



HAL
open science

Sollicitations mécaniques et transport de l'information à longue distance chez le peuplier

Erwan Tinturier

► **To cite this version:**

Erwan Tinturier. Sollicitations mécaniques et transport de l'information à longue distance chez le peuplier. Biologie végétale. Université Clermont Auvergne, 2022. Français. NNT : 2022UCFAC056 . tel-04062085

HAL Id: tel-04062085

<https://theses.hal.science/tel-04062085v1>

Submitted on 7 Apr 2023

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.

THESE

Présentée pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE*Spécialité : Biologie végétale*

Thèse soutenue le 13 avril 2022

Erwan TINTURIER**Sollicitations mécaniques et transport de l'information à
longue distance chez le peuplier****Rapporteurs :** Catherine RAMEAU, Directrice de Recherche, INRAE, Versailles

Edward FARMER, Professeur, Université de Lausanne, Lausanne

Examineur Marie-Béatrice BOGEAT-TRIBOULOT, Chargée de Recherche,
INRAE, Nancy**Directeurs de thèse :** Jean-Louis JULIEN, Professeur, Université Clermont-Auvergne,
Clermont-FerrandNathalie LEBLANC-FOURNIER, Maître de Conférence, Université
Clermont-Auvergne, Clermont-Ferrand**Encadrant :** Eric BADEL, Chargé de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand

RAPPORT DE SOUTENANCE

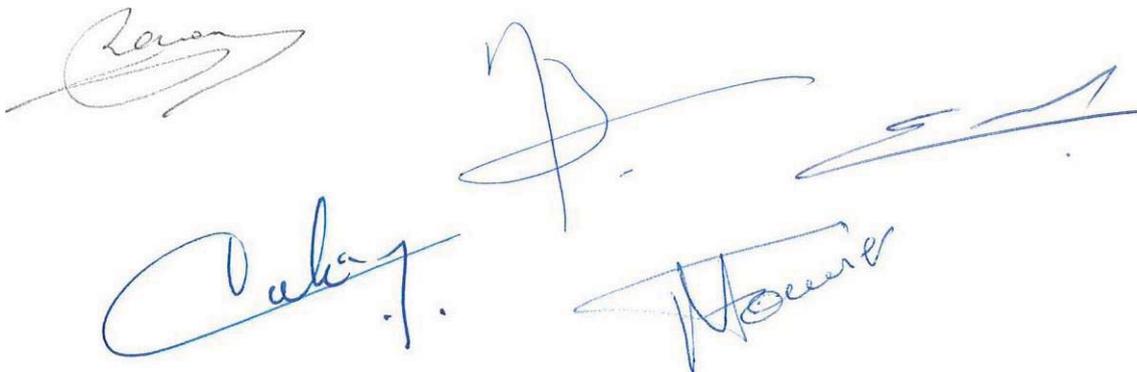
Mr Erwan TINTURIER a présenté le 13 avril 2022, son travail de thèse intitulé: "Solicitations mécaniques et transport de l'information à longue distance chez le peuplier".

L'exposé oral a été très bien structuré, rigoureux et particulièrement bien illustré, reflétant parfaitement le manuscrit très agréable à lire. Mr Erwan TINTURIER a exposé son travail de manière très posée, et de façon très claire et très pédagogique.

Le jury a beaucoup apprécié la discussion qui a suivi l'exposé oral, discussion très riche que ce soit sur les approches d'électrophysiologie ou de transcriptomique. Mr Erwan TINTURIER, toujours de façon très posée et réfléchie, a su mobiliser toutes ses connaissances à la fois techniques, bibliographiques et celles issues de ses propres expériences (pas toujours mentionnées dans le manuscrit) pour argumenter tout en restant très critique sur ses résultats. Il a démontré sa connaissance solide du sujet, de la bibliographie, sa grande maturité scientifique et sa grande aisance à l'oral.

En conclusion, Erwan TINTURIER a démontré au cours de sa soutenance, sa maturité scientifique très solide et ses grandes qualités de pédagogue et pour l'ensemble de sa prestation, le jury, à l'unanimité, a donné un avis favorable pour décerner à Mr Erwan TINTURIER le grade de docteur de l'Université Clermont Auvergne et lui a adressé ses chaleureuses félicitations.

Signature de tous les membres du jury présents à la soutenance de la thèse.



Remerciements

Dans un premier temps, je tiens à remercier Jean-Louis Julien de m'avoir encadré pendant mon stage de master, d'avoir cru en moi pour présenter un projet de thèse à l'école Doc, (qui est passé, qui l'eut cru ?) et surtout de m'avoir accompagné pendant ces 4 « longues » années. Un encadrement autre que le tien n'aurait pas été adapté. Merci de ton attention et ta confiance, de ta maîtrise incommensurable de la paperasse administrative, des manip de bras-cassés et des manip réussies en labo Meca, des teams quasi hebdomadaires, et de l'autonomie que tu m'as laissée.

Un grand merci à Nathalie Leblanc-Fournier, co-directrice, pour ton soutien, tes discussions, ta confiance, ton énergie débordante, ton sourire et ta bienveillance tout au long de ces années. Ça a été un vrai plaisir de partager des moments en labo de biomol avec toi, j'espère que tu trouveras vite un autre étudiant pour réserver ta paillasse 😊. Merci pour ton aide sur le chapitre 3, j'espère qu'on prendra le temps de creuser encore plus les données.

Je remercie aussi Eric Badel, encadrant de cette thèse mais qui m'a suivi dès mon stage de master. Merci pour son enthousiasme perpétuel, tes discussions et tes conseils avisés.

Je souhaite remercier les membres de comité de thèse, Yoël Forterre, Bertrand Costes et Jean-Marie Frachisse pour leurs conseils, suggestions et enthousiasme tout au long de cette thèse.

