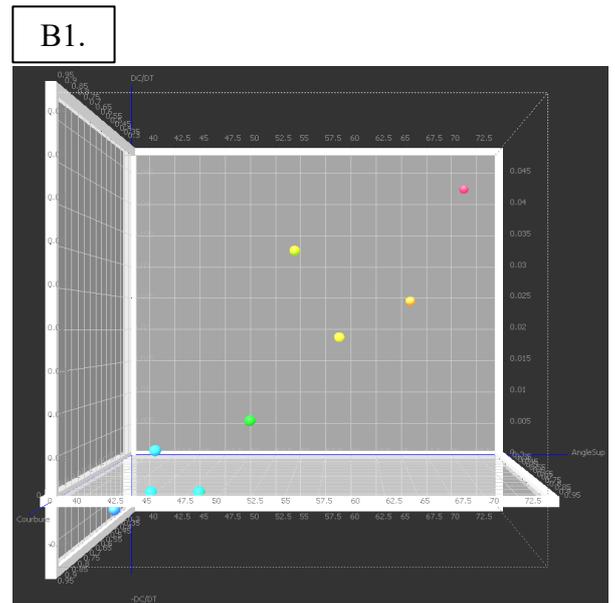
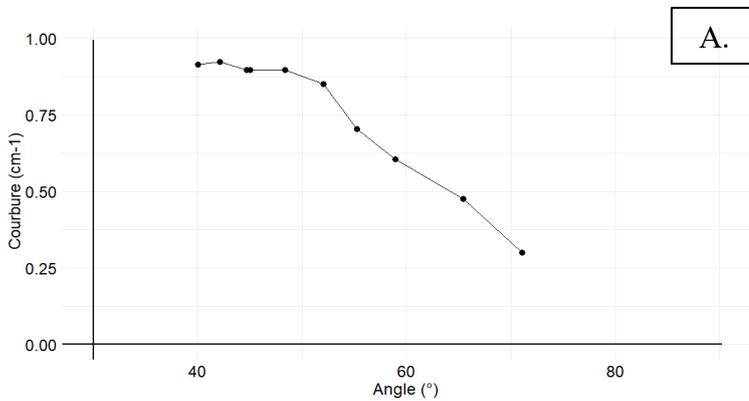


Figure 64 : Évaluation du redressement du pulvinus apical au stade J+7 du génotype D au sein du modèle gravi-proprioceptif AC. A = Évolution de la courbure en fonction de l'angle par rapport à la verticale. B1 = représentation 3D de la dépendance de la vitesse de courbure Dc/dt en fonction de la perception de l'angle par rapport à la verticale et la courbure locale. B2 = Évolution de la vitesse de courbure Dc/dt en fonction de l'angle par rapport à la verticale, avec sa régression linéaire et R-carré. B3 = Évolution de la vitesse de courbure Dc/dt en fonction de la courbure locale, avec sa régression linéaire et R-carré.

La talle est donc plagiotrope. Cet élément est à mettre en lien avec le fait que ce sont des talles latérales (Abe et al., 1996). Plus globalement, il semble que le comportement des pulvini de la talle de blé suive l'extension du modèle gravi-proprioceptif AC (Bastien et al., 2013) au niveau des tiges latérales, proposée par Moulia et al. en 2022 :

$$\frac{\delta C(t)}{\delta t} = -\beta(A(t) - A_0) - \gamma C(t)$$

Avec $A(s,t)$ l'angle d'inclinaison ; $C(s,t)$ la courbure locale , t le temps , $\frac{\delta C(t)}{\delta t}$ la vitesse de variation de la courbure. β , la sensibilité graviperceptive ; γ , la sensibilité proprioceptive et A_0 l'angle de consigne pour le gravitropisme (Gravitropic Set-point Angle, GSA).

Cependant, pour l'affirmer complètement, il faudrait étendre cette analyse aux pulvini du génotype EM, et surtout tester plus de conditions d'inclinaison initiale. Par ailleurs, pour les expérimentations en serre, le phototropisme peut avoir une influence, comme indiqué par notre observation que le mouvement de courbure vers le haut semble plus rapide le jour que la nuit. Dans ce cas, il faudrait utiliser le modèle ArC, qui est l'extension du modèle AC incluant le phototropisme (Mouliat et al., 2022) ou le dispositif des sphères isotropes.

Modèle de régulation des pulvini et du redressement de la talle de blé

Nos résultats montrent clairement un ralentissement et un moindre redressement des talles à partir du stade intermédiaire. Cet effet du stade de développement est en accord avec ceux de l'étude préliminaire au champ mené par le GDEC (Oury et al., non publié). Notons que ce ralentissement ne peut pas être lié à des différences d'inclinaisons initiale ni d'évolution de l'inclinaison au cours de la phase de redressement. En effet, ces talles montrent une vitesse de redressement et une variation de courbure moindre tout en s'éloignant de la verticale, avec un état stationnaire finale non rectiligne par rapport à la verticale. On pourrait imaginer qu'un effet mécanique, associé à la charge de l'épi qui augmente avec le stade de développement, puisse jouer un rôle. Mais pour considérer cet effet, il faut raffiner l'analyse en considérant les différents pulvini. En effet, en un point donné de la talle, l'effet mécanique se traduit en flexion par un moment fléchissant qui est le produit du poids de l'épi par le bras de levier entre l'épi et le pulvinus considéré. Cela nous amène à discuter de l'activité des différents pulvini. Cette dynamique est résumée Figure 65 et 66.

Nos résultats montrent que l'activité des pulvini est liée à la progression du stade du développement, induisant de fait la réduction du redressement à la verticale de la talle de blé. La perte de capacité à se redresser est donc causée par la réduction et la perte de capacité de se courber de certains pulvini. Nos résultats montrent un pattern général de baisse de la capacité de se courber des 3 pulvini, modulée par leur rang sur la talle. Ce pattern général est légèrement modulé entre les deux génotypes. Au niveau du pulvinus basal et médian, nous montrons une forte réduction de leur activité de courbure (de l'ordre de 90%) entre le stade précoce et tardif.

Cette chute brutale engendre la perte de la capacité de courbure du pulvinus basal (dès le stade intermédiaire pour le génotype D, et plus précocement pour le génotype EM) et au stade intermédiaire pour le pulvinus médian. Quant au pulvinus, cette baisse n'est que de 27% et montre donc une activité de courbure toujours présente y compris au stade le plus tardif. Ainsi, malgré un redressement global des talles identiques, nos deux génotypes, montrent par leur disparité d'activité et de régulation au niveau de leurs pulvini, deux modèles légèrement décalés de modulation de leur activité au cours du développement (Figure 65 et 66).

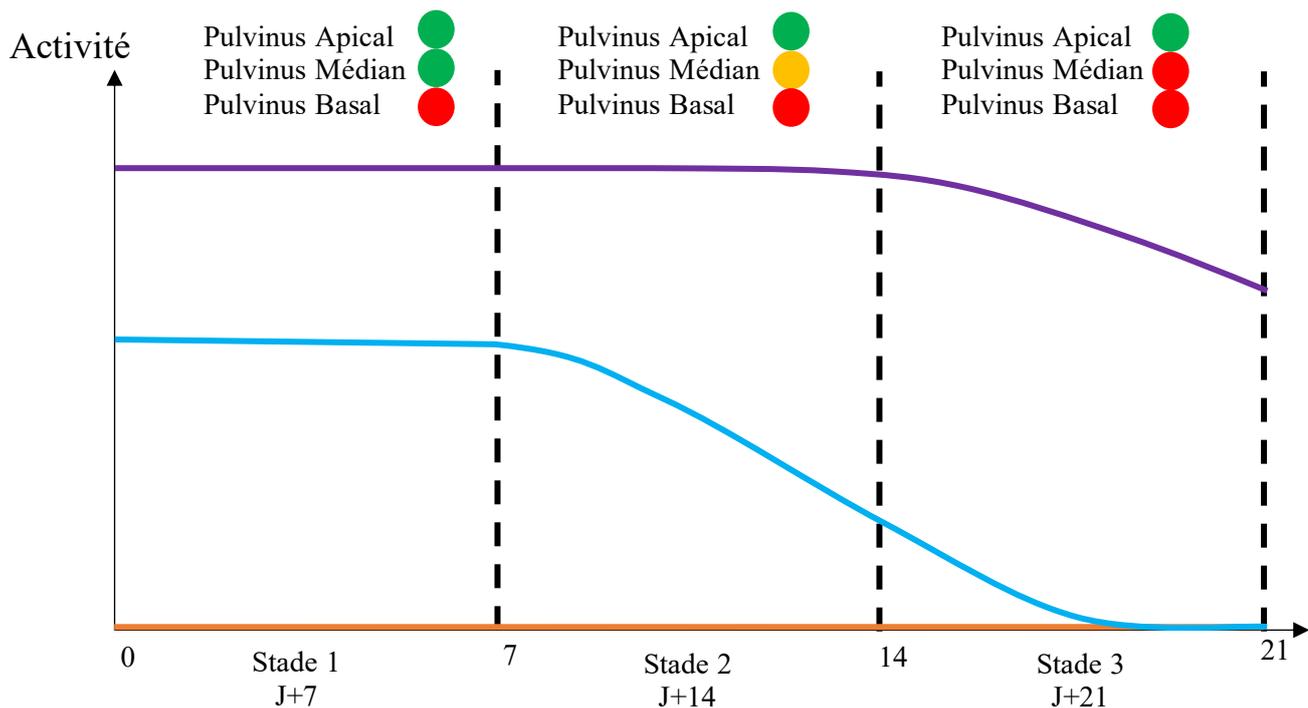


Figure 65 : Hypothèse de modèle régulant l'activité de courbure des pulvini du génotype EM. La courbe orange représente le pulvinus basal, la courbe bleue le pulvinus médian et la courbe violette le pulvinus apical. Les pastilles représentent le niveau d'activité des pulvini : la pastille verte représente que le pulvinus est actif ; la pastille jaune représente une faible activité de la part du pulvinus ; la pastille rouge montre une absence d'activité.

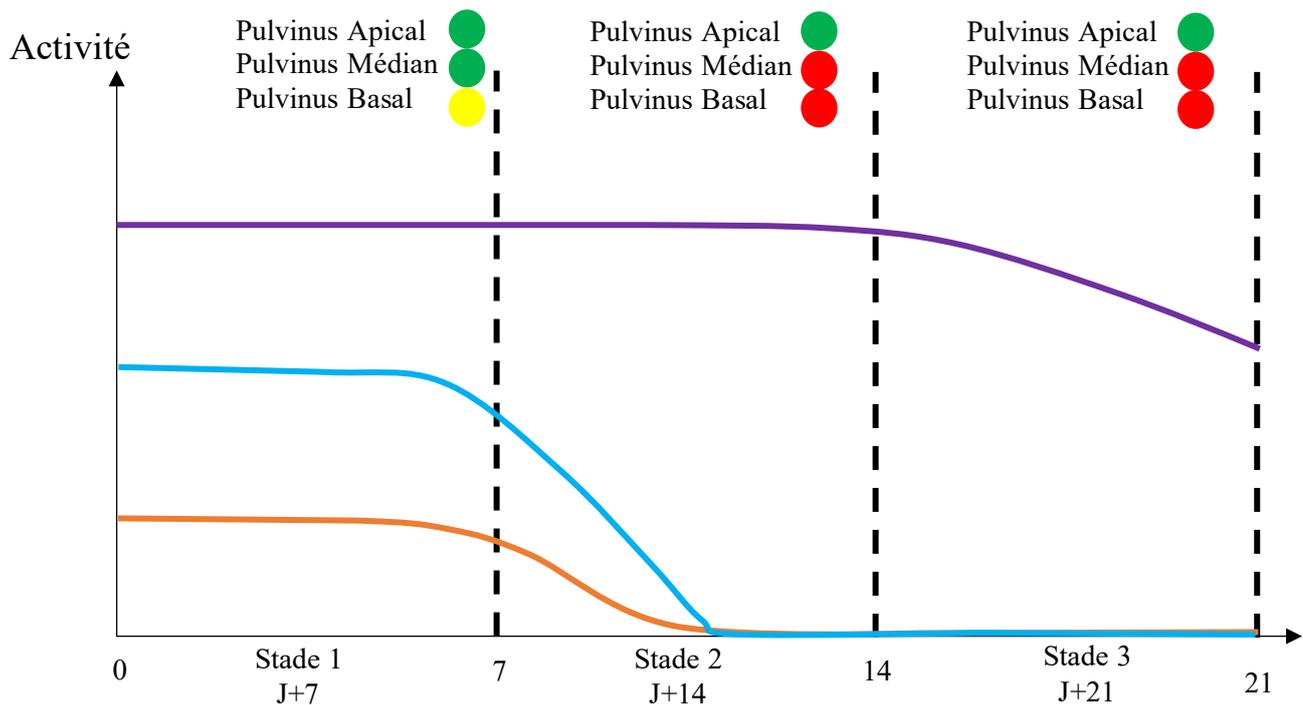


Figure 66 : Hypothèse de modèle régulant l'activité de courbure des pulvini du génotype D. La courbe orange représente le pulvinus basal, la courbe bleue le pulvinus médian et la courbe violette le pulvinus apical. Les pastilles représentent le niveau d'activité des pulvini : la pastille verte représente que le pulvinus est actif ; la pastille jaune représente une faible activité de la part du pulvini ; la pastille rouge montre une absence d'activité.

Cependant, il reste encore de nombreuses questions notamment celle d'expliquer que nos deux génotypes montrent une cinématique globale de redressement identique, mais avec un système d'activité et de régulation des pulvini différents (en particulier pour ce qui concerne le pulvinus basal). Mais auparavant, il fallait enfin s'assurer de manière plus propre (autrement que par la démonstration du lien entre l'angle A , la courbure C et la vitesse de courbure DC/dt) que les pulvini des tiges de graminées sont capable de proprioception et d'autotropisme.

Le blé a une capacité proprioceptive

Certaines études avaient déjà émis l'hypothèse d'une capacité proprioceptive chez le blé, notamment des coléoptiles (Bastien et al., 2013, Tarui and Iino, 1997).

L'activation de la clinorotation, qui suspend la perception de la gravité, induit une réduction de 40% de la courbure du pulvinus médian chez les deux génotypes, tandis que le pulvinus apical du génotype EM subit une diminution de 47% et celui du génotype D, une baisse de 10%

Ces baisses entraînent la décourbure des pulvini et plus généralement permet un retour partiel à la rectitude de la talle de blé. Nos résultats montrent que les talles de blé ont un mouvement de décourbure dans un cadre autotropique stricte au stade le plus précoce. Ce mouvement est identique à ce qu'on retrouve chez le peuplier (Caulus et al., non publié) et chez les herbacées (Okamoto et al., 2015). Le blé a donc la capacité de proprioception.

Il est difficile d'interpréter les différences entre génotypes du fait du mauvais réglage sur l'une des deux sphères engendrant des conditions lumineuses différentes (les talles de blé du génotype D n'ont pas bénéficié d'une période de nuit au cours de l'expérimentation, à la différence du génotype EM). La littérature scientifique suggère que la lumière induit une lignification plus marquée chez les graminées notamment chez le maïs et le blé (Schopfer et al., 2001 ; Li et al., 2021). Cette lignification plus marquée rendrait les talles de blé et les pulvini plus rigides et moins apte aux mouvements de rectification, ce qui peut expliquer que les pulvini du génotype D montrent des activités de décourbure moindre. Ces travaux pourraient être poursuivis en utilisant différents stades de développement notamment.

Nos résultats montrent que le mouvement de rectification du blé en condition autotropique, qui est un système articulé, n'est pas complet, contrairement au peuplier ou à Arabidopsis (qui sont des systèmes continus). Ce retour incomplet pourrait être lié à deux hypothèses différentes : i) le pulvinus n'est pas capable de réaliser un tel mouvement et/ou ii) le blé a une trop faible sensibilité proprioceptive pour réaliser un tel mouvement. De prochaines expérimentations devraient être mises en place pour étudier et élucider ce retour incomplet.

L'allongement différentiel des fibres collenchymateuses est le mécanisme de redressement dans un pulvinus stimulé

Le mouvement de courbure vers le haut est causé par une élongation différentielle entre la face supérieure et inférieure du pulvinus. L'hypothèse émise est que cette élongation différentielle est provoquée par un allongement différentiel des fibres collenchymateuses au sein du pulvinus. En 1998, Collings et al. ont démontré, chez le maïs, que les fibres collenchymateuses situées sur la face inférieure sont 2 à 3 fois plus longues que celles de la face supérieure suite à une gravistimulation, observée au niveau d'un pulvinus basal. Nos résultats montrent des ratios du même ordre à la suite d'une gravistimulation. Au niveau du pulvinus basal, le ratio des longueurs de fibres est de 2.52 pour les talles du génotype D (739 μm vs 292 μm en moyenne) et de 3.04 pour le génotype EM (681 μm vs 223 μm en moyenne). Pour le pulvinus médian, nous observons un ratio de 2.36 pour le génotype D (508 μm vs 214 μm en moyenne) et 2.61 pour le génotype EM (506 μm vs 193 μm en moyenne). Il faut bien noter que ces différences

de longueur ont été mesurées après séparation plus ou moins complète des fibres. Il s'agit donc bien d'une différence liée à l'accroissement, et pas juste une déformation élastique sous l'influence d'autres tissus moteurs. Nous supposons aussi que les fibres collenchymateuses des pulvini ne subissent plus de division cellulaire à ce stade (Collings et al., 1998). Après un jour de gravistimulation, un allongement par croissance différentiel des fibres collenchymateuses a bien eu lieu chez le blé, prouvant son rôle actif dans la mise en place du mouvement de courbure du pulvinus.