Merci à Catherine Rameau, Ted Farmer et Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Merci à Stéphane Ploquin et Romain Souchal pour leur soutien technique et « électronique ». Sans les cages de Faraday, cette thèse n'aurait pas pu être menée à bien ! J'adresse également mes remerciements à Brigitte Girard et Amélie Coston d'avoir fait pousser avec amour des peupliers pendant ces 4 années. Merci à Pierre Conchon pour l'impression des divers gabarits indispensables pour une flexion bien maîtrisée !

Merci à Norbert pour ton soutien en informatique et ta promptitude à gérer les pépins !.

Merci à Tété Barigah pour sa participation essentielle et active à la mise en place de la manipulation racinaire.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à Philippe Label pour son aide dans l'analyse des données RNA seq, et à André Lacoïnte pour son regard d'expert et son aide dans l'analyse statistique des données d'électrophysiologie.

Merci à Félix pour nous avoir poussé à rédiger cette revue avec Nath.

Merci à Geoffroy Guéna, Rémi Cadet, Mélanie Decourteix, Jean-Stéphane Vénisse, et Bruno Moulia pour avoir partagé du temps en discussion, cela a été enrichissant.

Merci évidemment à tous les membres du PIAF pour votre présence, votre disponibilité et les chouettes discussions que nous avons pu partager. Je salue également mes collègues de bureau de la fac, Bamba et Caroline. Merci à Sylvie, Sandrine, Aline. Merci à Dominique pour les différents bureaux que tu m'as permis d'occuper et pour tous les articles introuvables sur lesquels tu as réussi à mettre la main ! Un grand merci aux doctorants, post-doctorants, stagiaires pour avoir animer ces années de thèse : Adrien, Sabinome, Clémence, Marine, Ludo, Lia, Cédric, Lise-Marie, Marylou, Benjamin, Antoine VERGNE. Merci Benjamin pour ton immense maîtrise immense de Math Lab qui m'a évité de me plonger dans la nébuleuse de ce langage informatique. Merci Bastien d'avoir vaillamment combattu à mes côtés contre les forces vaudou de la biomol en plein automne !

Un grand merci à Wolfy pour son petit coup de patte indispensable dans l'écriture de ce manuscrit et merci Ayda de t'être si bien chargée de calmer son imagination galopante !

Merci à la famille des Rivailles, Marie-Pierre, Rolandino, Nounoul, Ombeline, Fulbert, Archambault, Hildegard et Bohémond !

Merci à maman, papa, Zoé et Juliette pour votre soutien pendant tout mon cursus universitaire et pendant ces années de thèse !

Merci à Mahaut pour avoir rendu cette dernière année de thèse douce et agréable, j'ai hâte de la suite 😊

Abstract

Under natural conditions, plants are subjected to non-injurious mechanical stresses such as touch and wind. The mechanical stress of a plant leads to a local response with a modification of secondary growth, and potentially a remote response with a modification of primary growth. This remote response suggests the transfer of information from the solicited area. The nature of the information vector remains unknown to date, but several hypotheses have been formulated in the literature. This work shows the propagation of an electrical signal following the bending of the poplar stem by extracellular electrophysiology measurements. This study highlights the propagation of a gradual potential (GP), an electrical response with original characteristics. Indeed, although it has the form of an action potential (AP), its amplitude is not constant and its high propagation speed has an exponential attenuation. These characteristics differentiate it from the AP and its electrotonic propagation, leading us to imagine another mode of propagation and to formulate the hypothesis of a hydro-electric coupling. In this hypothesis, the hydraulic pressure wave (HPW) generated by bending would propagate in the xylem vessels and activates mechanoreceptors in neighboring cells, initiating the GP. To test this hypothesis, several experiments aim at characterizing GP under different bending modalities were conducted. The results show that propagation distance and propagation velocity are two parameters of the GP impacted by the bending intensity, parameters that affect the amplitude of the HPW. In contrast, the amplitude of the GP near the stressed area does not vary with the bending intensity applied to the stem. Although several experiments show a correlation between these 2 signals, further experiments are needed to support the hydro-electric coupling hypothesis and conclude on the origin of the GP. In addition, to determine whether the GP is likely to trigger a biological response at a distance from the bent zone, different RNA seq experiments were undertaken. Analysis of the data reveals a significant transcriptional response at a distance from the solicited zone that appears to be dependent on the passage of a GP, since no modulation of the transcriptome is revealed in areas where it does not pass. The transcriptional response away from the stressed area is distinct from the transcriptional response associated with a slow wave, an AP, or that of the bent zone. These results confirm a complex relationship between solicitation, signaling, and long-distance response.

Key words: poplar, stem bending, electrical signal, hydraulic pressure wave, RNA seq

Table des matières

Remerciements	1
Abstract	3
Index des Figures	8
Index des tableaux	10
Liste des abréviations	11
Synthèse bibliographique	14
I. Position du sujet	16
II. Réponses de croissance et de développement au vent et à la flexion	18
A. Modifications thigmomorphogénétiques dans la zone sollicitée	18
1. Modification de la croissance radiale	18
2. Modification des caractéristiques mécaniques des tissus	19
3. Modification de la régulation des gènes dans la zone fléchie	20
B. Modifications thigmomorphogénétiques à distance de la zone sollicitée	22
1. Modification de la croissance longitudinale (croissance primaire)	22
2. Modification de la croissance racinaire	25
III. Transfert d'information à distance de la zone sollicitée : hypothèses des signalisations chimiques et hydrauliques	25
A. Signalisation chimique	27
1. Signalisation hormonale	27
2. Signalisation peptidique	28
3. La vague calcique	29
4. La vague de ROS	30
B. Signalisation hydraulique	31
1. Changement rapide de potentiel hydrique	31
2. Le mass flow	32
3. L'onde de pression hydraulique	33
IV. Transfert d'information à distance de la zone sollicitée : l'hypothèse d'une signalisation électrique	36
A. Le potentiel de membrane des cellules végétales au repos	36
1. La composante passive du potentiel de repos	37
2. La composante active du potentiel de repos	37
B. Mesures électrophysiologiques chez les plantes	38
1. Mesure intracellulaire	38
2. Mesures extracellulaires	38
C. Signaux électriques chez les plantes	39
1. Les potentiels électriques locaux (LEP)	39
2. Le potentiel d'action (PA)	40
3. L'onde lente	41
4. Le « système potentiel »	46
V. D'autres acteurs moléculaires impliqués dans les mouvements d'ions	47
A. Le Calcium	47
1. Les canaux cationiques ligand-récepteurs	47
2. Les canaux cationiques voltage-dépendants	49
3. Les canaux mécanosensibles perméables au Ca^{2+}	50
4. Les Pompes et échangeurs	54
5. Les annexines	55
B. Les canaux anioniques	56
1. Slow Anions Channels - SLACs	56
2. QUic Anion Channel – QUAC	57

C.	Les canaux potassiques.....	57
VI.	Conclusion et objectifs	58
	CHAPITRE 1 : Réponse électrophysiologique à une flexion de tige	60
I.	Introduction.....	60
II.	Matériel et méthodes	60
A.	Matériel végétal et conditions de culture.....	60
1.	Les peupliers cultivés en hydroponie	60
2.	Les douglas	61
B.	Protocole de la flexion « standard »	61
C.	Protocole de brûlure.....	62
D.	Protocole de traitement froid	62
E.	Mesure électrophysiologique extracellulaire	63
F.	Analyse statistique.....	63
G.	Détermination de la distance maximale de propagation du potentiel graduel.....	63
III.	Résultats	66
A.	Réponse électrique du peuplier à une flexion standard	66
1.	La flexion apicale standard génère une dépolarisation le long de la tige	66
2.	La flexion basale standard génère une dépolarisation le long de la tige	67
B.	Etude de la période réfractaire.....	69
C.	L'onde lente et le potentiel d'action chez le peuplier.....	71
1.	La brûlure d'une feuille de peuplier génère une réponse électrique de type onde lente .	71
A.	Le traitement par le froid génère une réponse électrique de type potentiel d'action ..	71
D.	Réponse électrique du douglas à une flexion standard.....	73
IV.	Discussion	75
A.	La réponse électrique induite par la brûlure	75
B.	La réponse électrique induite par un choc froid	76
C.	Réponse électrique à la flexion de tige.....	76
D.	Différences entre PG du peuplier et PG du douglas induit par la flexion de tige	79
	CHAPITRE 2 : Test de l'hypothèse du couplage hydro-électrique	84
I.	Introduction.....	84
II.	Matériel et méthodes	84
A.	Matériel végétal et conditions de culture.....	84
B.	Protocoles des traitements flexion.....	84
C.	Protocole du traitement pression	85
III.	Résultats	86
A.	Effet d'une flexion puis d'une déflexion de la tige sur la réponse électrique	86
B.	Impact de l'intensité de déformation sur le potentiel graduel	89
C.	Impact de la vitesse de flexion sur le potentiel graduel.....	92
D.	Impact de la longueur de tige fléchie sur le potentiel graduel.....	95
E.	Mesure électrophysiologique suite à la mise sous pression du système racinaire	96
IV.	Discussion	99
A.	Propagation du PG – l'hypothèse du couplage hydro-électrique	99
1.	Flexion et déflexion induisent un potentiel 'graduel'	99
2.	La mise sous pression du système racinaire induit un potentiel 'graduel'	100
3.	Relation entre amplitude et distance maximale de propagation du PG en fonction de l'intensité de la sollicitation	100
4.	La vitesse de propagation du potentiel 'graduel' correspond à celle d'un signal hydraulique	102
B.	Conclusion.....	103
	Chapitre 3 : Signalisation électrique et régulation de gènes	104
I.	Introduction.....	104
II.	Matériels et méthodes.....	105