Nos résultats montrent des ratios de longueurs de fibres collenchymateuses identiques entre le pulvinus basal chez les deux génotypes D et EM. Or, au stade précoce, le pulvinus basal du génotype D montre une plus forte activité de courbure que le pulvinus basal du génotype EM. De plus, chez les deux génotypes, les ratios d'allongement des fibres collenchymateuses ne montrent pas de différence entre le pulvinus basal et médian alors même que ce dernier montre une activité de courbure plus forte au stade J+7 que le pulvinus basal.

Pour analyser complètement ce phénomène, il faudrait développer un modèle biomécanique de l'échelle du tissu à celle du pulvinus entier, pour prendre en compte les effets cinématiques différents des allongements en fonction de leur distance au centre de rotation (bras de levier interne), et des effets de rigidité différentielles des tissus. Ce travail a été initié en collaboration avec le Dr Joseph Gril, mécanicien. Mais nous n'avons pas eu le temps de le mener à son terme. Un autre effet pouvant expliquer les différences de variation de courbure pour des mêmes allongements relatifs des fibres peut être lié aux efforts nécessaires pour déplacer l'épi, et en retour aux déformations élastiques sous l'effet du moment fléchissant appliqué par le poids de l'épi. Le pulvinus médian ayant un bras de levier plus faible que le pulvinus basal, nécessite moins d'efforts pour se courber et est moins déformer élastiquement parlant sous cet effort. Un même ratio d'allongement des fibres collenchymateuses entraînerai donc une courbure plus importante du pulvinus médian que le basal. Pour évaluer ces hypothèses, il faudrait réaliser des prélèvements et des inclinaisons plus précocement, mais aussi tester l'effet de masses additionnelles au niveau de l'épi et de la réaction des différents pulvini.

La lignification des amas collenchymateux explique globalement la perte d'activité des pulvini au cours du développement.

Nous basant sur quelques résultats de la bibliographie, nous avons fait l'hypothèse que le ralentissement de la cinématique de redressement ainsi que la réduction de la courbure des pulvini pourraient être lié à la lignification (Dayanandan et al., 1976). Comme chez le blé (comme chez toutes les festucoïdes), la variation de courbure du pulvinus implique de fléchir

la tige qui est entourée par le pulvinus (Figure 28). Il était donc plausible d'imaginer que des variations de lignification de la tige (et en conséquence une augmentation de sa rigidité) puisse expliquer les différences de comportement des pulvini selon leur rang ou entre génotype. Or ce n'est pas le cas. Dans tous les cas observés, la lignification de la tige est complète à tous les stades de développement et chez les 3 pulvini (données non montrées). Un autre effet lié à la tige interne pourrait être liée à des différences de diamètre, induisant des différences de rigidité en flexion (via leur moment d'inertie I). Pour tester cet effet, il faut avoir recours au modèle biomécanique du pulvinus évoqué précédemment. Il serait aussi intéressant de voir si cette précocité de la lignification de la tige a été sélectionné par l'amélioration végétale (pour augmenter la résistance à la verse) ou si elle existait aussi chez les vieilles variétés ou les ancêtres sauvages du blé.

Notre hypothèse porte donc sur la lignification des fibres des amas collenchymateux.

Nos résultats montrent que la lignification des fibres collenchymateuses est totalement indépendante et plus tardif que la tige (données non montrées). Notre hypothèse est que cette lignification pourrait gripper l'allongement des amas collenchymateux bloquant toute élongation et donc toute variation de courbure du pulvinus.

De manière globale chez des individus témoins (c'est-à-dire non inclinés ; pour nos deux génotypes), nos résultats montrent une lignification différentielle des pulvini en fonction des stades de développement et de leur position sur la talle (qui correspond aussi à leur âge depuis leur différenciation par le méristème apical). Le pulvinus basal est le seul lignifié dès le stade précoce (et montre déjà une très forte lignification). La lignification progresse ensuite de la base vers le sommet (ou selon l'âge des pulvini). Le pulvinus médian montre un début de lignification partielle au stade le plus tardif (environ 30%) alors que le pulvinus apical ne démontre aucune lignification à ce stade.

Au niveau du génotype EM, les amas collenchymateux du pulvinus basal montrent une lignification de 30% à 50% globalement contre une absence totale chez le génotype D, au stade le plus précoce (soit au stade 7 jours après demi-épiaison). Cette donnée indique une précocité de la lignification chez le génotype EM par rapport au génotype D.

Globalement, nos résultats montrent un lien important entre l'état de lignification des fibres collenchymateuses et la capacité de courbure du pulvinus, validant notre deuxième hypothèse. Le pulvinus basal du génotype EM est très lignifié dès le stade précoce et ne montre aucune activité de courbure. En revanche, le pulvinus basal du génotype D, avec très peu de

lignification, montre une faible capacité de courbure au stade le plus précoce. Pour ce qui est du pulvinus médian, au stade intermédiaire puis tardif, son état de lignification progresse en lien avec la baisse de son activité de courbure observée. Le pulvinus apical ne montre aucune lignification à tous les stades de développement, et effectivement aucune baisse sensible de son activité de courbure.

L'inclinaison induit un pattern de lignification entre face abaxiale et adaxiale, mais elle est variable selon les génotypes

Nous avons étudié l'état de lignification chez des individus inclinés en faisant la distinction entre la face supérieure et la face inférieure. L'étude de la lignification différentielle entre faces montre de fortes disparités entre nos deux génotypes, du moins au niveau du pulvinus basal.

Le premier résultat important est le fait que la lignification débute sur deux faces différentes chez nos deux génotypes au niveau du pulvinus basal. Chez le génotype EM, la lignification débute et est plus importante sur la face supérieure du pulvinus. Alors que cette lignification débute sur la face inférieure du pulvinus chez les talles du génotype D. Par exemple, après un jour de verse au stade J+7, la face supérieure du pulvinus basal EM montre 50% de lignification contre 10% pour la face inférieure ; pour le génotype D, la lignification est de 12% pour la face supérieure et pratiquement de 90% sur la face inférieure.

Le second résultat important est que nous montrons que l'inclinaison de la talle de blé engendre une lignification plus importante chez le génotype D. En effet, les individus témoins du génotype D montrent une absence de lignification, alors qu'à la suite d'une inclinaison, le pourcentage de lignification varie entre 30 et 70%. En revanche, cette induction de la lignification n'est pas observée chez le génotype EM. Chez ce dernier, la lignification est identique au stade J+7 et J+10 chez des individus témoins et chez des individus versés au même stade durant 1 ou 3 jours (25% et 50% respectivement).

Deux stratégies biomécaniques distinctes entre nos deux génotypes ?

Les deux résultats précédents concernant le pattern de lignification entre les deux faces du pulvinus chez nos deux génotypes pourraient mettre en évidence deux stratégies de lignification différentes impliquant deux mécanismes de courbure différents, au moins au niveau du pulvinus basal, que nous avons illustrées (Figure 67).

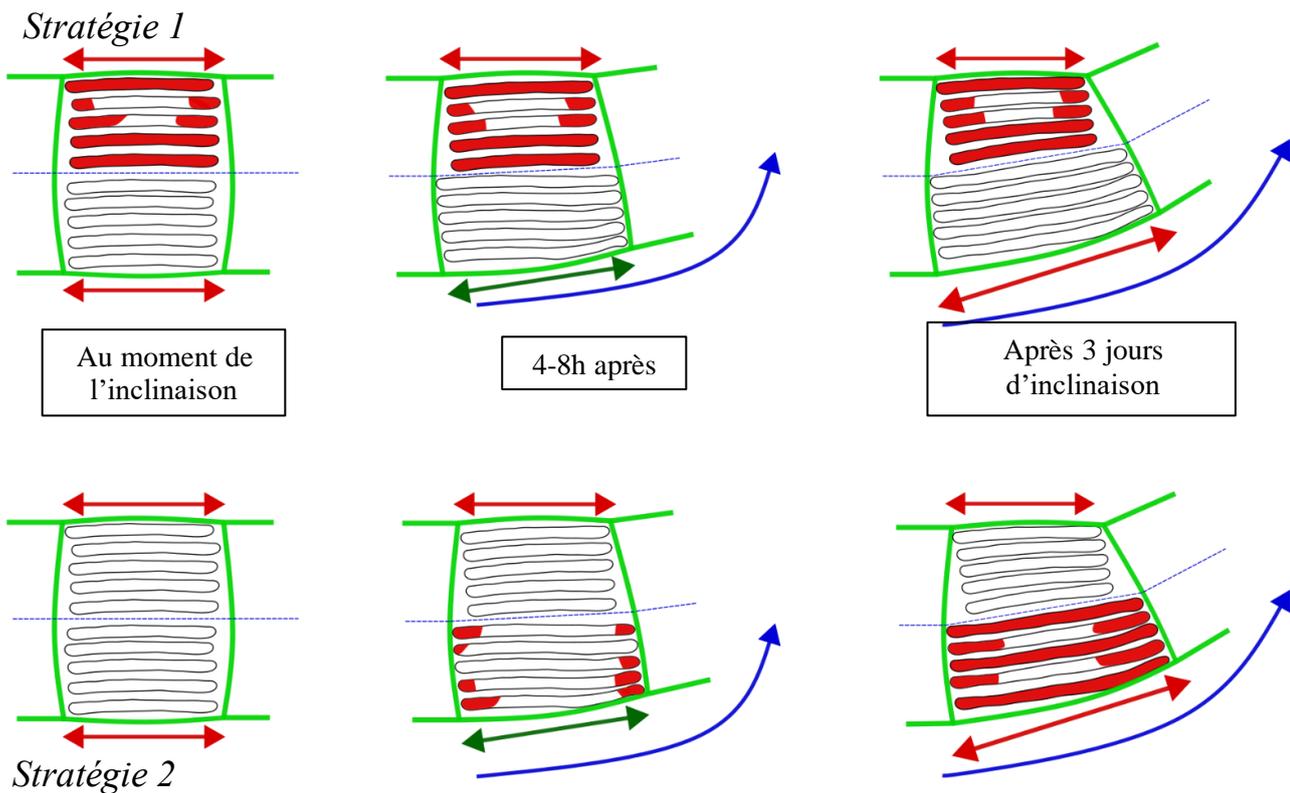


Figure 67 : Hypothèses des deux stratégies de courbure du pulvinus basal à la suite d'un gravistimulation. La stratégie 1 implique une lignification forte des amas collenchymateux de la face supérieure au départ empêchant toute élévation. Les amas de la face inférieure étant libre, un gradient d'élévation différentiel est possible engendrant la courbure du pulvinus. Ici, il n'y aurait pas de gradient d'auxine entre les deux faces. La stratégie 2 implique une absence de lignification au départ de l'expérimentation. Elle progresserait en même temps que la courbure du pulvinus, sur la face inférieure. Avec une lignification pratiquement complète, le mouvement de courbure du pulvinus serait stoppé. Le pulvinus de manière longitudinale est représenté en vert, les fibres collenchymateuses sont représentées longitudinalement en noir et la lignification en rouge. La flèche bleue représente le mouvement de courbure vers le haut, la flèche rouge représente une absence d'élévation des fibres collenchymateuses et la flèche verte une élévation active des fibres collenchymateuses.

Nous avons montré, au niveau du pulvinus basal du génotype EM, une lignification rapide et précoce, essentiellement sur la face supérieure chez les individus inclinés. Sur le plan biomécanique, cette stratégie pourrait être appelée « stratégie du levier interne » ou « blocage-allongement ». Avec une lignification rapide et précoce sur la face supérieure du pulvinus, l'élévation des amas de fibres collenchymateuses serait bloquée sur cette face. En l'absence de lignification sur la face inférieure, l'élévation des fibres collenchymateuses pourrait se produire sur ce côté-là, dès que l'inclinaison a induit une stimulation de la croissance (par

exemple par la mise en place d'un gradient d'auxine). Étant donné que l'élongation est bloquée sur la face supérieure et possible sur la face inférieure, cela pourrait entraîner la formation d'un gradient d'élongation différentiel entre les deux faces du pulvinus, favorisant le mouvement de courbure de cette structure. Toutefois, nos résultats ne montrent pas d'activité de courbure au stade le plus précoce chez ce génotype, malgré les différentiels de lignification et d'allongement des fibres. Ceci suggère une autre cause à l'inhibition de l'activité de courbure. Pour aller plus, il serait nécessaire d'étudier ce pulvinus à un stade de développement encore plus précoce.

Au niveau du génotype D, nos résultats montrent que la verse favoriserait le processus de lignification. Il semble que la lignification progresse de manière accélérée pendant la phase de redressement en direction de la verticale. Lorsqu'une inclinaison est réalisée, une élongation différentielle se développent entre les fibres collenchymateuses des deux faces du pulvinus. La lignification progressive des amas de fibres collenchymateuses de la face inférieure entraîne progressivement leur blocage. Lorsque la lignification est complète, elle inhibe le gradient différentiel d'élongation, mettant ainsi fin au mouvement de courbure. La corrélation entre la progression de la lignification au cours du stade de développement et la diminution du redressement de la talle de blé, ainsi que l'arrêt de l'activité de courbure de certains pulvini, pourrait être interprétées comme une stratégie biomécanique que l'on pourrait appeler « blocage par lignification ».

Cette différence de stratégie biomécanique doit toutefois être confirmée. En effet, il se pourrait que la différence entre le génotype EM et D sur ce plan soit juste lié à un décalage dans le stade de développement. Nos résultats montrent que la lignification est plus précoce chez le génotype EM (sur une face bien précise y compris chez les individus témoins non inclinés) que le génotype D. Ainsi le fait que le génotype EM ne montre aucune activité de courbure au niveau du pulvinus basal pourraient juste indiquer que son activité de courbure est terminée au stade J+7. Pour vérifier cette hypothèse alternative, il faudrait réaliser des inclinaisons et prélèvements plus tôt chez le génotype EM.

Les hormones pourraient également faire partie des mécanismes sous-jacents au redressement de la talle de blé et de l'activité des pulvini

L'étude de la bibliographie montre que la mise en place d'un gradient d'auxine, au sein d'un pulvinus gravistimulé, a été observée avec des valeurs comprises entre 10 et 20 ng/g entre les deux faces du pulvinus chez l'orge (Wolbang et al., 2007) et le maïs (Long et al., 2002), essentiellement au niveau du pulvinus basal. Ces valeurs sont proches de celles observées au

niveau des coléoptiles de maïs par Philippar et al. en 1999 (15ng/g sur la face supérieure et 25ng/g sur la face inférieure). Nos résultats montrent les mêmes ordres de grandeurs de teneurs en auxine comprises entre 10 et 25 ng/gDW en fonction des faces.

Nous montrons de plus une tendance à la mise en place d'un gradient d'auxine chez le blé au niveau du pulvinus médian et apical, avec 1.5 fois plus d'auxine au niveau de la face inférieure que supérieure. En revanche, nous ne retrouvons pas cette tendance au niveau du pulvinus basal. Nos résultats indiquent donc que les pulvini montrant une activité de courbure au stade précoce montre à la fois une absence de lignification et une tendance positive à un gradient d'auxine permettant de stimuler l'élongation. En revanche, au niveau du pulvinus basal, une forte lignification et une absence de gradient d'auxine pourrait expliquer la très faible voire l'absence d'activité de courbure à ce stade.

Cette explication globale doit cependant être un peu nuancée lorsqu'on regarde plus en détail les cinétiques. Le pulvinus médian et apical montre le même gradient d'auxine après 4h de stimulation, et donc ceci ne peut pas expliquer la capacité de courbure plus importante du pulvinus apical. Par ailleurs, par manque de répétitions, nous ne pouvons réellement évaluer si nos différences sont significatives. L'utilisation d'une ANOVA 2 nous permet néanmoins de démontrer qu'il y a bien un effet face significatif sur la teneur en auxine chez le pulvinus.

Malgré cela, nos premiers résultats sont très encourageants pour démontrer le rôle de l'auxine dans la mise en place de la courbure et sur les différences observées entre les pulvini selon leur position. Il faudrait donc commencer une nouvelle expérimentation, avec plusieurs points de cinétiques dans le temps, pour réellement évaluer l'impact de l'auxine. Nous pourrions aussi en profiter pour étudier d'autres hormones impliquées dans le contrôle des élongations différentielles comme les gibbérellines (Cui et al., 2005 ; Pharis et al., 1981 ; Clore et al., 2013).

Nos résultats montrent donc que l'allongement des fibres, l'état de lignification des amas collenchymateux et l'auxine font partie des mécanismes impactant le mouvement de redressement de la talle de blé, les différences d'activité de courbure entre les pulvini et nos deux génotypes.

Nous montrons que les fibres de amas collenchymateux ont une élongation différentielle entre les deux faces du pulvinus à la suite d'une gravistimulation permettant le mouvement de courbure. Ce redressement étant affecté par l'état de lignification des pulvini, qui réduirait le redressement global de la talle et de l'activité de courbure des pulvini en lien avec la progression du stade de développement. Enfin, les pulvini ne montrant pas de capacité de courbure au stade

précoce ne montre pas de tendance à la mise en place d'un gradient d'auxine, montrant son rôle possible.

DISCUSSION GENERALE

Dans leur environnement, les organismes végétaux font face à une multitude de perturbations susceptibles d'altérer leur posture. Cette altération peut entraîner une inclinaison chez l'arbre ou une verse chez les graminées, ce qui peut causer des pertes économiques significatives. Pour y faire face, les plantes utilisent le contrôle postural *via* la stratégie de résilience. Cette stratégie implique une altération temporaire de la posture de la plante mais aussi une récupération de celle-ci par la suite. La littérature scientifique montre que cette récupération est liée à la mise en place d'une réorientation progressive de la direction de croissance des organes végétaux en fonction de stimuli environnants comme la lumière (phototropisme) et le vecteur de gravité (gravitropisme) notamment (Christie and Murphy, 2013 ; Hangarter, 1997 ; Sack, 1991 ; Blancaflor and Masson, 2003). Outre cette réorientation, le contrôle postural comprend un contrôle interne permettant de contrebalancer la courbure mise en place par les tropismes précédemment cités. *In fine*, la plante a une auto-régulation de sa propre forme *via* un processus connu sous le nom d'autotropisme (Moulija et al., 2019). Bien que des avancées aient été réalisées, les connaissances scientifiques sur ce tropisme (et la proprioception) demeurent très limitées, tant en ce qui concerne sa composante perceptive que ses implications dans la composante motrice du contrôle postural (Stankovic et al., 1998 ; Bastien et al., 2013). Ces lacunes soulignent donc l'importance de poursuivre la recherche dans ce domaine afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents du contrôle postural et d'explorer les impacts de l'autotropisme sur le contrôle de la posture des plantes.