A.	Matériel végétal et conditions de culture.....	105
B.	Traitements de flexion et échantillonnage.....	105
1.	Traitement en flexion apicale de la tige pour des prélèvements en-dessous de la zone fléchie.....	105
2.	Traitement en flexion basale de la tige pour un prélèvement de l'apex.....	106
C.	Application de la brûlure et échantillonnage.....	106
B.	Extraction d'ARN et séquençage.....	107
C.	Analyse des données RNA seq.....	108
1.	Nettoyage des lectures courtes brutes.....	108
2.	Analyse de l'expression différentielle des gènes.....	108
3.	Analyse en gène ontologie.....	109
D.	Mesure mécanique : module de Young de la tige et de l'apex du peuplier.....	109
III.	Réponses transcriptionnelles de la tige en A1 et A2 induite par la flexion.....	109
A.	Analyse générale.....	109
1.	Analyse de la réponse électrophysiologique en A1 et A2.....	109
2.	Analyse générale de la réponse transcriptionnelle en A1 et A2.....	110
B.	Enrichissement GO des gènes régulés par la flexion en A1.....	111
C.	Régulation de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire par la flexion.....	112
1.	Les facteurs de transcriptions de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire.....	113
2.	La biosynthèse de la cellulose.....	115
3.	La biosynthèse des xylandes.....	117
4.	La biosynthèse de la lignine.....	118
5.	Conclusion.....	123
D.	Les voies de signalisation hormonales.....	124
1.	Répression de la voie de signalisation des Brassinostéroïdes.....	124
2.	Un réseau de gènes commun aux voies de signalisation de l'ABA, JA, ET et SA.....	124
3.	Conclusion.....	129
E.	Recherche avec a priori – régulation en A1 de peptides 'signals' en réponse à la flexion de la tige.....	129
1.	Les C-TERMINALLY ENCODED PEPTIDE (CEP).....	129
2.	Les CLAVATA3/EMBRYO-SURROUNDING REGION- related (CLE).....	131
3.	Les phytosulfokines (PSKs).....	132
4.	Conclusion.....	133
F.	Recherche des acteurs moléculaires impliqués dans le potentiel graduel.....	133
1.	Les canaux mécanosensibles et les RLKs.....	134
2.	Les autres canaux perméables au calcium.....	134
3.	Les pompes de type P (H ⁺ -ATPases et Ca ²⁺ -ATPase).....	135
4.	Les canaux anioniques (Cl ⁻).....	137
5.	Les canaux potassiques.....	137
6.	Conclusion.....	138
IV.	Réponse transcriptionnelle de l'apex suite à une flexion.....	139
A.	Analyse de la réponse électrophysiologique.....	139
B.	Réponse transcriptionnelle à l'apex du peuplier en réponse à une flexion.....	141
V.	Réponse transcriptionnelle en réponse à la brûlure de feuille en Z1 et en Z2.....	142
A.	Analyse générale.....	142
1.	Réponse électrophysiologique à la brûlure.....	142
2.	Réponses transcriptionnelles à la brûlure.....	143
B.	Analyse par ontologie des gènes.....	144
C.	Analyse des TOP 10 des transcrits les plus exprimés en réponse à la brûlure.....	144
1.	TOP 10 des transcrits surexprimés à l'apex (Z1) et dans la tige (Z2).....	144
2.	TOP 10 des transcrits réprimés à l'apex et la tige.....	147
D.	Recherche des acteurs moléculaires impliqués dans l'onde lente.....	149

1.	Régulation des GLR en réponse à la brûlure	149
2.	Régulations de canaux perméables au calcium en réponse à la brûlure	150
3.	Les MSL, les canaux K^+ et Cl^- ne sont pas régulés à distance suite à la brûlure	150
4.	Régulation de mécano-senseurs en réponse à la brûlure	150
5.	Une régulation des pompes de Type P (AHA, ECA et ACA) en réponse à la brûlure.	151
E.	Induction de la biosynthèse et de la signalisation des JAs en réponse à la brûlure	153
F.	Régulation de la croissance primaire en réponse à la brûlure	158
VII.	Conclusion du chapitre 3	162
	Conclusions et Perspectives	164
I.	Potentiel graduel et couplage hydro-électrique.....	164
II.	Réponses transcriptionnelles à distance de la zone fléchie	166
III.	Brûlure et Flexion à l'origine de réponses électriques et transcriptionnelles différentes .	169
	Bibliographie	171
	Annexes.....	188
	Résumé	215

Index des Figures

FIGURE 1 : VUE GLOBALE DES PROCÉDES DE TRANSPORT D'EAU, D'ÉLÉMENTS MINÉRAUX ET DE MÉTABOLITES DANS UN ARBRE.	15
FIGURE 2 : DISPOSITIF EXPERIMENTALE DE FLEXION DE TIGE DE PEUPLIER ET MESURE DU DIAMÈTRE DE LA TIGE DANS LA ZONE FLECHIE. (.....)	19
FIGURE 3 : PHÉNOMÈNE D'ACCOMMODATION : EFFET DES FLEXIONS RÉPÉTÉES.....	21
FIGURE 4 : ÉVOLUTION TEMPORELLE DE LA CROISSANCE PRIMAIRE EN RÉPONSE À UNE FLEXION TRANSITOIRE APPLIQUÉE À LA BASE DE LA TIGE (FLECHE), LOIN DE LA ZONE EN CROISSANCE (VERT) CHEZ LA TOMATE (<i>LYCOPERSICON ESCULENTUM</i> MILL).....	23
FIGURE 5 : ÉVOLUTION TEMPORELLE DE LA CROISSANCE PRIMAIRE DU PEUPLIER EN RÉPONSE À DIFFÉRENTS TRAITEMENTS (NIEZ ET AL. 2019).....	24
FIGURE 6 : DES SIGNAUX LONGUES DISTANCES SONT DÉCLENCHÉS DANS LA PLANTE EN RÉPONSE À UN GRAND ÉVENTAIL DE STIMULI. 26	26
FIGURE 7 : RÉPONSES À COURT ET LONG TERMES À UN STRESS HYDRIQUE (SORBITOL) CONDUISANT À LA FERMETURE DES STOMATES. 28	28
FIGURE 8 : LES VAGUES CALCIQUES ET DE ROS SE PROPAGENT À TRAVERS LA PLANTE EN RÉPONSE À DIFFÉRENTS STRESS, DONT LE STRESS SALIN. UN STRESS SALIN DÉCLENCHE UNE AUGMENTATION DE $[Ca^{2+}]_{CIT}$ DEPUIS LA VACUOLE, VIA LE CANAL CALCIQUE TPC1 (CHOI ET AL., 2014).	31
FIGURE 9 : CONVERSION D'UN STRESS HYDRIQUE DES RACINES EN SIGNAL HYDRAULIQUE PERÇU DANS LES PARTIES AÉRIENNES DE LA PLANTE VIA LE XYLÈME.	32
FIGURE 10 : SCÉNARIO DE SIGNALISATION À LONGUE DISTANCE EN RÉPONSE À UNE BLESSURE PROPOSÉE PAR JULIEN (THÈSE, 1993). 33	33
FIGURE 11 : MISE EN ÉVIDENCE D'UN COUPLAGE HYDRO-MÉCANIQUE DANS LES TIGES D'ARBRES FLECHIS.....	34
FIGURE 12 : BRANCHE NATURELLE VS BRANCHE BIOMIMÉTIQUE ET PULSE HYDRAULIQUE DANS UNE BRANCHE BIOMIMÉTIQUE INDUIT PAR UNE FLEXION.....	35
FIGURE 13 : DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE MARHAVÝ ET AL., (2019) POUR L'ABLATION D'UNE CELLULE DE LA RACINE ET L'ENREGISTREMENT ELECTROPHYSIOLOGIQUE D'UN LEP. 39	39
FIGURE 14 : EXEMPLE D'ENREGISTREMENT DE PA MESURE SUR <i>MIMOSA PUDICA</i>	40
FIGURE 15 : LA RELATION INTENSITÉ (mV) / DURÉE (s) DU STIMULUS (STIMULATION ELECTRIQUE) ILLUSTRANT LA LOI DU TOUT-OU-RIEN CHEZ <i>HELIANTHUS ANNUUS</i>	40
FIGURE 16 : EXEMPLE D'ENREGISTREMENT D'ONDE LENTE SUITE À UNE STIMULATION LESANTE D'UNE FEUILLE DE TOMATE (<i>LYCOPERSICON ESCULENTUM</i>).	42
FIGURE 17 : LA « SQUEEZE CELL HYPOTHESIS » DE FARMER ET AL. (2014) ADAPTEE PAR CHOI ET AL. (2016).	43
FIGURE 18 : GENES CONNUS OU PRÉDITS POUR CONTRÔLER L'ONDE LENTE INDUITE PAR LA BLESSURE.....	46
FIGURE 19 : SCHEMA DE LA TOPOLOGIE MEMBRANAIRE D'UN CANAL CNGC (CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CHANNEL). LE CANAL EST COMPOSÉ DE 6 DOMAINES TRANSMEMBRANAIRES.	48
FIGURE 20 : SCHEMA DE LA TOPOLOGIE MEMBRANAIRE DU CANAL TPC1 (TWO PORE CHANNEL 1).	49
FIGURE 21 : REPRESENTATION DE LA TOPOLOGIE MEMBRANAIRE DES CANAUX MCAs (MID1-COMPLEMENTING ACTIVITY CHANNELS).....	51
FIGURE 22 : STRUCTURE SCHEMATIQUE DU CANAL PIEZO.	52
FIGURE 23 : REPRESENTATION DE LA TOPOLOGIE MEMBRANAIRE DU CANAL OSCA1 (REDUCED'HYPEROSMOLARITY-INDUCES $[Ca^{2+}]_{CIT}$ INCREASE' CHANNEL 1).	53
FIGURE 24 : DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX POUR MESURER LA RÉPONSE ELECTRIQUE DANS LA TIGE APRES UNE FLEXION APICALE (A) OU BASALE (B) TRANSITOIRE.....	62
FIGURE 25 : RÉPONSE ELECTRIQUE MESURÉE APRES UNE FLEXION APICALE TRANSITOIRE DE LA TIGE ET ENREGISTRÉE À DIFFÉRENTES POSITIONS DANS LA TIGE CHEZ <i>POPULUS TREMULA X ALBA</i>	65
FIGURE 26 : SUIVI DE LA RÉPONSE ELECTRIQUE MESURÉE APRES UNE FLEXION BASALE TRANSITOIRE ET ENREGISTRÉE À DIFFÉRENTES POSITIONS DANS LA TIGE CHEZ <i>POPULUS TREMULA X ALBA</i>	68
FIGURE 28 : DISTANCE MAXIMALE THÉORIQUE DE PROPAGATION DE LA RÉPONSE ELECTRIQUE INDUITE PAR UNE PREMIÈRE FLEXION ET PAR UNE SECONDE FLEXION APPLIQUÉE 2'30, 4H ET 7H APRES LA PREMIÈRE.....	70
FIGURE 27 : EFFET D'UNE SECONDE FLEXION APICALE TRANSITOIRE DE LA TIGE 2'30, 4H ET 7H APRES LA PREMIÈRE FLEXION.....	70
FIGURE 29 : ENREGISTREMENT DU SIGNAL ELECTRIQUE GÉNÉRÉ PAR UNE BRÛLURE (BL) DE FEUILLE CHEZ LE PEUPLIER <i>TREMULA X ALBA</i>	71
FIGURE 30 : ENREGISTREMENT DU SIGNAL ELECTRIQUE GÉNÉRÉ PAR L'APPLICATION D'UNE GOUTTELETTE D'EAU À 5°C SUR LA TIGE (W) CHEZ LE <i>POPULUS TREMULA X ALBA</i>	72
FIGURE 31 : RÉPONSE ELECTRIQUE MESURÉE APRES UNE FLEXION APICALE TRANSITOIRE DE LA TIGE ET ENREGISTRÉE À DIFFÉRENTES POSITIONS DANS LA TIGE CHEZ <i>PSEUDOTSUGA MENZIESII</i>	73
FIGURE 32 : ÉVOLUTION DE LA VITESSE MOYENNE DU PG INDUIT PAR UNE FLEXION DE TIGE DE DOUGLAS (VERT) ET DE PEUPLIER.	74
FIGURE 33 : PASSAGE DE LA SEVE À TRAVERS LES PONCTUATIONS AREOLÉES CONNECTANT LES TRACHEIDES CHEZ LES CONIFÈRES.	81
FIGURE 34 : PHOTO DU DISPOSITIF DE MISE SOUS PRESSION DU SYSTÈME RACINAIRE ET DE MESURES ELECTROPHYSIOLOGIQUES.....	86
FIGURE 35 : EFFET DE LA FLEXION ET DE LA DÉFLEXION DE LA TIGE DE PEUPLIER SUR LA RÉPONSE ELECTRIQUE.	87
FIGURE 36 : ÉVOLUTION DE LA VITESSE MOYENNE DE PROPAGATION DU PG INDUIT PAR LA FLEXION (BLEU) PUIS PAR LA DÉFLEXION (ORANGE).	88
FIGURE 37 : EFFET DE LA VARIATION D'INTENSITÉ DES DÉFORMATIONS DE LA TIGE SUR LE POTENTIEL GRADUEL.....	90