Dans cette thèse, plusieurs grandes hypothèses ont été testées :

- 1) Les mouvements de courbure vers le haut, de rectification et de décourbure seraient pilotés par les sensibilités graviperceptives et proprioceptives. La dynamique globale de mouvement serait liée au nombre B.
- 2) Un mouvement actif de retour à la rectitude de la tige du peuplier et du blé serait engendré dans un cadre autotropique strict.
- 3) Ce mouvement actif serait permis, chez le peuplier, par la formation de fibres de bois de tension à couche G. Chez le blé, il serait réalisé par une élongation différentielle des fibres collenchymateuses entre la face supérieure et inférieure du pulvinus et serait à l'origine de cette courbure.

- 4) Les effets du développement sur la capacité tropique du blé seraient liés à l'état de lignification des fibres collenchymateuses du pulvinus et à des modifications du gradient d'auxine.

Dans le but de tester ces hypothèses, deux dispositifs expérimentations ont été utilisés. Le premier est composé de sphères isotropes et agravitropes permettant d'étudier spécifiquement l'autotropisme dans le cadre de la cinématique de mouvement du peuplier et du blé. Le second est un dispositif en serre permettant de suivre à la fois la cinématique de mouvement de la talle de blé et d'étudier les mécanismes sous-jacents à ce redressement pour deux génotypes différents EM et D.

L'autotropisme engendre des mouvements actifs de retour à la rectitude chez le peuplier et le blé

La première hypothèse testée portait sur la cinématique de mouvement de la tige de peuplier et de la talle de blé en condition autotropique stricte.

Nos résultats indiquent que ces deux organes aériens montrent des mouvements actifs de décourbure en condition autotropique stricte. Ces mouvements ont déjà été observés chez *Arabidopsis* (Stankovic et al., 1998 ; Okamoto et al., 2015) dans des conditions identiques. Pour les ligneux, ce type de mouvement a été observée de manière accidentel au niveau des zones les plus apicales de la tige de peuplier (Coutand et al., 2007), dans le cadre d'une étude menée en plein champ inclinant les tiges à 45°. Ces zones ont montré une formation de bois de tension sur la face convexe de la tige permettant une rectification de la posture pour permettre à ces zones d'être rectilignes par rapport à la verticale (Coutand et al., 2007). Ces mouvements ne sont donc pas uniquement liés à un processus physique de rappel dû à l'énergie élastique stockée dans les tissus internes (Mouliat et al., 2009 ; Porat et al., 2020). Le résultat marquant ici est que, pour le peuplier, nous observons un mouvement de décourbure d'envergure, sur l'ensemble de la zone en croissance secondaire, et ce, en condition autotropique stricte ; ce qui n'était pas le cas pour l'étude de Coutand et al. (2007). Les connaissances scientifiques ne permettent pas encore de dire quel est le système percepteur de l'autotropisme. En 2015, Okamoto puis Ueda ont montré que le cytosquelette et les myosines seraient des acteurs importants de cette perception chez *Arabidopsis thaliana*. L'utilisation de notre dispositif, par l'utilisation du peuplier pour les ligneux par exemple, pourrait nous permettre d'explorer cette hypothèse avec l'utilisation de mutants pour les filaments d'actine et myosines.

Chez le blé, la capacité proprioceptive des pulvini est démontrée pour la première fois, avec cependant un mouvement de décourbure incomplet de la talle de blé (ce qui diffère des expérimentations chez le peuplier et *Arabidopsis*). Durant la phase autotropique, les pulvini montrent une réduction de la variation de courbure de 30 à 40% en moyenne (contre la totalité de la zone active chez le peuplier et *Arabidopsis*). Ce mouvement de décourbure est réalisé par la décourbure partielle du pulvinus médian et apical, le pulvinus basal ne montrant pas cette capacité.

Le retour incomplet peut être expliqué par deux hypothèses : i) un défaut de capacité des pulvini à effectuer ce mouvement et/ou ii) une faible sensibilité proprioceptive limitant sa capacité à percevoir sa propre forme. Pour étudier l'hypothèse d'un défaut de perception, il serait intéressant de quantifier les sensibilités graviperceptives et proprioceptives en suivant le modèle AC puis ACÉ pour chaque pulvinus et pour les génotypes EM et D. L'obtention de ces deux paramètres pourrait ensuite nous permettre d'évaluer le nombre B (et le comparer avec le peuplier et *Arabidopsis*). Le ratio de ces deux sensibilités pourrait expliquer ce mouvement incomplet. Le défaut de capacité motrice pourrait être étudié par l'analyse des longueurs de fibres collenchymateuses ainsi que leur état de lignification. Cette thèse démontre que le mouvement de courbure vers le haut est permis par un allongement différentiel des fibres collenchymateuses entre la face supérieure et inférieure (ratio de 2 à 3), avec une capacité de courbure des pulvini pouvant être régulée par l'état de lignification des fibres collenchymateuses. Il serait nécessaire d'analyser le ratio d'allongement différentiel des fibres collenchymateuses à la suite de la phase de décourbure, et de le comparer avec le ratio de la phase de courbure vers le haut, ainsi que l'état de lignification de ces mêmes fibres. De plus, il serait intéressant de réaliser ces expérimentations à des stades de développement à la fois plus précoce et tardif afin d'évaluer le rôle du développement et de la maturation du pulvinus. En effet, nos résultats montrent l'importance du stade de développement sur la cinématique global de mouvement de la talle de blé.

Quantification des sensibilités graviperceptives et proprioceptives

Nos résultats sont en adéquation avec le modèle AC gravi-proprioceptif proposé par Bastien et al. en 2013. Dans ce modèle, deux sensibilités ont été introduites : la sensibilité graviperceptive β et la sensibilité proprioceptive γ . Ces deux sensibilités permettent d'établir comment chaque signal (angle et courbure) est perçu par la plante. Elles ont déjà été calculés par Coutand et al. en 2009 en condition tropique normal.

Pour la première fois, nous avons quantifié les sensibilités graviperceptives et proprioceptives, sensibilités qui pilotent les mouvements au sein de la plante, en condition autotropique stricte pour γ . Pour le peuplier, la sensibilité proprioceptive est $6.02 \times 10^{-3} \text{ cm.}^\circ\text{C.day}^{-1} (\pm 1.89)$ et la sensibilité graviperceptive est de $6.01 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C.day}^{-1} (\pm 0.67)$ en temps RDD. Étant donné que nos coefficients de variation ainsi que l'intervalle de confiance à 95% sont de meilleurs qualités que ceux obtenus par Coutand et al. (2019) pour la tige de peuplier et que ces sensibilités ont été quantifiées en condition autotropique stricte, notre méthode est beaucoup plus fiable. Ainsi, elle représente une approche très robuste pour l'étude des mécanismes de l'autotropisme et du contrôle postural plus globalement. Nous observons que ces deux sensibilités ne varient pas spatialement au sein de la portion de tige étudiée, indiquant le fait qu'elles seraient intrinsèques aux parties aériennes de la plante. La prochaine étape serait de quantifier ces deux sensibilités chez différentes espèces (d'autres ligneux, conifères et herbacées) pour les comparer. Il serait possible de faire du phénotypage de mutants et d'évaluer, par exemple l'impact de telle ou telle mutation sur la capacité de la plante à percevoir son inclinaison par rapport au vecteur de gravité ou sa propre courbure.

Le mouvement actif de retour à la rectitude est permis par la formation de bois de tension chez le peuplier

Par des approches anatomiques et histologiques, nous avons pu mettre en évidence que les mouvements de décourbure observés sont des mouvements actifs chez le peuplier. En effet, nous montrons que le bois de tension se forme sur la face inférieure de la tige de peuplier en condition autotropique stricte, permettant alors le mouvement de décourbure. Ce résultat remet en cause et contredit la définition historique du bois de tension affirmant que sa formation était liée à la face supérieure de la tige des ligneux angiospermes (Dadswell et Wardrop, 1955 ; Hughes, 1965). Par conséquent, nos résultats permettent d'émettre une nouvelle hypothèse concernant la formation du bois de tension. Cette hypothèse est liée à la balance entre la graviperception et la proprioception, décrite par le modèle AC. Au début de l'expérimentation, la tige est rectiligne à l'horizontale mais fortement inclinée (autour de 90°). Dans cette phase, l'angle est fort mais la courbure est nulle ($A(s,t) = 90^\circ$; $C(s,t) = 0$). Le signal perçu prédominant est le signal graviperceptive *via* l'angle A, engendrant alors un mouvement de courbure vers le haut par la formation du bois de tension sur la face supérieure de la tige. Au fil du mouvement vers le haut, l'angle par rapport à la verticale diminue engendrant une baisse de son poids dans la réponse tropique. En contrepartie, ce mouvement induit une hausse de la variation de courbure de la tige, et donc une augmentation de son importance dans la réponse tropique. À

mesure que le signal « angle » A baisse et que le signal « courbure » C augmente, cela induit alors un ralentissement de la courbure (vu chez le blé également). Cette dynamique conduit finalement à l'atteinte d'un état stationnaire. À la suite de l'activation de la clinorotation, l'angle par rapport à la verticale reste présent mais la sensibilité affiliée est nulle (plus de graviperception). Le signal « angle » ne rentre plus en compte dans la réponse tropique. Le signal « courbure » devient donc prépondérant et engendre un déplacement de l'emplacement de la formation du bois de tension en direction du côté convexe de la tige courbée. Cette modification entraîne un changement de signe de la courbure afin d'atteindre la rectitude. Une fois la rectitude atteinte, en condition de clinorotation activé, l'angle est fort mais non perçu et la courbure est redevenue nulle. Cette balance permettrait aux plantes ligneuses d'avoir un réglage fin de la direction des mouvements tropiques et du contrôle de la posture. La force motrice par la formation du bois de tension à couche G est donc permise par la gravistimulation via la perception de son inclinaison par l'avalanche des amyloplastes chez le peuplier (Gerttula et al., 2015) mais aussi par l'autotropisme et la proprioception.

De nombreuses questions restent ouvertes concernant la formation, la mise en place et le fonctionnement de ce bois de tension « autotropique ». La formation du bois de tension permettant un mouvement de courbure vers le haut suite à une inclinaison est permis notamment par une faible teneur en auxine sur la face supérieure de la tige (Du et Yamamoto, 2007 ; Leach and Wareing, 1967), une possible implication de l'éthylène (Jin et al., 2011 ; Love et al., 2009) et une régulation positive des gibbérellines sur la formation de ce bois de tension (Nakamura et al., 1994 ; Baba et al., 1995). Il serait donc intéressant d'évaluer la dynamique hormonale lors de la formation du bois de tension à couche G autotropique sur la face inférieure de la tige. Il a été montré que la couche G du bois de tension est importante dans la génération des contraintes de maturation permettant le mouvement. Cette couche est majoritairement composée de cellulose (autour de 80%), puis d'hémicellulose mais sans lignine (Kaku et al., 2009 ; Onaka, 1949). Nous montrons que l'angle des microfibrilles est le même entre le bois de tension permettant le mouvement de courbure vers le haut et celui permettant le mouvement retour à la rectitude, mais que l'épaisseur de la couche G est différente (avec une épaisseur plus importante sur la face inférieure que supérieure). Il serait intéressant d'étudier d'autres paramètres pour évaluer les différences anatomiques entre ces deux bois (composition de la couche G, anatomie interne concernant les fibres et vaisseaux).

Modèle de régulation et d'activité de courbure des pulvini chez le blé

Au niveau de la littérature scientifique, les données concernant la cinématique de redressement du blé en réponse à une inclinaison sont peu nombreuses. Pour ce volet, nous avons dû réaliser une analyse plus globale de la cinématique de redressement dans un contexte tropique normal, pour mieux appréhender le rôle des pulvini et les mécanismes sous-jacents par la suite.

L'étude de la cinématique montre que le blé montre un retour à la verticalité sous l'impulsion des pulvini. Dans nos expérimentations, la talle de blé montre un mouvement de courbure vers le haut et atteint l'état stationnaire 3 jours après son inclinaison. Cette durée est d'environ 7 jours pour le maïs (Collings et al., 1998 ; Long et al., 2002), et de 2 à 3 jours pour l'avoine et l'orge (Chang et al., 2001 ; Wolbang et al., 2007). Ce résultat est cohérent avec le modèle AC gravi-proprioceptif.

Nos résultats montrent également un ralentissement et un moindre redressement des talles à partir du stade intermédiaire. Ces résultats sont cohérents avec des précédentes études sur diverses céréales (Collings et al., 1998 ; Long et al., 2002 ; Wolbang et al., 2007). Ce ralentissement est visible chez l'ensemble des individus, quel que soit leur inclinaison initiale ou leur cinématique de redressement. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce ralentissement comme la charge de l'épi qui augmente avec le stade de développement par exemple. Une analyse de chaque pulvinus montre l'existence de deux stratégies de régulation de l'activité des pulvini chez les deux génotypes (Figure 63 et 64).

Dans un premier temps, nous montrons que les pulvini d'une même talle ont une activité de courbure différente entre eux, allant d'une inactivité totale à une activité de courbure forte. Ces disparités observées pourraient être attribuées à une différence de bras de levier entre les différents pulvini. En mécanique, l'effet mécanique se traduit en flexion par un moment fléchissant qui est le produit du poids de l'épi par le bras de levier (distance) entre l'épi et le pulvinus considéré. On peut donc considérer que le pulvinus apical a un bras de levier court par rapport à l'épi et donc requiert moins de force pour se courber. À l'opposé du pulvinus basal affichant un bras de levier fort, engendrant alors la nécessité d'une force accrue pour se courber. La disparité d'activité entre les différents pulvini avait été observée par Collings et al. en 1998 chez le maïs. L'hypothèse émise par les auteurs expliquait que ces différences étaient dues à un stade de développement différent des pulvini entre eux (certains étant dans une phase où la capacité de réponse était présente, d'autres non).

Dans un second temps, nous montrons que le moindre redressement de la talle de blé est causé par la perte de capacité de courbure de certains pulvini. Cette perte est modulée par le rang du pulvinus sur la talle, d'abord le basal à un stade précoce, puis le pulvinus médian à un stade intermédiaire. Nos résultats démontrent l'existence d'un pattern général de diminution de la capacité de se courber des 3 pulvini, modulée par leur position sur la talle. Nos résultats montrent une baisse sévère (environ 90%) et un arrêt de la capacité de courbure du pulvinus basal dès le stade précoce, et du pulvinus médian dès le stade intermédiaire. Quant au pulvinus apical, cette baisse n'est que de 27% et montre donc une activité de courbure toujours présente y compris au stade le plus tardif. Cette évolution ne peut pas être expliquée par une évolution du bras de levier et moment fléchissant puis qu'il y a très peu de croissance primaire à ce stade. L'hypothèse d'une différence de stade de développement entre les différences pulvini pourraient être une autre explication avec une perte de capacité des pulvini au fil de la progression de ce stade, avec une rigidité augmentée notamment par une hausse de la lignification. Ainsi, malgré un redressement global des talles identiques, les deux génotypes, montrent par leur disparité d'activité et de régulation au niveau de leurs pulvini, deux modèles légèrement décalés de modulation de leur activité au cours du développement (Figure 68 et 66). Ce pattern montre quelques différences entre les deux génotypes, notamment au niveau du pulvinus basal et médian.

Il serait donc intéressant de continuer l'analyse des différences observées entre nos deux génotypes. Premièrement pour approfondir nos connaissances sur le redressement d'une talle de blé notamment d'un point de vue biomécanique de la structure « pulvinus ». En effet, nous connaissons bien le fonctionnement biomécanique avec la pression de turgescence chez les dicotylédones herbacées comme *Arabidopsis* et le bois de tension chez les ligneux. Pour les graminées, nous ne savons pas comment fonctionne cette structure, notamment de savoir si l'ensemble des amas collenchymateux du pulvinus participe de façon homogène au redressement ou si les cellules de la gaine parenchymateuses s'allongent et participent au redressement. Deuxièmement, pour évaluer l'impact du poids de l'épi, il serait intéressant de comparer des cinématiques de redressement, pour des blés de stade de développement différents, avec une suppression de l'épi. Ces travaux pourraient être réalisés en sphère pour éviter tout impact de la lumière. Enfin, nous savons que l'évolution de l'angle au bout est liée à l'addition de la variation de courbure du chaque pulvinus chez le blé. Pour approfondir nos résultats, il serait intéressant d'étudier chaque variation de courbure en tuteurant le blé (pour

bloquer l'activité du pulvinus basal et médian, puis du seul pulvinus basal). Réduire leur activité à 0 nous permettrait d'avoir l'activité seul du pulvinus apical, puis médian.

Analyse du mécanisme de redressement de la talle de blé et des mécanismes sous-jacents

L'objectif de ces expérimentations était d'étudier les mécanismes de redressement et ceux pouvant impacter positivement ou négativement le redressement de la talle et la différence d'activité des pulvini observées précédemment.

Le mouvement de courbure vers le haut des graminées est causé par une croissance différentielle entre la face supérieure et inférieure du pulvinus. La communauté scientifique a donc émis l'hypothèse que cette croissance était provoquée par un allongement différentiel des fibres collenchymateuses au sein du pulvinus. Chez le maïs, cet allongement a été démontré, avec des fibres collenchymateuses 2 à 3 fois plus longues sur la face inférieure que celles de la face supérieure, suite à une gravistimulation d'un pulvinus basal (Collings et al., 1998). Nos résultats montrent des ratios du même ordre à la suite d'une gravistimulation, avec pour le pulvinus basal et médian des fibres collenchymateuses entre 2.36 et 3.04 fois plus longues sur la face inférieure que sur la face supérieure. Ces différences sont le résultat d'un accroissement différentiel entre les deux faces. Cet allongement différentiel prouve le caractère actif de la croissance différentiel des fibres collenchymateuses dans la mise en place du mouvement de courbure vers le haut du pulvinus.