FIGURE 38 : EVOLUTION DE LA VITESSE MOYENNE DE PROPAGATION DU PG SUITE A DIFFERENTES MODALITES DE FLEXION.....	91
FIGURE 39 : EFFET DE DIFFERENTS REGIMES DE VITESSE DE FLEXION DE TIGE DE PEUPLIER SUR LE POTENTIEL GRADUEL.....	93
FIGURE 40 : EVOLUTION DE LA VITESSE MOYENNE DE PROPAGATION DU PG SUITE A DIFFERENTES MODALITES DE VITESSE DE FLEXION..	94
.....	
FIGURE 41 : EFFET DE LA LONGUEUR DE TIGE FLECHIE DE PEUPLIER SUR LE POTENTIEL GRADUEL.....	95
FIGURE 42 : INDUCTION D'UNE ONDE DE DEPOLARISATION A TRAVERS LA TIGE DE PEUPLIER PAR LA MISE SOUS PRESSION DU SYSTEME RACINAIRE.....	97
FIGURE 43 : EVOLUTION DE LA VITESSE MOYENNE DU PG INDUIT PAR (ROUGE) LA MISE SOUS PRESSION DU SYSTEME RACINAIRE ET DE 15 CM DE TIGE DU PEUPLIER A ENVIRON 1 BAR, (NOIR) LA FLEXION APICALE DE LA TIGE DE PEUPLIER SELON LES CONDITIONS STANDARDS.....	98
FIGURE 44 : DISTANCE MAXIMALE THEORIQUE DE PROPAGATION DE L'ONDE DE DEPOLARISATION DANS LA TIGE DE PEUPLIER SUITE A LA MISE SOUS PRESSION DU SYSTEME RACINAIRE.....	98
FIGURE 45 : GAMMES DE VITESSE DE PROPAGATION (ET ERREURS STANDARDS) DES DIFFERENTS TYPES DE SIGNAUX CHEZ LES PLANTES, SIGNAUX CHIMIQUES, HYDRAULIQUES, LE POTENTIEL 'GRADUEL' (PG) ET ELECTRIQUES (POTENTIELS D'ACTION ET ONDE LENTE)..	102
.....	
FIGURE 46 : DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX POUR L'ETUDE DE LA REPONSE TRANSCRIPTIONNELLE A DISTANCE DE LA ZONE FLECHIE CHEZ LE PEUPLIER.....	106
FIGURE 47 : DISPOSITIF EXPERIMENTAL POUR L'ETUDE DE LA REPONSE TRANSCRIPTIONNELLE SUITE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE CHEZ LE PEUPLIER.....	107
FIGURE 48 : EVOLUTION DE L'AMPLITUDE DU PG INDUIT PAR LA FLEXION APICALE DE LA TIGE DE PEUPLIER LORS DE L'EXPERIENCE RNA SEQ.....	110
FIGURE 49 : POURCENTAGE DU GENOME REGULE 30 MINUTES APRES LA FLEXION DE LA TIGE DE PEUPLIER EN A1 ET EN A2.....	111
FIGURE 50 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU RESEAU DE REGULATION DE LA VOIE DE BIOSYNTHESE DE LA PAROI SECONDAIRE..	114
FIGURE 51 : REPRESENTATION DE LA BIOSYNTHESE DES XYLANES (HEMICELLULOSE) CHEZ UNE DICOTYLEDONE.....	118
FIGURE 52 : LA VOIE DE BIOSYNTHESE DE LA LIGNINE CHEZ LE PEUPLIER ET SA REGULATION EN REPONSE A LA FLEXION (EN A1).....	119
FIGURE 53 : ANALYSE GLOBALE DES GENES DIFFERENTIELLEMENT REGULES A DISTANCE APRES FLEXION D'UNE TIGE CHEZ LE PEUPLIER ET PRESENTANT DES ANNOTATIONS GO LIEES AUX VOIES DE SIGNALISATION HORMONALES ABA, SA, JA ET ET.....	126
FIGURE 54 : ARBRE PHYLOGENETIQUE NON ENRACINE DES GENES CODANT POUR DES CEPS CHEZ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ET <i>POPULUS TRICHOCARPA</i>	130
FIGURE 55 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES GENES CODANT POUR DES POMPES AHAS ET ECAS CHEZ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ET <i>POPULUS TRICHOCARPA</i>	136
FIGURE 56 : EVOLUTION DU PG INDUIT PAR UNE FLEXION DE LA TIGE DE PEUPLIER LOCALISEE A 10 CM DE L'APEX.....	140
FIGURE 57 : MODULES DE YOUNG MESURES POUR DIFFERENTES SECTIONS DE TIGE DE PEUPLIERS (<i>POPULUS TREMULA X ALBA</i>).....	140
FIGURE 58 : EVOLUTION DE L'AMPLITUDE DE L'ONDE LENTE DANS LA TIGE DE PEUPLIER EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE.....	143
FIGURE 59 : POURCENTAGE DU GENOME DE PEUPLIER REGULE A DISTANCE 30 MINUTES APRES LA BRULURE D'UNE FEUILLE. LE POURCENTAGE DE GENES REGULES DANS L'APEX (Z1) OU DANS LA TIGE (Z2) EST REPRESENTE PAR LES HISTOGRAMMES JAUNES.....	144
.....	
FIGURE 60 : REGULATION DES GENES CODANTS POUR DES ENZYMES DE LA VOIE DE BIOSYNTHESE DES JAS DANS LA TIGE (Z2) ET A L'APEX (Z1) EN REPONSE A UNE BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.....	155
FIGURE 61 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES GENES CODANT POUR DES LIPOXYGENASES (LOXs) CHEZ <i>POPULUS TRICHOCARPA</i> ET <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i>	156
FIGURE 62 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA REGULATION DES GENES DE LA BIOSYNTHESE DES JAS PAR LE COMPLEXE JJW.....	157
FIGURE 63 : MECANISMES MOLECULAIRES IMPLIQUES DANS LA REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE CHEZ LES PLANTES.....	160
FIGURE 64 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES GENES CODANT POUR DES POMPES DE TYPE ACA ET ECA. L'ARBRE A ETE REALISE SELON LA MEME METHODE EMPLOYE PAR HARTMANN <i>ET AL.</i> (2021).....	208
FIGURE 65 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES GENES CODANT POUR DES JAZs CHEZ <i>POPULUS TRICHOCARPA</i> ET <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i>	211
.....	