Cependant, ces résultats montrent des ratios identiques entre le pulvinus basal chez nos deux génotypes (2.52 vs 3.04). Mais à ce stade de développement, le pulvinus basal du génotype montre une activité de courbure plus importante que le pulvinus basal EM. De plus, chez les deux génotypes, nous ne retrouvons pas de différence de ratio entre le pulvinus basal et médian alors même que le pulvinus médian montre une capacité de courbure plus importante au stade précoce. Pour évaluer ces différences, il faudrait développer un modèle biomécanique à l'échelle du pulvinus pour prendre en compte les différences d'allongements en fonction du bras de levier interne de chaque pulvinus. Ces différences pourraient être, encore une fois, expliquée par une différence de bras de levier et donc à l'effort nécessaire pour déplacer l'épi. Un ratio d'allongement identique des fibres collenchymateuses engendrerait une variation de courbure plus forte du pulvinus médian que le basal.

Nous basant sur quelques résultats de la bibliographie, nous avons fait l'hypothèse que le ralentissement de la cinématique de redressement ainsi que la réduction de la courbure des pulvini pourraient être lié à la lignification (Dayanandan et al., 1976).

Il a été montré qu'il y a une lignification différente entre la tige et le pulvinus (Dayanandan et al., 1976) et que cette lignification pourrait bloquer l'activité des pulvini (Chang et al., 2001). La seconde hypothèse concerne l'auxine, qui montre un gradient entre la face supérieure et inférieure de l'orge notamment (Wolbang et al., 2007). Par une étude anatomique et une approche cytologique, nous montrons que la tige est fortement lignifiée à tous les stades de développement et au niveau des 3 pulvini. Son rôle dans la phase de courbure vers le haut semble donc être limité. Pour le vérifier, il faudrait utiliser le modèle biomécanique décrit dans la discussion du Chapitre III.

Nous montrons chez des individus non inclinés, une lignification différentielle des pulvini en fonction des stades de développement et de leur position sur la tige. La lignification débute par le pulvinus basal au stade le plus précoce puis remonte au niveau du pulvinus médian à partir du stade tardif. Le pulvinus apical ne montre aucune lignification à tous les stades de développement. Nous montrons également une précocité de lignification au niveau des individus témoins du génotype EM par rapport au génotype D. Ces résultats permettent de mettre en évidence le lien majeur entre l'état de lignification des fibres collenchymateuses et la capacité de courbure du pulvinus. En effet, un pulvinus très lignifié ne montre aucune capacité de courbure (ex : pulvinus basal du génotype EM). Pour ce qui est du pulvinus médian, au stade intermédiaire puis tardif, son état de lignification progresse en lien avec la baisse de son activité de courbure observée. Le pulvinus apical ne montre aucune lignification à tous les stades de développement, et effectivement aucune baisse sensible de son activité de courbure.

Le second résultat marquant est que nous avons mis en évidence, chez des individus inclinés, l'existence de deux patterns de lignification distincts entre nos deux génotypes étudiés, mais uniquement au niveau du pulvinus basal. Le premier pattern (au niveau du génotype EM) est lié à une lignification plus importante et précoce sur la face supérieure du pulvinus alors que le second pattern (génotype D) montre une lignification débutante sur la face inférieure d'un pulvinus gravistimulé. Nous montrons également que l'inclinaison d'une tige de blé engendre une lignification plus importante chez le génotype D, mais pas chez le génotype EM.

Ces deux résultats pourraient impliquer deux stratégies biomécaniques distinctes chez nos deux génotypes (Figure 65). La première stratégie est liée à une lignification précoce et rapide sur la face supérieure du pulvinus bloquant l'élongation sur cette face, stratégie nommée « stratégie du levier interne ». Toutefois, nos résultats ne montrent pas d'activité de courbure au stade le plus précoce chez ce génotype, malgré les différentiels de lignification et d'allongement des fibres. Ceci suggère une autre cause à l'inhibition de l'activité de courbure.

Pour aller plus, il serait nécessaire d'étudier ce pulvinus à un stade de développement encore plus précoce. La seconde stratégie est liée à une inclinaison favorisant la lignification. Cette dernière progresse plus rapidement pendant la phase de redressement en direction de la verticale. En présence d'une inclinaison, l'élongation différentielle se met en place et la lignification progressive des fibres collenchymateuses de la face inférieure entraîne petit à petit leur blocage. La corrélation entre la progression de la lignification au cours du stade de développement et la diminution du redressement de la talle de blé, et de l'arrêt de l'activité de courbure de certains pulvini, pourrait être interprétées comme une stratégie biomécanique que l'on pourrait appeler « blocage par lignification ».

Cette différence de stratégie biomécanique doit toutefois être confirmée. En effet, il se pourrait que la différence entre le génotype EM et D sur ce plan soit juste lié à un décalage dans le stade de développement. Nos résultats montrent que la lignification est plus précoce chez le génotype EM (sur une face bien précise y compris chez les individus témoins non inclinés) que le génotype D. Ainsi le fait que le génotype EM ne montre aucune activité de courbure au niveau du pulvinus basal pourraient juste indiquer que son activité de courbure est terminée au stade J+7. Pour vérifier cette hypothèse alternative, il faudrait réaliser des inclinaisons et prélèvements plus tôt chez le génotype EM.

De plus, il serait intéressant d'étudier d'autres pistes pouvant amener à une rigidité de cette structure et des parois le rendant moins flexible, par des modifications des parois cellulaire (contenu en cellulose par exemple). Cette augmentation de la teneur en lignine sous l'effet de l'inclinaison a déjà été observée chez des semis inclinés de *Pinus radiata* (Ramos and Herrera, 2013) mais une baisse de la lignine au niveau d'inflorescence d'*Arabidopsis thaliana* (Paul-Victor and Rowe, 2011). En revanche, il n'existe pas de données d'une influence de l'inclinaison sur la teneur en lignine chez les céréales. Une autre hypothèse serait d'expliquer cette hausse de la lignification par l'influence des rayons lumineux. Une talle inclinée est plus exposée aux rayons lumineux que non inclinée. Cet effet a déjà été démontré, notamment chez du mésocotyle de maïs (Schopfer et al., 2001). Cet effet de la lumière pourrait être étudié *via* l'utilisation des sphères, en plaçant le blé en condition isotrope. Ces sphères pourraient être utiles pour évaluer l'impact de la lumière sur l'état de lignification. Il serait intéressant également d'étudier plus spécifiquement l'impact de la lignification, par des mutants sur exprimant ou sous exprimant des gènes de synthèse de la lignine et étudier l'impact sur la cinématique global de redressement et de l'activité de courbure des pulvini. Enfin, il est important de noter que ces deux stratégies biomécaniques ne concernent que le pulvinus basal.

Au stade le plus précoce, le pulvinus médian et apical ne montre aucune lignification mais présente une activité de courbure forte avec un allongement différentiel des fibres.

L'auxine est une hormone importante du monde végétale. Elle est impliquée dans de nombreux mécanismes, notamment dans la mise en place dans l'élongation cellulaire. En effet, un gradient d'auxine permet une flexion active résultant d'une élongation différentielle dans la zone en croissance primaire (Haga & Iino, 2006 ; Moulia & Fournier, 2009) ou d'une distribution asymétrique des contraintes de maturation par la formation différentielle d'un bois spécialisé chez les ligneux (Moulia & Fournier, 2009 ; Groover, 2016).

Nos résultats montrent un gradient d'auxine entre la face supérieure et face inférieure dans certains pulvini chez le blé. Ce résultat est concordant avec des expérimentations menées chez l'orge par Wolbang et al. (2007). Dans le détail, nous observons ce gradient uniquement au niveau du pulvinus médian et apical. Le pulvinus basal ne montre pas un tel gradient. Nous observons également que les deux pulvini qui présentent une forte variation de courbure au stade précoce sont les seuls à présenter un gradient d'auxine, démontrant la corrélation possible entre la mise en place de la variation de courbure et l'auxine. Il faut également noter que ces pulvini montrent un ratio de quantité d'auxine entre les deux faces proches, avec un niveau de variation de courbure identique 4h après l'inclinaison. Pour démontrer le lien entre niveau d'auxine et le niveau de courbure, il serait possible de réaliser des applications directes d'auxine (avec une concentration différente) au niveau des pulvini. Il serait également intéressant d'utiliser des plants mutants au niveau de la synthèse ou transport de l'auxine (mutants *pin* par exemple). De plus, nous montrons que le ratio d'allongement des fibres est plus important au niveau du pulvinus basal que le médian, alors qu'il ne montre pas de gradient d'auxine. Ceci pourrait être expliqué par une courbure plus précoce du pulvinus basal, qui n'aurait pas été visible au stade le plus précoce étudié.

Malgré cela, nos premiers résultats sont très encourageants pour démontrer le rôle de l'auxine dans la mise en place de la courbure et sur les différences observées entre les pulvini selon leur position. Il faudrait donc commencer une nouvelle expérimentation, avec plusieurs points de cinétiques dans le temps, pour réellement évaluer l'impact de l'auxine. Nous pourrions aussi en profiter pour étudier d'autres hormones impliquées dans le contrôle des élongations différentielles notamment les gibbérellines (Cui et al., 2005 ; Pharis et al., 1981 ; Clore et al., 2013).

L'étude de la cinématique de mouvement de la talle de blé révèle que les variations observées sont nombreuses et donc les mécanismes sous-jacents à ce mouvement sont multiples. Suite à une verse, la talle de blé montre un mouvement de redressement à la verticale sous l'impulsion des pulvini. Ce redressement est fortement lié au stade de développement et donc à l'état de lignification des pulvini, qui régule négativement l'activité de courbure de ces structures. Enfin l'auxine joue également un rôle, avec un gradient de concentration entre les deux faces de certains pulvini.

Nos résultats confortent l'utilisation du modèle AC et ouvrent d'autres voies d'améliorations

L'ensemble de nos résultats sont concordants avec le modèle gravi-proprioceptive AC de Bastien et al. (2013), avec une vitesse de courbure et plus globalement une cinématique liée à la perception de l'angle $A(s,t)$ et de la courbure locale $C(s,t)$. Le décalage entre l'activation de la clinorotation et le début du mouvement de retour à la rectitude (quelques jours pour le peuplier, quelques heures pour le blé) n'avait pas été prédit par le modèle AC, ni pris en compte. Ce décalage a déjà été étudié et modélisé en partie (Chauvet et al., 2019 ; Meroz et al., 2019 ; Rivière et al., 2023), pouvant être expliqué par l'inversement de la balance graviperception/proprioception ou par le temps de formation du bois de tension sur la face inférieure chez le peuplier et de la mise en place de l'élongation différentielle chez le blé permettant le mouvement de décourbure. Nos résultats indiquent donc qu'il faut améliorer ce modèle pour mieux prendre en compte l'effet environnement (température notamment) et temps (décalage entre l'activation du clinostat et la décourbure notamment).

Dans nos expérimentations, le modèle biomécanique utilisé est le modèle AC. Ce modèle explique que le contrôle postural est lié à la perception de l'angle d'inclinaison A et de la courbure C , mais ne distingue pas le côté perception et le côté moteur du contrôle postural. Deux nouveaux modèles sont en cours de construction : modèle $AC\alpha$ et $AC\dot{E}$. Ces deux modèles doivent permettre de distinguer l'aspect perception et moteur du contrôle postural. Pour les ligneux, le modèle $AC\alpha$ a été conçu en prenant en compte les différences de contrainte de maturation, contraintes à l'origine des mouvements chez les ligneux au sein du bois de tension, entre la face supérieure et inférieure. La prise en compte des contraintes est primordiale pour éviter de confondre les effets de la perception et du moteur. La prise en compte de cette différence est primordiale au vu de nos résultats qui montrent que le bois de tension est bien le moteur de l'autotropisme. Notre dispositif expérimental et notre expertise peuvent permettre d'améliorer le modèle $AC\alpha$ en le testant et l'incrémentant si nécessaire. Concernant le blé, le

modèle conçu est le modèle ACÈ. Ce modèle prend en compte l'élongation différentielle entre la face supérieure et inférieure. Initialement conçu pour Arabidopsis, il est théoriquement utilisable pour le blé. Cependant, chez les graminées, la zone active permettant le mouvement est constituée par les pulvini. La zone active est donc très localisée sur la tige de blé. Le modèle ne prend encore en compte l'aspect locale des zones actives. De fait, ce modèle ne peut pas être utilisé à ce stade pour le blé.

BIBLIOGRAPHIE

- Abasolo, W. P., Yoshida, M., Yamamoto, H., & Okuyama, T. (2009). Stress generation in aerial roots of *Ficus elastica* (Moraceae). *IAWA journal*, 30(2), 216-224.
- Abe, K., Takahashi, H., & Suge, H. (1996). Lazy gene (*la*) responsible for both an agravitropism of seedlings and lazy habit of tiller growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of plant research*, 109, 381-386.
- Al-Haddad J.M., Kang K.-Y., Mansfield S.D., Telewski F.W. (2013). Chemical responses to modified lignin composition in tension wood of hybrid poplar (*Populus tremula* × *Populus alba*). *Tree Physiology*, 33(4), 365-373
- Alméras, T., & Fournier, M. (2009). Biomechanical design and long-term stability of trees: morphological and wood traits involved in the balance between weight increase and the gravitropic reaction. *Journal of theoretical Biology*, 256(3), 370-381.
- Alméras, T., Thibaut, A., & Gril, J. (2005). Effect of circumferential heterogeneity of wood maturation strain, modulus of elasticity and radial growth on the regulation of stem orientation in trees. *Trees*, 19, 457-467.
- Alonso-Serra J., Shi X., Peaucelle A., Rastas P., Bourdon M., Immanen J., Takahashi J., Koivula H., Eswaran G., Muranen S., Help H., Smolander O.-P., Su C., Safronov O., Gerber L., Salojärvi J., Hagqvist R., Mähönen A.P., Helariutta Y., Nieminen K. (2020). ELIMÄKI Locus Is Required for Vertical Proprioceptive Response in Birch Trees. *Current Biology* 30 (4): 589-599.e5. doi:10.1016/j.cub.2019.12.016
- Ancelin, P., Courbaud, B., & Fourcaud, T. (2004). Development of an individual tree-based mechanical model to predict wind damage within forest stands. *Forest ecology and management*, 203(1-3), 101-121.
- Andersson-Gunnerås, S., Mellerowicz, E. J., Love, J., Segerman, B., Ohmiya, Y., Coutinho, P. M., ... & Sundberg, B. (2006). Biosynthesis of cellulose-enriched tension wood in *Populus*: global analysis of transcripts and metabolites identifies biochemical and developmental regulators in secondary wall biosynthesis. *The Plant Journal*, 45(2), 144-165.
- Andersson-Gunnerås, S., Hellgren, J. M., Björklund, S., Regan, S., Moritz, T., & Sundberg, B. (2003). Asymmetric expression of a poplar ACC oxidase controls ethylene production during gravitational induction of tension wood. *The Plant Journal*, 34(3), 339-349.
- Archer, R. R. (2013). Growth stresses and strains in trees (Vol. 3). *Springer Science & Business Media*.
- Azuma, T., Takenaga, Y., Sasayama, D., Inoue, Y., Okishio, T., & Itoh, K. (2011). Characterization of gravitropic response of leaf-sheath pulvini in floating rice. *Tropical Agriculture and Development*, 55(3), 108-112.
- Azri W, Ennajah A, Nasr Z, Woo SY, Khaldi A (2014). Transcriptome profiling the basal region of poplar stems during the early gravitropic response. *Biol Plantarum*, 58:55–63.
- Baba K., Adachi K., Take T., Yokoyama T., Itoh T., Nakamura T. (1995). Induction of Tension Wood in GA3-treated Branches of the Weeping Type of Japanese Cherry, *Prunus spachiana*. *Plant and Cell Physiology* 36 (6): 983–988. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a078870
- Bai, W. Q., Xiao, Y. H., Zhao, J., Song, S. Q., Hu, L., Zeng, J. Y., ... & Pei, Y. (2014). Gibberellin overproduction promotes sucrose synthase expression and secondary cell wall deposition in cotton fibers. *PLoS One*, 9(5), e96537.
- Baluška, F., & Hasenstein, K. H. (1997). Root cytoskeleton: its role in perception of and response to gravity. *Planta*, 203, S69-S78.