Index des tableaux

TABLEAU 1 : EVOLUTION DE LA DEMI-VIE EN FONCTION DE LA DISTANCE DE LA VAGUE DE DEPOLARISATION INDUITE PAR LA FLEXION DE LA TIGE.	67
TABLEAU 2 : EVOLUTION DE LA VITESSE MOYENNE DE PROPAGATION EN FONCTION DE LA DISTANCE DE LA VAGUE DE DEPOLARISATION INDUITE PAR LA FLEXION DE LA TIGE.	67
TABLEAU 3 : ENRICHISSEMENTS EN TERMES GO POUR LA LISTE DE TRANSCRITS DE PEUPLIERS EXPRIMES DIFFERENTIELLEMENT EN A1.	112
TABLEAU 4 : TRANSCRITS CODANT POUR DES FASCICLINES PRESENTS DANS LA LISTE DES DEGs.	117
TABLEAU 5 : LISTES DES TRANSCRITS REGULES NEGATIVEMENT SUITE A LA FLEXION CODANT POUR DES PROTEINES LACCASES.	121
TABLEAU 6 : LISTE DES TERMES GO RELATIFS AUX VOIES DE BIOSYNTHESE DE LA PAROI SECONDAIRE OBTENU A L'ISSU D'UNE ANALYSE DEPUIS UNE LISTE DE DEGs TRANSFORMEE PAR DES HOMOLOGUES <i>ARABIDOPSIS</i>	122
TABLEAU 7 : GENES CODANT POUR DES PEPTIDES CEP REGULES EN A1 PAR LA FLEXION DE LA TIGE.	130
TABLEAU 8 : GENES <i>PtCLE</i> REGULES EN A1 SUITE A UNE FLEXION DE LA TIGE.	131
TABLEAU 9 : TOP 10 DES GENES SUREXPRIMES A L'APEX (Z1) EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.	146
TABLEAU 10 : TOP 10 DES GENES SUREXPRIMES DANS LA TIGE (Z2) EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.	146
TABLEAU 11 : TOP 10 DES GENES REPRIMES A L'APEX (Z1) EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.	148
TABLEAU 12 : TOP 10 DES GENES REPRIMES DANS LA TIGE (Z2) EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.	148
TABLEAU 13 : REGULATION DES GENES CODANT POUR DES GLRs DANS L'APEX ET DANS LA TIGE, EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.	149
TABLEAU 14 : REGULATION DES GENES CODANT POUR DES CNGCs ET UNE ANNEXINE DANS L'APEX ET DANS LA TIGE, EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.	150
TABLEAU 15 : REGULATION DE GENES CODANT POUR DES MECANOSENSEURS DANS L'APEX ET LA TIGE EN REPONSE A LA BRULURE DE FEUILLE DE PEUPLIER.	151
TABLEAU 16 : REGULATION DES GENES CODANT POUR DES POMPES H ⁺ -ATPASES A L'APEX EN REPONSE A UNE BRULURE DE FEUILLE DE PEUPLIER.	152
TABLEAU 17 : REGULATIONS DES GENES CODANT POUR DES POMPES CA ²⁺ -ATPASES EN Z1 ET EN Z2 EN REPONSE A LA BRULURE D'UNE FEUILLE DE PEUPLIER.	153
TABLEAU 18: ANALYSE GO DE GENES DIFFERENTIELLEMENT EXPRIMES EN REPONSE A LA FLEXION DE TIGE, EN A1.	189
TABLEAU 19 : LISTE DES GENES DE PEUPLIERS DIFFERENTIELLEMENT EXPRIMES A DISTANCE CHEZ LE PEUPLIER ET IMPLIQUES POTENTIELLEMENT DANS DES VOIES DE SIGNALISATION HORMONALES A L'ABA, ET, JA ET SA.	194
TABLEAU 20 : LISTE DES GENES DE PEUPLIERS DIFFERENTIELLEMENT EXPRIMES A DISTANCE CHEZ LE PEUPLIER ET IMPLIQUES POTENTIELLEMENT DANS DES REPONSES AUX BRASSINOSTEROIDES.	203
TABLEAU 21 : ENRICHISSEMENT EN TERME GO ISSU DE LA LISTE DE DEG DE L'APEX (Z1) EN REPONSE A UNE BRULURE DE FEUILLE DE PEUPLIER.	204
TABLEAU 22 : ENRICHISSEMENT EN TERME GO ISSU DE LA LISTE DE DEG DE LA TIGE (Z2) EN REPONSE A UNE BRULURE DE FEUILLE DE PEUPLIER.	207
TABLEAU 23 : REGULATION DES GENES, PROBABLEMENT IMPLIQUES DANS LA BIOSYNTHESE ET LA SIGNALISATION DES JA, DANS LA TIGE ET L'APEX EN REPONSE A LA BRULURE DE LA FEUILLE DE <i>POPULUS TRICHOCARPA</i>	209
TABLEAU 24 : SUREXPRESSION DE GENES DE PEUPLIER CODANT PROBABLEMENT LES ELEMENTS DU COMPLEXE JJW, ET DES CALMODULINES INTERAGISSANT AVEC JAV1, EN REPONSE A LA BRULURE.	210
TABLEAU 25 : LISTE DES GENES DIFFERENTIELLEMENT REGULES DANS L'APEX SUITE A UNE BRULURE DE FEUILLE ET POTENTIELLEMENT IMPLIQUES DANS LA REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE.	212
TABLEAU 26 : LISTE DES GENES DIFFERENTIELLEMENT REGULES DANS L'APEX SUITE A UNE BRULURE DE FEUILLE ET POTENTIELLEMENT IMPLIQUES DANS LA CROISSANCE DE LA TIGE.	213