- Barbosa I.C. (2014). Dynamic control of auxin transport-dependent growth by AGCVIII protein kinases. *Current Opinion in Plant Biology*, 22, 108-115
- Barbosa, I. C., Zourelidou, M., Willige, B. C., Weller, B., & Schwechheimer, C. (2014). D6 PROTEIN KINASE activates auxin transport-dependent growth and PIN-FORMED phosphorylation at the plasma membrane. *Developmental cell*, 29(6), 674-685.
- Baskin, T. I., & Iino, M. (1987). An action spectrum in the blue and ultraviolet for phototropism in alfalfa. *Photochemistry and photobiology*, 46(1), 127-136.
- Baster, P., Robert, S., Kleine-Vehn, J., Vanneste, S., Kania, U., Grunewald, W., ... & Friml, J. (2013). SCFTIR1/AFB-auxin signaling regulates PIN vacuolar trafficking and auxin fluxes during root gravitropism. *The EMBO journal*, 32(2), 260-274.
- Bastien R., Bohr T., Moulia B., Douady S. (2013). Unifying model of shoot gravitropism reveals proprioception as a central feature of posture control in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 110 (2): 755–760. doi:10.1073/pnas.1214301109
- Bastien R., Douady S., Moulia B. (2015). A Unified Model of Shoot Tropism in Plants: Photo-, Gravi- and Propio-ception. *PLoS Comput Biol* 11 (2): e1004037. doi:10.1371/journal.pcbi.1004037
- Baum G., Long J.C., Jenkins G.I., Trewavas A.J. (1999). Stimulation of the blue light phototropic receptor NPH1 causes a transient increase in cytosolic Ca²⁺. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (23): 13554–13559. doi:10.1073/pnas.96.23.13554
- Bennett T., Brockington S.F., Rothfels C., Graham S.W., Stevenson D., Kutchan T., Rolf M., Thomas P., Wong G.K.-S., Leyser O., Glover B.J., Harrison C.J. (2014). Paralogous Radiations of PIN Proteins with Multiple Origins of Noncanonical PIN Structure. *Molecular Biology and Evolution*, vol 31, p 2042-2060
- Berridge, M. J. (1993). Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature*, 361(6410), 315-325.
- Bérut, A., Chauvet, H., Legué, V., Moulia, B., Pouliquen, O., & Forterre, Y. (2018). Gravisensors in plant cells behave like an active granular liquid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(20), 5123-5128.
- Berry, P. M. (1998). Predicting lodging in winter wheat (Doctoral dissertation, University of Nottingham).
- Berry, P. M., Spink, J. H., Gay, A. P., & Craigon, J. (2003). A comparison of root and stem lodging risks among winter wheat cultivars. *The Journal of Agricultural Science*, 141(2), 191-202.
- Berry, P. M., Sterling, M., Spink, J. H., Baker, C. J., Sylvester-Bradley, R., Mooney, S. J., ... & Ennos, A. R. (2004). Understanding and reducing lodging in cereals. *Advances in agronomy*, 84(04), 215-269.
- Bhalerao R.P., Fischer U. (2017). Environmental and hormonal control of cambial stem cell dynamics. *Journal of experimental botany*, 68(1), 79-87
- Blancaflor E.B., Fasano J.M., Gilroy S. (1998). Mapping the Functional Roles of Cap Cells in the Response of Arabidopsis Primary Roots to Gravity. *Plant Physiology*, 116(1), 213-222
- Blancaflor E.B., Masson P.H. (2003). Plant Gravitropism. Unraveling the Ups and Downs of a Complex Process. *Plant Physiology* 133 (4): 1677–1690. doi:10.1104/pp.103.032169
- Blancaflor, E. B., & Hasenstein, K. H. (1995). Growth and microtubule orientation of Zea mays roots subjected to osmotic stress. *International journal of plant sciences*, 156(6), 774-783.
- Boonsirichai K., Guan C., Chen R., Masson P.H. (2002). ROOT GRAVITROPISM : An Experimental Tool to Investigate Basic Cellular and Molecular Processes Underlying Mechanosensing and Signal Transmission in Plants. *Annu Rev Plant Biol* 53 (1): 421–447. doi:10.1146/annurev.arplant.53.100301.135158

- Boonsirichai K., Sedbrook J.C., Chen R., Gilroy S., Masson P.H. (2003). ALTERED RESPONSE TO GRAVITY Is a Peripheral Membrane Protein That Modulates Gravity-Induced Cytoplasmic Alkalinization and Lateral Auxin Transport in Plant Statocytes. *The Plant Cell*, 15(11), 2612-2625
- Boyd, J. D., & Foster, R. C. (1975). Microfibrils in primary and secondary wall growth develop trellis configurations. *Canadian Journal of Botany*, 53(23), 2687-2701.
- Bozorg, B., Krupinski, P., & Jönsson, H. (2014). Stress and strain provide positional and directional cues in development. *PLoS computational biology*, 10(1), e1003410.
- Braam, J. (2005). In touch: plant responses to mechanical stimuli. *New Phytologist*, 165(2), 373-389.
- Braidwood, L., Breuer, C., & Sugimoto, K. (2014). My body is a cage: mechanisms and modulation of plant cell growth. *New Phytologist*, 201(2), 388-402.
- Brennan T., Gunckel J.E., Frenkel C. (1976). Stem Sensitivity and Ethylene Involvement in Phototropism of Mung Bean. *Plant Physiol* 57 (2): 286–289. doi:10.1104/pp.57.2.286
- Briggs W.R., Christie J.M. (2002). Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. *Trends in Plant Science* 7 (5): 204–210. doi:10.1016/S1360-1385(02)02245-8
- Briggs W.R., Huala E. (1999). Blue-Light Photoreceptors in Higher Plants. *Annu Rev Cell Dev Biol* 15 (1): 33–62. doi:10.1146/annurev.cellbio.15.1.33
- Brock T.G., Kapen E.H., Ghosheh N.S., Kaufman P.B. (1991). Dynamics of Auxin Movement in the Gravistimulated Leaf-sheath Pulvinus of Oat (*Avena sativa*). *Journal of Plant Physiology* 138 (1): 57–62. doi:10.1016/S0176-1617(11)80730-3
- Brock T.G., Kaufman P.B. (1988). Competency for Gravitropism in the Leaf-Sheath Pulvinus of *Avena sativa*: Onset to Loss. *American Journal of Botany* 75 (11): 1672–1677
- Brown, W. V., Pratt, G. A., & Mobley, H. M. (1959). Grass morphology and systematics. II. The nodal pulvinus. *The Southwestern Naturalist*, 126-130.
- Bushart, T. J., Cannon, A. E., ul Haque, A., San Miguel, P., Mostajeran, K., Clark, G. B., ... & Roux, S. J. (2013). RNA-seq analysis identifies potential modulators of gravity response in spores of *Ceratopteris* (Parkeriaceae): evidence for modulation by calcium pumps and apyrase activity. *American Journal of Botany*, 100(1), 161-174.
- Bygdell, J., Srivastava, V., Obudulu, O., Srivastava, M. K., Nilsson, R., Sundberg, B., ... & Wingsle, G. (2017). Protein expression in tension wood formation monitored at high tissue resolution in *Populus*. *Journal of Experimental Botany*, 68(13), 3405-3417.
- Cai M., Huang H., Ni F., Tong Z., Lin E., Zhu M. (2018). RNA-Seq analysis of differential gene expression in *Betula luminifera* xylem during the early stages of tension wood formation. *PeerJ* 6: e5427. doi:10.7717/peerj.5427
- Chaffey, N., Cholewa, E., Regan, S., & Sundberg, B. (2002). Secondary xylem development in *Arabidopsis*: a model for wood formation. *Physiologia plantarum*, 114(4), 594-600.
- Chang S., Cho M.H., Kang B.G., Kaufman P.B. (2001). Changes in starch content in oat (*Avena sativa*) shoot pulvini during the gravitropic response. *Journal of Experimental Botany* 52 (358): 1029–1040. doi:10.1093/jexbot/52.358.1029
- Chang, S. C., & Kaufman, P. B. (2000). Effects of staurosporine, okadaic acid and sodium fluoride on protein phosphorylation in graviresponding oat shoot pulvini. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38(4), 315-323.
- Chauvet H., Pouliquen O., Forterre Y., Legué V., Moulia B. (2016). Inclination not force is sensed by plants during shoot gravitropism. *Sci Rep* 6 (1): 35431. doi:10.1038/srep35431
- Chen, J., Chen, B., & Zhang, D. (2015). Transcript profiling of *Populus tomentosa* genes in normal, tension, and opposite wood by RNA-seq. *BMC genomics*, 16(1), 1-16.
- Chen R., Rosen E., Masson P.H. (1999). Gravitropism in Higher Plants. *Plant Physiology* 120 (2): 343–350. doi:10.1104/pp.120.2.343

- Cho, M., & Cho, H. (2013). The function of ABCB transporters in auxin transport. *Plant signaling & behavior*, 8(2), 642-54.
- Cholodny N. (1928). Beiträge zur hormonalen Theorie von Tropismen. *Planta* 6 (1): 118–134. doi:10.1007/BF01915869
- Christie J.M. (2007). Phototropin Blue-Light Receptors. *Annu Rev Plant Biol* 58 (1): 21–45. doi:10.1146/annurev.arplant.58.032806.103951
- Christie J.M., Murphy A.S. (2013). Shoot phototropism in higher plants: New light through old concepts. *American Journal of Botany* 100 (1): 35–46. doi:10.3732/ajb.1200340
- Christie J.M., Salomon M., Nozue K., Wada M., Briggs W.R. (1999). LOV (light, oxygen, or voltage) domains of the blue-light photoreceptor phototropin (nph1): Binding sites for the chromophore flavin mononucleotide. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (15): 8779–8783. doi:10.1073/pnas.96.15.8779
- Christie J.M., Yang H., Richter G.L., Sullivan S., Thomson C.E., Lin J., Titapiwatanakun B., Ennis M., Kaiserli E., Lee O.R., Adamec J., Peer W.A., Murphy A.S. (2011). phot1 Inhibition of ABCB19 Primes Lateral Auxin Fluxes in the Shoot Apex Required For Phototropism. *PLoS Biology*.
- Clair B., Ghislain B., Prunier J., Lehnebach R., Beauchêne J., Alméras T. (2019). Mechanical contribution of secondary phloem to postural control in trees: the bark side of the force. *New Phytol* 221 (1): 209–217. doi:10.1111/nph.15375
- Clair, B., Alteyrac, J., Gronvold, A., Espejo, J., Chanson, B., & Alméras, T. (2013). Patterns of longitudinal and tangential maturation stresses in Eucalyptus nitens plantation trees. *Annals of Forest Science*, 70, 801-811.
- Clair, B., Alméras, T., Pilate, G., Jullien, D., Sugiyama, J., & Riekkel, C. (2011). Maturation stress generation in poplar tension wood studied by synchrotron radiation microdiffraction. *Plant physiology*, 155(1), 562-570.
- Clair B., Gril J., Di Renzo F., Yamamoto H., Quignard F. (2008). Characterization of a Gel in the Cell Wall To Elucidate the Paradoxical Shrinkage of Tension Wood. *Biomacromolecules* 9 (2): 494–498. doi:10.1021/bm700987q
- Clair, B., Jaouen, G., Beauchêne, J., & Fournier, M. (2003). Mapping radial, tangential and longitudinal shrinkages and relation to tension wood in discs of the tropical tree *Symphonia globulifera*. *Holzforschung*
- Clair, B., Ruelle, J., Beauchêne, J., Prévost, M. F., & Fournier, M. (2006). Tension wood and opposite wood in 21 tropical rain forest species. *Iawa Journal*, 27(3), 329-338.
- Clair, B., & Thibaut, B. (2001). Shrinkage of the gelatinous layer of poplar and beech tension wood. *IAWA journal*, 22(2), 121-131.
- Cleland R. (1967). A dual role of turgor pressure in auxin-induced cell elongation in *Avena* coleoptiles. *Planta* 77 (2): 182–191. doi:10.1007/BF00387455
- Clore A.M. (2013). Cereal Grass Pulvini: Agronomically Significant Models for Studying Gravitropism Signaling and Tissue Polarity. *American Journal of Botany* 100 (1): 101–110. doi:10.3732/ajb.1200286
- Clore, A. M., Turner, W. S., Morse, A. M., & Whetten, R. W. (2003). Changes in mitogen-activated protein kinase activity occur in the maize pulvinus in response to gravistimulation and are important for the bending response. *Plant, Cell & Environment*, 26(7), 991-1001.
- Collings D.A., Winter H., Wyatt S.E., Allen N.S. (1998). Growth dynamics and cytoskeleton organization during stem maturation and gravity-induced stem bending in *Zea mays* L. *Planta* 207 (2): 246–258. doi:10.1007/s004250050480
- Correll M.J., Kiss J.Z. (2002). Interactions Between Gravitropism and Phototropism in Plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 21 (2): 89–101. doi:10.1007/s003440010056

- Cosgrove, D. J. (1993). 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(1), 10-21.
- Cosgrove, D. (1986). Biophysical control of plant cell growth. *Annual Review of Plant Physiology*, 37(1), 377-405.
- Coutand, C., Adam, B., Ploquin, S., & Moulia, B. (2019). A method for the quantification of phototropic and gravitropic sensitivities of plants combining an original experimental device with model-assisted phenotyping: Exploratory test of the method on three hardwood tree species. *PLoS One*, 14(1), e0209973.
- Coutand C., Fournier M., Moulia B. (2007). The Gravitropic Response of Poplar Trunks: Key Roles of Prestressed Wood Regulation and the Relative Kinetics of Cambial Growth versus Wood Maturation. *Plant Physiol* 144 (2): 1166–1180. doi:10.1104/pp.106.088153
- Coutand C., Moulia B. (2000). Biomechanical study of the effect of a controlled bending on tomato stem elongation: local strain sensing and spatial integration of the signal. *Journal of experimental botany*, vol 51, no 352, p. 1825-1842
- Côté Jr, W. A., Day, A. C., & Timell, T. E. (1969). A contribution to the ultrastructure of tension wood fibers. *Wood Science and Technology*, 3(4), 257-271.
- Cronshaw, J., & Morey, P. R. (1968). The effect of plant growth substances on the development of tension wood in horizontally inclined stems of *Acer rubrum* seedlings. *Protoplasma*, 65, 379-391.
- Cséplő, Á., Zsigmond, L., Andrási, N., Baba, A. I., Labhane, N. M., Pető, A., ... & Rigó, G. (2021). The AtCRK5 protein kinase is required to maintain the ROS NO balance affecting the PIN2-mediated root gravitropic response in Arabidopsis. *International journal of molecular sciences*, 22(11), 5979.
- Cui, S., Huang, F., Wang, J., Ma, X., Cheng, Y., & Liu, J. (2005). A proteomic analysis of cold stress responses in rice seedlings. *Proteomics*, 5(12), 3162-3172.
- Dayanandan P., Hebard F.V., Baldwin V.D., Kaufman P.B. (1977). Structure of Gravity-Sensitive Sheath and Internodal Pulvini in Grass Shoots. *American Journal of Botany* 64 (10): 1189–1199
- Dayanandan P., Hebard F.V., Kaufman P.B. (1976). Cell elongation in the grass pulvinus in response to geotropic stimulation and auxin application. *Planta* 131 (3): 245–252. doi:10.1007/BF00385422
- De Bang, L., Paez-Garcia, A., Cannon, A. E., Chin, S., Kolape, J., Liao, F., ... & Blancaflor, E. B. (2020). Brassinosteroids inhibit autotropic root straightening by modifying filamentous-actin organization and dynamics. *Frontiers in Plant Science*, 11, 5.
- Deeks M.J., Rodrigues C., Dimmock S., Ketelaar T., Maciver S.K., Malhó R., Hussey P.J. (2007). *Arabidopsis* CAP1 – a key regulator of actin organisation and development. *Journal of Cell Science* 120 (15): 2609–2618. doi:10.1242/jcs.007302
- Déjardin, A., Laurans, F., Arnaud, D., Breton, C., Pilate, G., & Leplé, J. C. (2010). Wood formation in Angiosperms. *Comptes rendus biologiques*, 333(4), 325-334.
- Digby, J., & Firn, R. D. (1995). The gravitropic set-point angle (GSA): the identification of an important developmentally controlled variable governing plant architecture. *Plant, cell & environment*, 18(12), 1434-1440.
- Ding Z., Galván-Ampudia C.S., Demarsy E., Łangowski Ł., Kleine-Vehn J., Fan Y., Morita M.T., Tasaka M., Fankhauser C., Offringa R., Friml J. (2011). Light-mediated polarization of the PIN3 auxin transporter for the phototropic response in Arabidopsis. *Nature cell biology*, 13(4), 447-452
- Ding, J. P., & Pickard, B. G. (1993). Modulation of mechanosensitive calcium-selective cation channels by temperature. *The Plant Journal*, 3(5), 713-720.

- Dill, A., Jung, H. S., & Sun, T. P. (2001). The DELLA motif is essential for gibberellin-induced degradation of RGA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(24), 14162-14167.
- Djerbi, S., Lindskog, M., Arvestad, L., Sterky, F., & Teeri, T. T. (2005). The genome sequence of black cottonwood (*Populus trichocarpa*) reveals 18 conserved cellulose synthase (CesA) genes. *Planta*, 221, 739-746.
- Donaldson, L. A. (2001). Lignification and lignin topochemistry—an ultrastructural view. *Phytochemistry*, 57(6), 859-873.
- Doll, D. (2000). Statistiques historiques des grands chablis éoliens en Europe occidentale depuis le milieu du XIX siècle: analyse critique. *Dossiers de l'Environnement de l'INRA* (France), (20).
- Du, S., Uno, H., & Yamamoto, F. (2004). Roles of auxin and gibberellin in gravity-induced tension wood formation in *Aesculus turbinata* seedlings. *Iawa Journal*, 25(3), 337-347.
- Du S., Yamamoto F. (2007). An Overview of the Biology of Reaction Wood Formation. *J Integrative Plant Biology* 49 (2): 131–143. doi:10.1111/j.1744-7909.2007.00427.x
- Du, S., Uno, H., & Yamamoto, F. (2004). Roles of auxin and gibberellin in gravity-induced tension wood formation in *Aesculus turbinata* seedlings. *Iawa Journal*, 25(3), 337-347.
- Easson, D. L., White, E. M., & Pickles, S. J. (1993). The effects of weather, seed rate and cultivar on lodging and yield in winter wheat. *The Journal of Agricultural Science*, 121(2), 145-156.
- Eloy, C., Fournier, M., Lacoïnte, A., & Moulia, B. (2017). Wind loads and competition for light sculpt trees into self-similar structures. *Nature communications*, 8(1), 1014.
- Endo M., Nakamura S., Araki T., Mochizuki N., Nagatani A. (2005). Phytochrome B in the Mesophyll Delays Flowering by Suppressing FLOWERING LOCUS T Expression in Arabidopsis Vascular Bundles. *The Plant Cell*, 17(7), 1941-1952
- Esmon C.A., Pedmale U.V., Liscum E. (2005). Plant tropisms: providing the power of movement to a sessile organism. *Int J Dev Biol* 49 (5–6): 665–674. doi:10.1387/ijdb.052028ce
- Fahn, A. (1990). *Plant Anatomy*, 4th edn Pergamon Press. New York.
- Fang C.-H., Clair B., Gril J., Liu S.-Q. (2008). Growth Stresses are Highly Controlled by the Amount of G-Layer in Poplar Tension Wood. *IAWA Journal* 29 (3): 237–246. doi:10.1163/22941932-90000183
- Fankhauser C., Christie J.M. (2015). Plant Phototropic Growth. *Current Biology* 25 (9): R384–R389. doi:10.1016/j.cub.2015.03.020
- Fasano, J. M., Swanson, S. J., Blancaflor, E. B., Dowd, P. E., Kao, T. H., & Gilroy, S. (2001). Changes in root cap pH are required for the gravity response of the Arabidopsis root. *The Plant Cell*, 13(4), 907-921.
- Felten, J., Vahala, J., Love, J., Gorzsás, A., Rüggeberg, M., Delhomme, N., ... & Sundberg, B. (2018). Ethylene signaling induces gelatinous layers with typical features of tension wood in hybrid aspen. *New Phytologist*, 218(3), 999-1014.
- Firm R.D., Digby J. (1997). Solving the puzzle of gravitropism ± has a lost piece been found?. *Planta*, 203, 159-163
- Firm R.D., Digby J. (1979). A study of the autotropic straightening reaction of a shoot previously curved during geotropism. *Plant Cell Environ* 2 (2): 149–154. doi:10.1111/j.1365-3040.1979.tb00786.x
- Firm, R. D., & Digby, J. (1980). The establishment of tropic curvatures in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 31(1), 131-148.
- Firm, R. D., & Myers, A. B. (1989). Plant movements caused by differential growth—Unity or diversity of mechanisms?. *Environmental and experimental botany*, 29(1), 47-55.
- Fischer K., Schopfer P. (1998). Physical strain-mediated microtubule reorientation in the epidermis of gravitropically or phototropically stimulated maize coleoptiles. *The Plant Journal*, 15(1), 119-123

- Fisher, J. B. (2008). Anatomy of axis contraction in seedlings from a fire prone habitat. *American Journal of Botany*, 95(11), 1337-1348.
- Fisher, J. B., & Mueller, R. J. (1983). Reaction anatomy and reorientation in leaning stems of balsa (*Ochroma*) and papaya (*Carica*). *Canadian journal of botany*, 61(3), 880-887.
- Folta K.M., Lieg E.J., Durham T., Spalding E.P. (2003). Primary Inhibition of Hypocotyl Growth and Phototropism Depend Differently on Phototropin-Mediated Increases in Cytoplasmic Calcium Induced by Blue Light. *Plant Physiology* 133 (4): 1464–1470. doi:10.1104/pp.103.024372
- Fourcaud, T., & Lac, P. (2003). Numerical modelling of shape regulation and growth stresses in trees: I. An incremental static finite element formulation. *Trees*, 17, 23-30.
- Fourcaud, T., Blaise, F., Lac, P., Castéra, P., & De Reffye, P. (2003). Numerical modelling of shape regulation and growth stresses in trees: II. Implementation in the AMAPpara software and simulation of tree growth. *Trees*, 17, 31-39.
- Fournier, M., Chanson, B., Thibaut, B., & Guitard, D. (1994). Mesures des déformations résiduelles de croissance à la surface des arbres, en relation avec leur morphologie. Observations sur différentes espèces. In *Annales des sciences forestières* (Vol. 51, No. 3, pp. 249-266). *EDP Sciences*.
- Fournier, M., Stokes, A., Coutand, C., Fourcaud, T., & Moulia, B. (2006). Tree biomechanics and growth strategies in the context of forest functional ecology. *Ecology and biomechanics: a mechanical approach to the ecology of animals and plants*, 1-34.
- Friml J. (2003). Auxin transport & shaping the plant. *Current Opinion in Plant Biology*. 6(1), 7-12
- Friml J., Wiśniewska J., Benková E., Mendgen K., Palme K. (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in Arabidopsis. *Nature* 415 (6873): 806–809. doi:10.1038/415806a
- Fukaki H., Fujisawa H., Tasaka M. (1996). How do plant shoots bend up? — The initial step to elucidate the molecular mechanisms of shoot gravitropism using Arabidopsis thaliana. *J Plant Res* 109 (2): 129–137. doi:10.1007/BF02344538
- Funada, R., Miura, T., Shimizu, Y., Kinase, T., Nakaba, S., Kubo, T., & Sano, Y. (2008). Gibberellin-induced formation of tension wood in angiosperm trees. *Planta*, 227, 1409-1414.
- Gallego-Bartolomé J., Kami C., Fankhauser C., Alabadí D., Blázquez M.A. (2011). A Hormonal Regulatory Module That Provides Flexibility to Tropic Responses. *Plant Physiology* 156 (4): 1819–1825. doi:10.1104/pp.111.173971
- Gao, H. B., Chu, Y. J., & Xue, H. W. (2013). Phosphatidic acid (PA) binds PP2AA1 to regulate PP2A activity and PIN1 polar localization. *Molecular Plant*, 6(5), 1692-1702.
- Gardiner, B., Berry, P., & Moulia, B. (2016). Wind impacts on plant growth, mechanics and damage. *Plant science*, 245, 94-118.
- Geisler M., Blakeslee J.J., Bouchard R., Lee O.R., Vincenzetti V., Bandyopadhyay A., Titapiwatanakun B., Peer W.A. (2005). Cellular efflux of auxin catalyzed by the Arabidopsis MDR/PGP transporter AtPGP1. *The Plant Journal*
- Gerttula S., Zinkgraf M., Muday G.K., Lewis D.R., Ibatullin F.M., Brumer H., Hart F., Mansfield S.D., Filkov V., Groover A. (2015). Transcriptional and Hormonal Regulation of Gravitropism of Woody Stems in *Populus*. *Plant Cell* tpc.15.00531. doi:10.1105/tpc.15.00531
- Ghislain B., Clair B. (2017). Diversity in the organisation and lignification of tension wood fibre walls – A review. *IAWA Journal* 38 (2): 245–265. doi:10.1163/22941932-20170170
- Goicoechea, M., Lacombe, E., Legay, S., Mihaljevic, S., Rech, P., Jauneau, A., ... & Grima-Pettenati, J. (2005). EgMYB2, a new transcriptional activator from Eucalyptus xylem, regulates secondary cell wall formation and lignin biosynthesis. *The Plant Journal*, 43(4), 553-567.
- Goldsmith M.H.M. (1977). The Polar Transport of Auxin. *Annual Review of Plant Physiology*, 28(1), 439-478

- Goswami, L., Dunlop, J. W., Jungnikl, K., Eder, M., Gierlinger, N., Coutand, C., ... & Burgert, I. (2008). Stress generation in the tension wood of poplar is based on the lateral swelling power of the G-layer. *The Plant Journal*, 56(4), 531-538.
- Goyal A., Szarzynska B., Fankhauser C. (2013). Phototropism: at the crossroads of light-signaling pathways. *Trends in Plant Science* 18 (7): 393–401. doi:10.1016/j.tplants.2013.03.002
- Gray W.M., Kepinski S., Rouse D., Leyser O., Estelle M. (2001). Auxin regulates SCFTIR1-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature*, 414(6861); 271-276
- Green, P. B., & King, A. (1966). A mechanism for the origin of specifically oriented textures in development with special reference to *Nitella* wall texture. *Australian Journal of Biological Sciences*, 19(3), 421-438.
- Groover A. (2016). Gravitropisms and reaction woods of forest trees – evolution, functions and mechanisms. *New Phytologist*, 211(3), 790-802
- Grunewald W., Friml J. (2010). The march of the PINs: developmental plasticity by dynamic polar targeting in plant cells. *The EMBO journal*, 29(16), 2700-2714
- Gutjahr, C., Riemann, M., Müller, A., Düchting, P., Weiler, E. W., & Nick, P. (2005). Cholodny–Went revisited: a role for jasmonate in gravitropism of rice coleoptiles. *Planta*, 222, 575-585.
- Haberlandt, G. (1900). 31. G. Haberlandt: Ueber die Perception des geotropischen Reizes. *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, 18(6), 261-272.
- Haga K., Iino M. (2006). Asymmetric distribution of auxin correlates with gravitropism and phototropism but not with autostraightening (autotropism) in pea epicotyls. *Journal of Experimental Botany* 57 (4): 837–847. doi:10.1093/jxb/erj069
- Hamant, O., Heisler, M. G., Jonsson, H., Krupinski, P., Uyttewaal, M., Bokov, P., ... & Traas, J. (2008). Developmental patterning by mechanical signals in *Arabidopsis*. *Science*, 322(5908), 1650-1655.
- Hangarter R.P. (1997). Gravity, light and plant form. *Plant Cell Environ* 20 (6): 796–800. doi:10.1046/j.1365-3040.1997.d01-124.x
- Harmer S.L., Brooks C.J. (2018). Growth-mediated plant movements: hidden in plain sight. *Current Opinion in Plant Biology* 41: 89–94. doi:10.1016/j.pbi.2017.10.003
- Harpaz-Saad, S., McFarlane, H. E., Xu, S., Divi, U. K., Forward, B., Western, T. L., & Kieber, J. J. (2011). Cellulose synthesis via the FEI2 RLK/SOS5 pathway and cellulose synthase 5 is required for the structure of seed coat mucilage in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 68(6), 941-953.
- Hartmann F., Chauvet-Thiry H., Franchel J., Ploquin S., Moulia B., Leblanc-Fournier N., Decourteix M. (2022). Methods for a Quantitative Comparison of and Posture Control Over a Wide Range of Herbaceous and Woody Species. *Plant Gravitropism: Methods and Protocols*, 117-131.
- Hawker, L. E. (1932). A quantitative study of the geotropism of seedlings with special reference to the nature and development of their statolith apparatus. *Annals of Botany*, 46(181), 121-157.
- Heilmann I. (2001). Transient Dissociation of Polyribosomes and Concurrent Recruitment of Calreticulin and Calmodulin Transcripts in Gravistimulated Maize Pulvini. *Plant Physiology* 131 (2): 824–837. doi:10.1104/pp.010538
- Hellgren J.M., Olofsson K., Sundberg B. (2004). Patterns of Auxin Distribution during Gravitational Induction of Reaction Wood in Poplar and Pine. *Plant Physiology* 135 (1): 212–220. doi:10.1104/pp.104.038927
- Himmelspach, R., & Nick, P. (2001). Gravitropic microtubule reorientation can be uncoupled from growth. *Planta*, 212, 184-189.
- Hohm T., Preuten T., Fankhauser C. (2013). Phototropism: Translating light into directional growth. *American journal of botany*, 100(1), 47-59

- Holling, C. S. (1973). Resilience and stability of ecological systems. *Annual review of ecology and systematics*, 4(1), 1-23.
- Hoson, T., Kamisaka, S., Yamamoto, R., Yamashita, M., & Masuda, Y. (1995). Automorphosis of maize shoots under simulated microgravity on a three-dimensional clinostat. *Physiologia Plantarum*, 93(2), 346-351.
- Hoson T., Soga K., Mori R., Saiki M., Nakamura Y., Wakabayashi K., Kamisaka S. (2004). Cell wall changes involved in the automorphic curvature of rice coleoptiles under microgravity conditions in space. *J Plant Res* 117 (6): 449–455. doi:10.1007/s10265-004-0182-2
- Huang, G. Q., Gong, S. Y., Xu, W. L., Li, W., Li, P., Zhang, C. J., ... & Li, X. B. (2013). A fasciclin-like arabinogalactan protein, GhFLA1, is involved in fiber initiation and elongation of cotton. *Plant Physiology*, 161(3), 1278-1290.
- Ikushima T., Shimmen T. (2005). Mechano-sensitive orientation of cortical microtubules during gravitropism in azuki bean epicotyls. *Journal of plant research*, 118, 19-26
- Immanen, J., Nieminen, K., Smolander, O. P., Kojima, M., Serra, J. A., Koskinen, P., ... & Helariutta, Y. (2016). Cytokinin and auxin display distinct but interconnected distribution and signaling profiles to stimulate cambial activity. *Current Biology*, 26(15), 1990-1997.
- Ingemarsson, B. S., Lundqvist, E., & Eliasson, L. (1991). Seasonal variation in ethylene concentration in the wood of *Pinus sylvestris* L. *Tree physiology*, 8(3), 273-279.
- Inoue S., Kinoshita T., Matsumoto M., Nakayama K.I., Doi M., Shimazaki K. (2008). Blue light-induced autophosphorylation of phototropin is a primary step for signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 105 (14): 5626–5631. doi:10.1073/pnas.0709189105
- Jasinski, M., Ducos, E., Martinoia, E., & Boutry, M. (2003). The ATP-binding cassette transporters: structure, function, and gene family comparison between rice and Arabidopsis. *Plant physiology*, 131(3), 1169-1177.
- Jedel, P. E., & Helm, J. H. (1991). Lodging effects on a semidwarf and two standard barley cultivars. *Agronomy Journal*, 83(1), 158-161.
- Jiang, S., Furukawa, I., Honma, T., Mori, M., Nakamura, T., & Yamamoto, F. (1998). Effects of applied gibberellins and uniconazole-P on gravitropism and xylem formation in horizontally positioned *Fraxinus mandshurica* seedlings. *Journal of wood science*, 44, 385-391.
- Jin H., Do J., Moon D., Noh E.W., Kim W., Kwon M. (2011). EST analysis of functional genes associated with cell wall biosynthesis and modification in the secondary xylem of the yellow poplar (*Liriodendron tulipifera*) stem during early stage of tension wood formation. *Planta*, 234, 959-977.
- Jarvis, M. C., Hall, M. A., Threlfall, D. R., & Friend, J. (1981). The polysaccharide structure of potato cell walls: chemical fractionation. *Planta*, 152, 93-100.
- Johannes, E., Collings, D. A., Rink, J. C., & Allen, N. S. (2001). Cytoplasmic pH dynamics in maize pulvinal cells induced by gravity vector changes. *Plant Physiology*, 127(1), 119-130.
- Joo, J. H., Bae, Y. S., & Lee, J. S. (2001). Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. *Plant physiology*, 126(3), 1055-1060.
- Joseleau J.-P., Imai T., Kuroda K., Ruel K. (2004). Detection in situ and characterization of lignin in the G-layer of tension wood fibres of *Populus deltoides*. *Planta* 219 (2): 338–345. doi:10.1007/s00425-004-1226-5
- Jourez, B., Riboux, A., & Leclercq, A. (2001). Anatomical characteristics of tension wood and opposite wood in young inclined stems of poplar (*Populus euramericana* cv'Ghoy'). *Iawa Journal*, 22(2), 133-157.
- Junghans, U., Langenfeld-Heyser, R., Polle, A., & Teichmann, T. (2004). Effect of auxin transport inhibitors and ethylene on the wood anatomy of poplar. *Plant Biology*, 7(01), 22-29.

- Kaku, T., Serada, S., Baba, K. I., Tanaka, F., & Hayashi, T. (2009). Proteomic analysis of the G-layer in poplar tension wood. *Journal of Wood Science*, 55(4), 250-257.
- Kato T., Morita M.T., Fukaki H., Yamauchi Y., Uehara M., Niihama M., Tasaka M. (2002). SGR2, a Phospholipase-Like Protein, and ZIG/SGR4, a SNARE, Are Involved in the Shoot Gravitropism of Arabidopsis. *The Plant Cell*, 14(1), 33-46
- Kato, Y., Miura, E., Ido, K., Ifuku, K., & Sakamoto, W. (2009). The variegated mutants lacking chloroplastic FtsHs are defective in D1 degradation and accumulate reactive oxygen species. *Plant physiology*, 151(4), 1790-1801.
- Kaufman, P. B., Brock, T. G., Song, I. L., Rho, Y. B., & Ghosheh, N. S. (1987). How cereal grass shoots perceive and respond to gravity. *American journal of botany*, 74(9), 1446-1457.
- Kawai H., Kanegae T., Christensen S., Kiyosue T., Sato Y., Imaizumi T., Kadota A., Wada M. (2003). Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature*, 421(6920), 287-290
- Kepinski S., Leyser O. (2005). The Arabidopsis F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435 (7041), 446-451
- Kerr I.D., Bennett M.J. (2007). New insight into the biochemical mechanisms regulating auxin transport in plants. *Biochemical Journal*, 401(3), 613-622
- Kiss J.Z., Hertel R., Sack F.D. (1989). Amyloplasts are necessary for full gravitropic sensitivity in roots of Arabidopsis thaliana. *Planta* 177 (2): 198–206. doi:10.1007/BF00392808
- Kiss J.Z., Sack F.D. (1989). Reduced gravitropic sensitivity in roots of a starch-deficient mutant of Nicotiana glauca. *Planta*, 180, 123-130
- Kleine-Vehn J., Ding Z., Jones A.R., Tasaka M., Morita M.T. (2010). Gravity-induced PIN transcytosis for polarization of auxin fluxes in gravity-sensing root cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(51), 22344-22349
- Klintborg, A., Eklund, L., & Little, C. A. (2002). Ethylene metabolism in Scots pine (Pinus sylvestris) shoots during the year. *Tree physiology*, 22(1), 59-66.
- Konings, H. (1995). Gravitropism of roots: an evaluation of progress during the last three decades. *Acta botanica neerlandica*, 44(3), 195-223.
- Křeček P., Skůpa P., Libus J., Naramoto S., Tejos R., Friml J., Zažímalová E. (2009). The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters. *Genome Biology*; 10(12), 1-11
- Kubo, M., Udagawa, M., Nishikubo, N., Horiguchi, G., Yamaguchi, M., Ito, J., ... & Demura, T. (2005). Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation. *Genes & development*, 19(16), 1855-1860.
- Kumar N.S., Stevens M.H.H., Kiss J.Z. (2008). Plastid movement in statocytes of the arg1 (altered response to gravity) mutant. *American Journal of Botany*, 95(2), 177-184
- Lachaud, S. (1987). Xylogénèse chez les Dicotylédones arborescentes. V. Formation du bois de tension et transport de l'acide indole acétique tritié chez le Hêtre. *Canadian journal of botany*, 65(6), 1253-1258.
- Lachaud, S., Catesson, A. M., & Bonnemain, J. L. (1999). Structure and functions of the vascular cambium. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, 322(8), 633-650.
- Lafarguette, F., Leplé, J. C., Déjardin, A., Laurans, F., Costa, G., Lesage-Descauses, M. C., & Pilate, G. (2004). Poplar genes encoding fasciclin-like arabinogalactan proteins are highly expressed in tension wood. *New Phytologist*, 107-121.
- Lam S.-L., Leopold A.C. (1966). Role of Leaves in Phototropism. *Plant Physiol* 41 (5): 847–851. doi:10.1104/pp.41.5.847
- Landrein B., Ingram G. (2019). Connected through the force: mechanical signals in plant development. *Journal of Experimental Botany* 70 (14): 3507–3519. doi:10.1093/jxb/erz103

- Lanza, M., Garcia-Ponce, B., Castrillo, G., Catarecha, P., Sauer, M., Rodriguez-Serrano, M., ... & Leyva, A. (2012). Role of actin cytoskeleton in brassinosteroid signaling and in its integration with the auxin response in plants. *Developmental cell*, 22(6), 1275-1285.
- Larson, P. R., & Larson, P. R. (1994). Cambial wounding. *The Vascular Cambium: Development and Structure*, 499-586.
- Lautner S., Zollfrank C., Fromm J. (2012). Microfibril Angle Distribution of Poplar Tension Wood. *IAWA Journal* 33 (4): 431–439. doi:10.1163/22941932-90000105
- Leach, R. W. A., & Wareing, P. F. (1967). Distribution of auxin in horizontal woody stems in relation to gravimorphism. *Nature*, 214(5092), 1025-1027.
- Lepp, N. W., & Peel, A. J. (1971). Distribution of growth regulators and sugars by the tangential and radial transport systems of stem segments of willow. *Planta*, 99, 275-282.
- Li, L., Xu, J., Xu, Z. H., & Xue, H. W. (2005). Brassinosteroids stimulate plant tropisms through modulation of polar auxin transport in Brassica and Arabidopsis. *The Plant Cell*, 17(10), 2738-2753.
- Li, C., Luo, Y., Jin, M., Sun, S., Wang, Z., & Li, Y. (2021). Response of lignin metabolism to light quality in wheat population. *Frontiers in Plant Science*, 12, 729647.
- Li, G., & Xue, H. W. (2007). Arabidopsis PLD ζ 2 regulates vesicle trafficking and is required for auxin response. *The Plant Cell*, 19(1), 281-295.
- Lin C. (2000). Plant blue-light receptors. *Trends in plant science*
- Liscum E., Briggs W.R. (1995). Mutations in the NPH1 Locus of Arabidopsis Disrupt the Perception of Phototropic Stimuli. *The Plant Cell*, 7(4), 473-485
- Liscum E., Stowe-Evans E.L. (2007). Phototropism: A “Simple” Physiological Response Modulated by Multiple Interacting Photosensory-response Pathways . *Photochemistry and Photobiology* 72 (3): 273–282. doi:10.1562/0031-8655(2000)0720273PASPRM2.0.CO2
- Liu, Y. K., Liu, Q. Z., Xing, X., & Li, D. Q. (2009). Effects of MAPKK inhibitor PD98059 on the gravitropism of primary roots of maize. *Plant growth regulation*, 59, 191-198.
- Liu, Y., Su, Y., & Wang, X. (2013). Phosphatidic acid-mediated signaling. *Lipid-mediated protein signaling*, 159-176.
- Löbler, M., & Klämbt, D. (1985). Auxin-binding protein from coleoptile membranes of corn (*Zea mays* L.). I. Purification by immunological methods and characterization. *Journal of Biological Chemistry*, 260(17), 9848-9853.
- Löfke, C., Zwiewka, M., Heilmann, I., Van Montagu, M. C., Teichmann, T., & Friml, J. (2013). Asymmetric gibberellin signaling regulates vacuolar trafficking of PIN auxin transporters during root gravitropism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9), 3627-3632.
- Long J.C., Zhao W., Rashotte A.M., Muday G.K., Huber S.C. (2002). Gravity-Stimulated Changes in Auxin and Invertase Gene Expression in Maize Pulvinal Cells. *Plant Physiology* 128 (2): 591–602. doi:10.1104/pp.010579
- Lopez, D., Franchel, J., Venisse, J. S., Drevet, J. R., Label, P., Coutand, C., & Roeckel-Drevet, P. (2021). Early transcriptional response to gravistimulation in poplar without phototropic confounding factors. *AoB Plants*, 13(1), plaa071.
- Love, J., Björklund, S., Vahala, J., Hertzberg, M., Kangasjärvi, J., & Sundberg, B. (2009). Ethylene is an endogenous stimulator of cell division in the cambial meristem of *Populus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(14), 5984-5989.
- MacMillan, C. P., Mansfield, S. D., Stachurski, Z. H., Evans, R., & Southerton, S. G. (2010). Fasciclin-like arabinogalactan proteins: specialization for stem biomechanics and cell wall architecture in Arabidopsis and Eucalyptus. *The Plant Journal*, 62(4), 689-703.
- Martinoia, E., Klein, M., Geisler, M., Bovet, L., Forestier, C., Kolukisaoglu, Ü., ... & Schulz, B. (2002). Multifunctionality of plant ABC transporters—more than just detoxifiers. *Planta*, 214, 345-355.

- Matsuda S., Kajizuka T., Kadota A., Nishimura T., Koshihara T. (2011). NPH3- and PGP-like genes are exclusively expressed in the apical tip region essential for blue-light perception and lateral auxin transport in maize coleoptiles. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3459-3466
- Mauriat, M., & Moritz, T. (2009). Analyses of GA20ox-and GID1-over-expressing aspen suggest that gibberellins play two distinct roles in wood formation. *The Plant Journal*, 58(6), 989-1003.
- McAtee, P. A., Hallett, I. C., Johnston, J. W., & Schaffer, R. J. (2009). A rapid method of fruit cell isolation for cell size and shape measurements. *Plant methods*, 5, 1-7.
- McCarthy, R. L., Zhong, R., Fowler, S., Lyskowski, D., Piyasena, H., Carleton, K., ... & Ye, Z. H. (2010). The poplar MYB transcription factors, PtrMYB3 and PtrMYB20, are involved in the regulation of secondary wall biosynthesis. *Plant and cell physiology*, 51(6), 1084-1090.
- Mellerowicz, E. J., Baucher, M., Sundberg, B., & Boerjan, W. (2001). Unravelling cell wall formation in the woody dicot stem. *Plant cell walls*, 239-274.
- Mellerowicz E.J., Gorshkova T.A. (2012). Tensional stress generation in gelatinous fibres: a review and possible mechanism based on cell-wall structure and composition. *Journal of Experimental Botany* 63 (2): 551–565. doi:10.1093/jxb/err339
- Meroz, Y., Bastien, R., & Mahadevan, L. (2019). Spatio-temporal integration in plant tropisms. *Journal of the Royal Society Interface*, 16(154), 20190038.
- Mitchell, J. W., Mandava, N., Worley, J. F., Plimmer, J. R., & Smith, M. V. (1970). Brassins—a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature*, 225(5237), 1065-1066.
- Morita M.T. (2010). Directional Gravity Sensing in Gravitropism. *Annu Rev Plant Biol* 61 (1): 705–720. doi:10.1146/annurev.arplant.043008.092042
- Morita M.T., Tasaka M. (2004). Gravity sensing and signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 7 (6): 712–718. doi:10.1016/j.pbi.2004.09.001
- Moulija B., Badel E., Bastien R., Duchemin L., Eloy C. (2022). The shaping of plant axes and crowns through tropisms and elasticity: an example of morphogenetic plasticity beyond the shoot apical meristem. *New Phytologist* 233 (6): 2354–2379. doi:10.1111/nph.17913
- Moulija B., Bastien R., Chauvet-Thiry H., Leblanc-Fournier N. (2019). Posture control in land plants: growth, position sensing, proprioception, balance, and elasticity. *Journal of Experimental Botany* 70 (14): 3467–3494. doi:10.1093/jxb/erz278
- Moulija B., Coutand C., Lenne C. (2006). Posture control and skeletal mechanical acclimation in terrestrial plants: implications for mechanical modeling of plant architecture. *American Journal of Botany* 93 (10): 1477–1489. doi:10.3732/ajb.93.10.1477
- Moulija, B., Douady, S., & Hamant, O. (2021). Fluctuations shape plants through proprioception. *Science*, 372(6540), eabc6868.
- Moulija B., Der Loughian C., Bastien R., Rodriguez M., Gourcilleau D., Barbacci A., Badel E., Franchel G., Lenne C., Roedel-Drevet P., Allain JM., Frachisse JM., de Langre E., Coutand C., Fournier-Leblanc N. & Julien JL. (2011). Integrative Mechanobiology of Growth and Architectural Development in Changing Mechanical Environments. In : Wojtaszek, P. (eds) Mechanical Integration of Plant Cells and Plants. *Signaling and Communication in Plants*, vol 9. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-19091-9_11
- Moulija B., Fournier M. (2009). The power and control of gravitropic movements in plants: a biomechanical and systems biology view. *Journal of Experimental Botany* 60 (2): 461–486. doi:10.1093/jxb/ern341
- Moyle R., Schrader J., Stenberg A., Olsson O., Saxena S., Sandberg G., Bhalerao R.P. (2002). Environmental and auxin regulation of wood formation involves members of the *Aux/IAA* gene family in hybrid aspen. *The Plant Journal* 31 (6): 675–685. doi:10.1046/j.1365-3113X.2002.01386.x

- Muday, G. K., Brady, S. R., Argueso, C., Deruere, J., Kieber, J. J., & DeLong, A. (2006). RCN1-regulated phosphatase activity and EIN2 modulate hypocotyl gravitropism by a mechanism that does not require ethylene signaling. *Plant physiology*, 141(4), 1617-1629.
- Nakamura M., Nishimura T., Morita M.T. (2019). Gravity sensing and signal conversion in plant gravitropism. *Journal of Experimental Botany* 70 (14): 3495–3506. doi:10.1093/jxb/erz158
- Necesy, V. (1958). Beech heartwood-structure, origin and development. Beech heartwood-structure, origin and development.
- Nemhauser J.L., Mockler T.C., Chory J. (2004). Interdependency of Brassinosteroid and Auxin Signaling in Arabidopsis. *PLoS biology*, 2(9), e258
- Nieminen, K., Immanen, J., Laxell, M., Kauppinen, L., Tarkowski, P., Dolezal, K., ... & Helariutta, Y. (2008). Cytokinin signaling regulates cambial development in poplar. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(50), 20032-20037.
- Niez, B., Dlouha, J., Gril, J., Ruelle, J., Toussaint, E., Moulia, B., & Badel, E. (2020). Mechanical properties of “flexure wood”: Compressive stresses in living trees improve the mechanical resilience of wood and its resistance to damage. *Annals of Forest Science*, 77(1), 1-13.
- Noh B., Bandyopadhyay A., Peer W.A., Spalding E.P., Murphy A.S. (2003). Enhanced gravi- and phototropism in plant *mdr* mutants mislocalizing the auxin efflux protein PIN1. *Nature* 423 (6943): 999–1002. doi:10.1038/nature01716
- Norberg, P. H., & Meier, H. (1966). Physical and chemical properties of the gelatinous layer in tension wood fibres of aspen (*Populus tremula* L.).
- Nugroho W.D., Nakaba S., Yamagishi Y., Begum S., Marsoem S.N., Ko J.-H., Jin H.-O., Funada R. (2013). Gibberellin mediates the development of gelatinous fibres in the tension wood of inclined *Acacia mangium* seedlings. *Annals of Botany* 112 (7): 1321–1329. doi:10.1093/aob/mct198
- Nugroho W.D., Yamagishi Y., Nakaba S., Fukuhara S., Begum S., Marsoem S.N., Ko J.-H., Jin H.-O., Funada R. (2012). Gibberellin is required for the formation of tension wood and stem gravitropism in *Acacia mangium* seedlings. *Annals of Botany* 110 (4): 887–895. doi:10.1093/aob/mcs148
- Onaka, F. (1949). Studies on compression and tension wood. *Wood Res*, 1, 1-88.
- Okamoto K., Ueda H., Shimada T., Tamura K., Kato T., Tasaka M., Morita M.T., Hara-Nishimura I. (2015). Regulation of organ straightening and plant posture by an actin–myosin XI cytoskeleton. *Nature Plants* 1 (4): 15031. doi:10.1038/nplants.2015.31
- Parker, K. E., & Briggs, W. R. (1990). Transport of indole-3-acetic acid during gravitropism in intact maize coleoptiles. *Plant Physiology*, 94(4), 1763-1769.
- Paul-Victor, C., & Rowe, N. (2011). Effect of mechanical perturbation on the biomechanics, primary growth and secondary tissue development of inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*. *Annals of botany*, 107(2), 209-218.
- Peng, J., Carol, P., Richards, D. E., King, K. E., Cowling, R. J., Murphy, G. P., & Harberd, N. P. (1997). The *Arabidopsis* GAI gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. *Genes & development*, 11(23), 3194-3205.
- Pelloux, J., Rusterucci, C., & Mellerowicz, E. J. (2007). New insights into pectin methylesterase structure and function. *Trends in plant science*, 12(6), 267-277.
- Perera I.Y., Heilmann I., Boss W.F. (1999). Transient and sustained increases in inositol 1,4,5-trisphosphate precede the differential growth response in gravistimulated maize pulvini. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (10): 5838–5843. doi:10.1073/pnas.96.10.5838
- Perera, I. Y., Heilmann, I., Chang, S. C., Boss, W. F., & Kaufman, P. B. (2001). A role for inositol 1, 4, 5-trisphosphate in gravitropic signaling and the retention of cold-perceived gravistimulation of oat shoot pulvini. *Plant Physiology*, 125(3), 1499-1507.

- Perera, I. Y., Hung, C. Y., Brady, S., Muday, G. K., & Boss, W. F. (2006). A universal role for inositol 1, 4, 5-trisphosphate-mediated signaling in plant gravitropism. *Plant physiology*, 140(2), 746-760.
- Peters, W. S., & Tomos, A. D. (1996). The history of tissue tension. *Annals of Botany*, 77(6), 657-665.
- Pharis, R. P., Legge, R. L., Noma, M., Kaufman, P. B., Ghosheh, N. S., Lacroix, J. D., & Heller, K. (1981). Changes in Endogenous Gibberellins and the Metabolism of [3H] GA4 after Geostimulation in Shoots of the Oat Plant (*Avena sativa*). *Plant physiology*, 67(5), 892-897.
- Phelps, J. E., McGinnes, E. A., Saniewski, M., Pieniazek, J., & Smoliński, M. (1980). Some anatomical observations on the effect of morphactin IT 3456 and ethrel on wood formation in *Salix fragilis* L. *IAWA Journal*, 1(1-2), 76-82.
- Philippar, K., Fuchs, I., Lüthen, H., Hoth, S., Bauer, C. S., Haga, K., ... & Hedrich, R. (1999). Auxin-induced K⁺ channel expression represents an essential step in coleoptile growth and gravitropism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(21), 12186-12191.
- Pilate G., Chabbert B., Cathala B., Yoshinaga A., Leplé J.-C., Laurans F., Lapiere C., Ruel K. (2004). Lignification and tension wood. *Comptes Rendus Biologies* 327 (9–10): 889–901. doi:10.1016/j.crv.2004.07.006
- Plieth, C., & Trewavas, A. J. (2002). Reorientation of seedlings in the earth's gravitational field induces cytosolic calcium transients. *Plant Physiology*, 129(2), 786-796.
- Plomion, C., Leprovost, G., & Stokes, A. (2001). Wood formation in trees. *Plant physiology*, 127(4), 1513-1523.
- Preuten, T., Hohm, T., Bergmann, S., & Fankhauser, C. (2013). Defining the site of light perception and initiation of phototropism in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 23(19), 1934-1938.
- Porat, A., Tedone, F., Palladino, M., Marcati, P., & Meroz, Y. (2020). A general 3d model for growth dynamics of sensory-growth systems: From plants to robotics. *Frontiers in Robotics and AI*, 7, 89.
- Pouliquen, O., Forterre, Y., Bérut, A., Chauvet, H., Bizet, F., Legué, V., & Moulia, B. (2017). A new scenario for gravity detection in plants: the position sensor hypothesis. *Physical Biology*, 14(3), 035005.
- Rajkumara, S. (2008). Lodging in cereals—a review. *Agricultural reviews*, 29(1), 55-60.
- Ramos, P., & Herrera, R. (2013). Anatomical changes of xylem cells in stem of *Pinus radiata* seedlings exposed to inclination and ethylene. *Biologia plantarum*, 57(3), 525-530.
- Rao, S. S. R., Vardhini, B. V., Sujatha, E., & Anuradha, S. (2002). Brassinosteroids—a new class of phytohormones. *Current Science*, 1239-1245.
- Ray, P. M., Green, P. B., & Cleland, R. (1972). Role of turgor in plant cell growth. *Nature*, 239(5368), 163-164.
- Rich T.C.G., Tomos A.D. (1988). Turgor Pressure and Phototropism in *Sinapis alba* L. Seedlings. *J Exp Bot* 39 (3): 291–299. doi:10.1093/jxb/39.3.291
- Ridge, R. W., & Sack, F. D. (1992). Cortical and cap sedimentation in gravitropic *Equisetum* roots. *American journal of botany*, 79(3), 328-334.
- Rivière, M., & Meroz, Y. (2023). Plants sum and subtract stimuli over different timescales. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(42), e2306655120.
- Rogers, L. A., & Campbell, M. M. (2004). The genetic control of lignin deposition during plant growth and development. *New phytologist*, 164(1), 17-30.
- Roignant J., Badel É., Leblanc-Fournier N., Brunel-Michac N., Ruelle J., Moulia B., Decourteix M. (2018). Feeling stretched or compressed? The multiple mechanosensitive responses of wood formation to bending. *Annals of Botany* 121 (6): 1151–1161. doi:10.1093/aob/mcx211
- Ross J.J., Wolbang C.M. (2008). Auxin, gibberellins, and the gravitropic response of grass leaf sheath pulvini. *Plant Signaling & Behavior* 3 (1): 74–75. doi:10.4161/psb.3.1.4929

- Ruelle J., Yamamoto H., Thibaut B. (2007). Growth stresses and cellulose structural parameters in tension and normal wood from three tropical rainforest angiosperm species. *BioRes* 2 (2): 235–251. doi:10.15376/biores.2.2.235-251
- Sachs, J. (1887). Lectures on the Physiology of Plants. *Clarendon Press*.
- Sack F.D. (1991). Plant Gravity Sensing. In: *International Review of Cytology*, Elsevier, pp. 193–252. doi:10.1016/S0074-7696(08)60695-6
- Sack, F. D., Suyemoto, M. M., & Leopold, A. C. (1984). Kinetics of amyloplast sedimentation in gravistimulated maize coleoptiles. *Planta*, 161, 459-464.
- Sack, F. D., Suyemoto, M. M., & Leopold, A. C. (1985). Amyloplast sedimentation kinetics in gravistimulated maize roots. *Planta*, 165, 295-300.
- Saiki, H., & Ono, K. (1971). Cell wall organization of gelatinous fibers in tension wood. *Kyoto Univ Bull Kyoto Univ Forests*.
- Sakai T., Haga K. (2012). Molecular Genetic Analysis of Phototropism in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology* 53 (9): 1517–1534. doi:10.1093/pcp/pcs111
- Salmi, M. L., ul Haque, A., Bushart, T. J., Stout, S. C., Roux, S. J., & Porterfield, D. M. (2011). Changes in gravity rapidly alter the magnitude and direction of a cellular calcium current. *Planta*, 233, 911-920.
- Sampedro, J., Carey, R. E., & Cosgrove, D. J. (2006). Genome histories clarify evolution of the expansin superfamily: new insights from the poplar genome and pine ESTs. *Journal of plant research*, 119, 11-21.
- Scarpella, E., & Meijer, A. H. (2004). Pattern formation in the vascular system of monocot and dicot plant species. *New Phytologist*, 164(2), 209-242.
- Schopfer, P. (2006). Biomechanics of plant growth. *American journal of botany*, 93(10), 1415-1425.
- Schopfer, P., Lapierre, C., & Nolte, T. (2001). Light-controlled growth of the maize seedling mesocotyl: mechanical cell-wall changes in the elongation zone and related changes in lignification. *Physiologia Plantarum*, 111(1), 83-92.
- Scott A.C., Allen N.S. (1999). Changes in Cytosolic pH within Arabidopsis Root Columella Cells Play a Key Role in the Early Signaling Pathway for Root Gravitropism. *Plant Physiology* 121 (4): 1291–1298. doi:10.1104/pp.121.4.1291
- Sedbrook, J. C., Chen, R., & Masson, P. H. (1999). ARG1 (altered response to gravity) encodes a DnaJ-like protein that potentially interacts with the cytoskeleton. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(3), 1140-1145.
- Seneviratne, S.I., X. Zhang, M. Adnan, W. Badi, C. Dereczynski, A. Di Luca, S. Ghosh, I. Iskandar, J. Kossin, S. Lewis, F. Otto, I. Pinto, M. Satoh, S.M. Vicente-Serrano, M. Wehner, and B. Zhou, 2021: Weather and Climate Extreme Events in a Changing Climate. In *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*[Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. *Cambridge University Press*, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 1513–1766, doi: [10.1017/9781009157896.013](https://doi.org/10.1017/9781009157896.013).
- Seyfferth, C., Wessels, B. A., Gorzsás, A., Love, J. W., Rüggeberg, M., Delhomme, N., ... & Felten, J. (2019). Ethylene signaling is required for fully functional tension wood in hybrid Aspen. *Frontiers in plant science*, 10, 1101.
- Shah, L., Yahya, M., Shah, S. M. A., Nadeem, M., Ali, A., Ali, A., ... & Ma, C. (2019). Improving lodging resistance: using wheat and rice as classical examples. *International journal of molecular sciences*, 20(17), 4211.

- Sharp, R. E., & LeNoble, M. E. (2002). ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. *Journal of experimental botany*, 53(366), 33-37.
- Sievers, A., & Busch, M. B. (1991). An inhibitor of the Ca²⁺-ATPases in the sarcoplasmic and endoplasmic reticula inhibits transduction of the gravity stimulus in cress roots. *Planta*, 188, 619-622.
- Silady, R. A., Kato, T., Lukowitz, W., Sieber, P., Tasaka, M., & Somerville, C. R. (2004). The gravitropism defective 2 mutants of Arabidopsis are deficient in a protein implicated in endocytosis in *Caenorhabditis elegans*. *Plant physiology*, 136(2), 3095-3103.
- Sousa-Baena M.S. (2022). Bouncing back stronger: Diversity, structure, and molecular regulation of gelatinous fiber development. *Current Opinion in Plant Biology*
- Stankovic, B., Volkman, D., & David Sack, F. (1998). Autonomic straightening after gravitropic curvature of cress roots. *Plant physiology*, 117(3), 893-900.
- Staves, M. P., Wayne, R., & Leopold, A. C. (1997). The effect of the external medium on the gravitropic curvature of rice (*Oryza sativa*, Poaceae) roots. *American journal of botany*, 84(11), 1522-1529.
- Sullivan S., Thomson C.E., Lamont D.J., Jones M.A., Christie J.M. (2008). In Vivo Phosphorylation Site Mapping and Functional Characterization of Arabidopsis Phototropin 1. *Molecular Plant* 1 (1): 178–194. doi:10.1093/mp/ssm017
- Takatani, S., Verger, S., Okamoto, T., Takahashi, T., Hamant, O., & Motose, H. (2020). Microtubule response to tensile stress is curbed by NEK6 to buffer growth variation in the Arabidopsis hypocotyl. *Current Biology*, 30(8), 1491-1503.
- Talts K., Ilau B., Ojangu E.-L., Tanner K., Peremyslov V.V., Dolja V.V., Truve E., Paves H. (2016). Arabidopsis Myosins XII, XI, and XIX Are Crucial for Gravity-Induced Bending of Inflorescence Stems. *Front Plant Sci* 7. doi:10.3389/fpls.2016.01932
- Taniguchi M., Furutani M., Nishimura T., Nakamura M., Fushita T., Iijima K., Baba K., Tanaka H., Toyota M., Tasaka M., Morita M.T. (2017). The Arabidopsis LAZY1 Family Plays a Key Role in Gravity Signaling within Statocytes and in Branch Angle Control of Roots and Shoots. *The Plant Cell*, 29(8), 1984-1999
- Tao Y., Ferrer J.-L., Ljung K., Pojer F., Hong F., Long J.A., Li L., Moreno J.E., Bowman M.E., Ivans L.J., Cheng Y., Lim J., Zhao Y., Ballare C.L. (2008). Rapid Synthesis of Auxin via a New Tryptophan-Dependent Pathway Is Required for Shade Avoidance in Plants. *Cell*, 133(1), 164-176
- Tarui Y., Iino M. (1999). Gravitropism and phototropism of oat coleoptiles: Post-tropic autostraightening and tissue shrinkage during tropism. *Advances in Space Research* 24 (6): 743–753. doi:10.1016/S0273-1177(99)00408-1
- Tasaka M., Kato T., Fukaki H. (2001). Genetic regulation of gravitropism in higher plants. In: *International Review of Cytology*, Elsevier, pp. 135–154.
- Titapiwatanakun B., Murphy A.S. (2009). Post-transcriptional regulation of auxin transport proteins: cellular trafficking, protein phosphorylation, protein maturation, ubiquitination, and membrane composition. *Journal of Experimental Botany*, 60(4), 1093-1107
- Toyota, M., Furuichi, T., Tatsumi, H., & Sokabe, M. (2008). Cytoplasmic calcium increases in response to changes in the gravity vector in hypocotyls and petioles of Arabidopsis seedlings. *Plant Physiology*, 146(2), 505.
- Tsugeki, R., & Fedoroff, N. V. (1999). Genetic ablation of root cap cells in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(22), 12941-12946.
- Tuominen H., Sitbon F., Jacobsson C., Sandberg C., Sundberg B. (1995). Altered Growth and Wood Characteristics in Transgenic Hybrid Aspen Expressing *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA Indoleacetic Acid-Biosynthetic genes. *Plant Physiology*, 109(4), 1179-1189

- Turner, S., Gallois, P., & Brown, D. (2007). Tracheary element differentiation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58, 407-433.
- Ueda H., Tamura K., Hara-Nishimura I. (2015). Functions of plant-specific myosin XI: from intracellular motility to plant postures. *Current Opinion in Plant Biology* 28: 30–38. doi:10.1016/j.pbi.2015.08.006
- Urbina, D. C., Silva, H., & Meisel, L. A. (2006). The Ca²⁺ pump inhibitor, thapsigargin, inhibits root gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. *Biological Research*, 39(2), 289-296.
- Vahala, J., Felten, J., Love, J., Gorzsás, A., Gerber, L., Lamminmäki, A., ... & Sundberg, B. (2013). A genome-wide screen for ethylene-induced Ethylene Response Factors (ERF s) in hybrid aspen stem identifies ERF genes that modify stem growth and wood properties. *New Phytologist*, 200(2), 511-522.
- van der Honing H.S., Kieft H., Emons A.M.C., Ketelaar T. (2012). *Arabidopsis* VILLIN2 and VILLIN3 Are Required for the Generation of Thick Actin Filament Bundles and for Directional Organ Growth. *Plant Physiology* 158 (3): 1426–1438. doi:10.1104/pp.111.192385
- Vandenbrink J.P., Kiss J.Z. (2019). Plant responses to gravity. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 92: 122–125. doi:10.1016/j.semcdb.2019.03.011
- Vandenbussche, F., Tilbrook, K., Fierro, A. C., Marchal, K., Poelman, D., Van Der Straeten, D., & Ulm, R. (2014). Photoreceptor-mediated bending towards UV-B in *Arabidopsis*. *Molecular plant*, 7(6), 1041-1052.
- Vanholme, R., Morreel, K., Ralph, J., & Boerjan, W. (2008). Lignin engineering. *Current opinion in plant biology*, 11(3), 278-285.
- Vitha S., Zhao L., Sack F.D. (2000). Interaction of Root Gravitropism and Phototropism in *Arabidopsis* Wild-Type and Starchless Mutants. *Plant Physiology*, 122(2), 453-462
- Walker, B., Holling, C. S., Carpenter, S. R., & Kinzig, A. (2004). Resilience, adaptability and transformability in social–ecological systems. *Ecology and society*, 9(2).
- Wang, H., Jiang, C., Wang, C., Yang, Y., Yang, L., Gao, X., & Zhang, H. (2015). Antisense expression of the fasciclin-like arabinogalactan protein FLA6 gene in *Populus* inhibits expression of its homologous genes and alters stem biomechanics and cell wall composition in transgenic trees. *Journal of experimental botany*, 66(5), 1291-1302.
- Wang, H., Jin, Y., Wang, C., Li, B., Jiang, C., Sun, Z., ... & Zhang, H. (2017). Fasciclin-like arabinogalactan proteins, PtFLAs, play important roles in GA-mediated tension wood formation in *Populus*. *Scientific reports*, 7(1), 6182.
- Wardrop, A. B., & Dadswell, H. D. (1948). The nature of reaction wood. *Australian Journal of Biological Sciences*, 1(1), 3-16.
- Wardrop, A. B., & Dadswell, H. E. (1955). The nature of reaction wood. IV. Variations in cell wall organization of tension wood fibres. *Australian journal of botany*, 3(2), 177-189.
- Warnasooriya S.N., Montgomery B.L. (2009). Detection of Spatial-Specific Phytochrome Responses Using Targeted Expression of Biliverdin Reductase in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 149(1), 424-433
- Washusen, R., Evans, R., & Southerton, S. (2005). A study of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus globulus* branch wood microstructure. *Iawa Journal*, 26(2), 203-210.
- Went, F. W., & Thimann, K. V. (1937). Phytohormones. *Phytohormones*.
- Whippo C.W., Hangarter R.P. (2005). A Brassinosteroid-Hypersensitive Mutant of BAK1 Indicates That a Convergence of Photomorphogenic and Hormonal Signaling Modulates Phototropism. *Plant Physiology* 139 (1): 448–457. doi:10.1104/pp.105.064444
- Whippo C.W., Hangarter R.P. (2004). Phytochrome modulation of blue-light-induced phototropism. *Plant Cell Environ* 27 (10): 1223–1228. doi:10.1111/j.1365-3040.2004.01227.x

- Whippo C.W., Hangarter R.P. (2003). Second Positive Phototropism Results from Coordinated Co-Action of the Phototropins and Cryptochromes. *Plant Physiology*, 132(3), 1499-1507
- Wiedenhoef, A. C. (2010). Wood Handbook, Chapter 03: *Structure and Function of Wood. Review Process: Informally Refereed (Peer-Reviewed)*.
- Williamson, R. E. (1990). Alignment of cortical microtubules by anisotropic wall stresses. *Functional Plant Biology*, 17(6), 601-613.
- Wolbang C.M., Davies N.W., Taylor S.A., Ross J.J. (2007). Gravistimulation leads to asymmetry of both auxin and gibberellin levels in barley pulvini. *Physiol Plant* 131 (1): 140–148. doi:10.1111/j.1399-3054.2007.00931.x
- Wolbang, C. M., Chandler, P. M., Smith, J. J., & Ross, J. J. (2004). Auxin from the developing inflorescence is required for the biosynthesis of active gibberellins in barley stems. *Plant Physiology*, 134(2), 769-776.
- Wu D., Hu Q., Yan Z., Chen W., Yan C., Huang X., Zhang J., Yang P., Deng H., Wang J., Deng X., Shi Y. (2012). Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8. *Nature*, 484(7393), 214-219
- Yamamoto, F., & Kozłowski, T. T. (1987). Effects of flooding, tilting of stems, and ethrel application on growth, stem anatomy, and ethylene production of *Acer platanoides* seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 2(1-4), 141-156.
- Yamauchi Y., Fukaki H., Fujisawa H., Tasaka M. (1997). Mutations in the SGR4, SGR5 and SGR6 Loci of *Arabidopsis thaliana* Alter the Shoot Gravitropism. *Plant and Cell Physiology* 38 (5): 530–535. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a029201
- Yano D., Sato M., Saito C., Sato M.H., Morita M.T., Tasaka M. (2003). A SNARE complex containing SGR3/AtVAM3 and ZIG/VTI1 in gravity-sensing cells is important for *Arabidopsis* shoot gravitropism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(14), 8589-8594
- Yoder, T. L., Zheng, H. Q., Todd, P., & Staehelin, L. A. (2001). Amyloplast sedimentation dynamics in maize columella cells support a new model for the gravity-sensing apparatus of roots. *Plant physiology*, 125(2), 1045-1060.
- Yoshida M., Ohta H., Yamamoto H., Okuyama T. (2002). Tensile growth stress and lignin distribution in the cell walls of yellow poplar, *Liriodendron tulipifera* Linn. *Trees* 16 (7): 457–464. doi:10.1007/s00468-002-0186-2
- Yoshihara T., Spalding E.P. (2017). LAZY Genes Mediate the Effects of Gravity on Auxin Gradients and Plant Architecture. *Plant Physiology*, 175(2), 959-969
- Yun, H. S., JOO, S. H., Kaufman, P. B., KIM, T. W., Kirakosyan, A., PHILOSOPH-HADAS, S. O. N. I. A., ... & Chang, S. C. (2006). Changes in starch and inositol 1, 4, 5-trisphosphate levels and auxin transport are interrelated in graviresponding oat (*Avena sativa*) shoots. *Plant, cell & environment*, 29(11), 2100-2111.
- Zažimalová, E., Murphy, A. S., Yang, H., Hoyerová, K., & Hošek, P. (2010). Auxin transporters—why so many?. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(3), a001552.
- Zenser N., Ellsmore A., Leasure C., Callis J. (2001). Auxin modulates the degradation rate of Aux/IAA proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(20), 11795-11800
- Zhang, D., Yang, X., Zhang, Z., & Li, B. (2010). Expression and nucleotide diversity of the poplar COBL gene. *Tree Genetics & Genomes*, 6, 331-344.
- Zhang J. (2011). Inositol Trisphosphate-Induced Ca²⁺ Signaling Modulates Auxin Transport and PIN Polarity. *Developmental Cell*.
- Zhang K.-X., Xu H.-H., Gong W., Jin Y., Shi Y.-Y., Yuan T.-T., Li J., Lu T. (2014). Proper PIN1 Distribution Is Needed for Root Negative Phototropism in *Arabidopsis*. *PLOS ONE* 9 (1)

- Zhang Q., Pettolino F.A., Dhugga K.S., Rafalski J.A., Tingey S., Taylor J., Shirley N.J., Hayes K., Beatty M., Abrams S.R., Zaharia L.I., Burton R.A., Bacic A., Fincher G.B. (2011). Cell Wall Modifications in Maize Pulvini in Response to Gravitational Stress. *Plant Physiology* 156 (4): 2155–2171. doi:10.1104/pp.111.179606
- Zinkgraf, M., Gerttula, S., Zhao, S., Filkov, V., & Groover, A. (2018). Transcriptional and temporal response of *Populus* stems to gravi-stimulation. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(7), 578-590.