Liste des abréviations

ABA : acide abscissique
AIA : acide indole-3-acétique
ALMT : aluminium malate transporter
AOC : allene oxyde cyclase
AOS : allene oxyde synthase
APC/C : anaphase/cyclosome
APW : artificial pond water
ARN : acide ribonucléique
ATP : adénosine-triphosphate
BAM : Barely Any Meristem
BP : Biological process
BR : brassinostéroïdes
CaM : calmoduline
CAX: se réfère aux échangeurs de Ca²⁺
CBF : C-repeat binding factor
CC : cellular component
CDK : cyclin-dependent kinase
CEP : C-terminally encoded peptide
CEPD1 : CEP Downstream 1
CIPK : calcineurines B-like-CBCL-interacting protein kinase
CKs : cytokinines
CLC : canaux chlorique
CLE : CLAVATA3/ENDOSPERM SURROUNDING REGION (ESR)-related
CML : calmoduline-like
CNGC : Cyclic nucleotide gated channel
CNIH : Cornichon homologue
CO₂ : Dioxyde de carbone
CPK : Calcium-dependent kinase
CRLK : *Catharanthus roseus* Receptor-Like Kinases
Cro-EM : Cryo-microscopie électronique
DACCs : Depolarisation activated Ca²⁺ channels
DEGs : Differentially expressed genes
dnOPDA : acide dinor-12-oxo-phytodiénoïque
EAO : Espèces activées d'oxygène (ROS)
ERF : Ethylene Response Transcription Factor
ET : éthylène
FDR : false discovery rate
fou2 : *fatty acid oxygenation upregulated2*
GA : gibberellic acid
GABA : γ -aminobutyric acid
GI : GIGANTEA
GLR : glutamate receptor-like
GO : gene ontology
GTP : guanosine 5'-triphosphate
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène
Hz : Hertz
iGluR : Ionotropic glutamate receptor
IQ : isoleucine-glutamine
JA : acide jasmonique
JA-Ile : jasmonoyl isoleucine
JAR1 : jasmonate resistant1
JAZ : JASMONATE-ZIM DOMAIN
JJW : JAV1-JAZ8-WRKY51 (complex)
JMT : JA carboxyl methyltransférase
KO : knock-out
kPa : kilopascal
KRP : KIP-RELATED PROTEIN
LEP : local electric potential
Log2FC : Log2Foldchange
LOX : lipoxygénase

LVDT : Linear Voltage displacement transducer
 MAPKs : mitogen-activated protein kinases
 MCA : Mid1-complementing activity channels
 MeJA : méthyl jasmonate
 MF : molecular function
 MscS-like: Small-conductance mechanosensitive channel like
 MSL : MscS-like
 MT :microtubule
 mV : millivolt
 NMDARs : N-methyl-D-aspartate receptors
 O₂ : dioxygène
 OL : onde lente
 OPC8 : acide 8-(3-oxo-2-(pent-2-enyl)cyclopentyl)octanoïque
 OPDA : acide 12-oxo-phytodiénoïque
 OPR3 : OPDA reductase3
 OSCA : Reduced 'hyperosmolarity-induces [Ca²⁺]_{cyt} increase' channel
 PA : potentiel d'action
 PDLP : plasmodesmata located protein
 PDMS : polydimethylsiloxane
 PG : potentiel graduel
 PIAF : Physique et Physiologie Intégratives de l'Arbre en environnement Fluctuant (laboratoire)
 PLP2 : Patatin-like protein2
 PP2C : protein phosphatase de type 2C
 PR : période réfractaire
 PSII : photosystème II
 QUAC : Quic anion channel
 RBR1 : RetinoBlastoma-Related protein 1
 RE : réticulum endoplasmique
 RLK: Receptor-Like Kinase
 ROS : reactive oxygen species (EAO)
 SA : acide salicyclique
 SAUR : SMALL AUXIN UP-RNA
 SLAC : Slow anion channel
 SnRK: SNF1-related kinase
 SV channel : slow vacuolar channel (à propos de TPC1)
 TCH : TOUCH
 tnOPDA : tetranor-OPDA, 4,5-ddh-JA pour 4,5-didehydrjasmonate
 TOR : Target of Rapamycin
 TPC1 : Two pore channel1
 TPK : Two pore K⁺
 VDAC : voltage dependent anion channel
 WT : wild type
 Xyl : bêta-1-4-xylosyl

Synthèse bibliographique

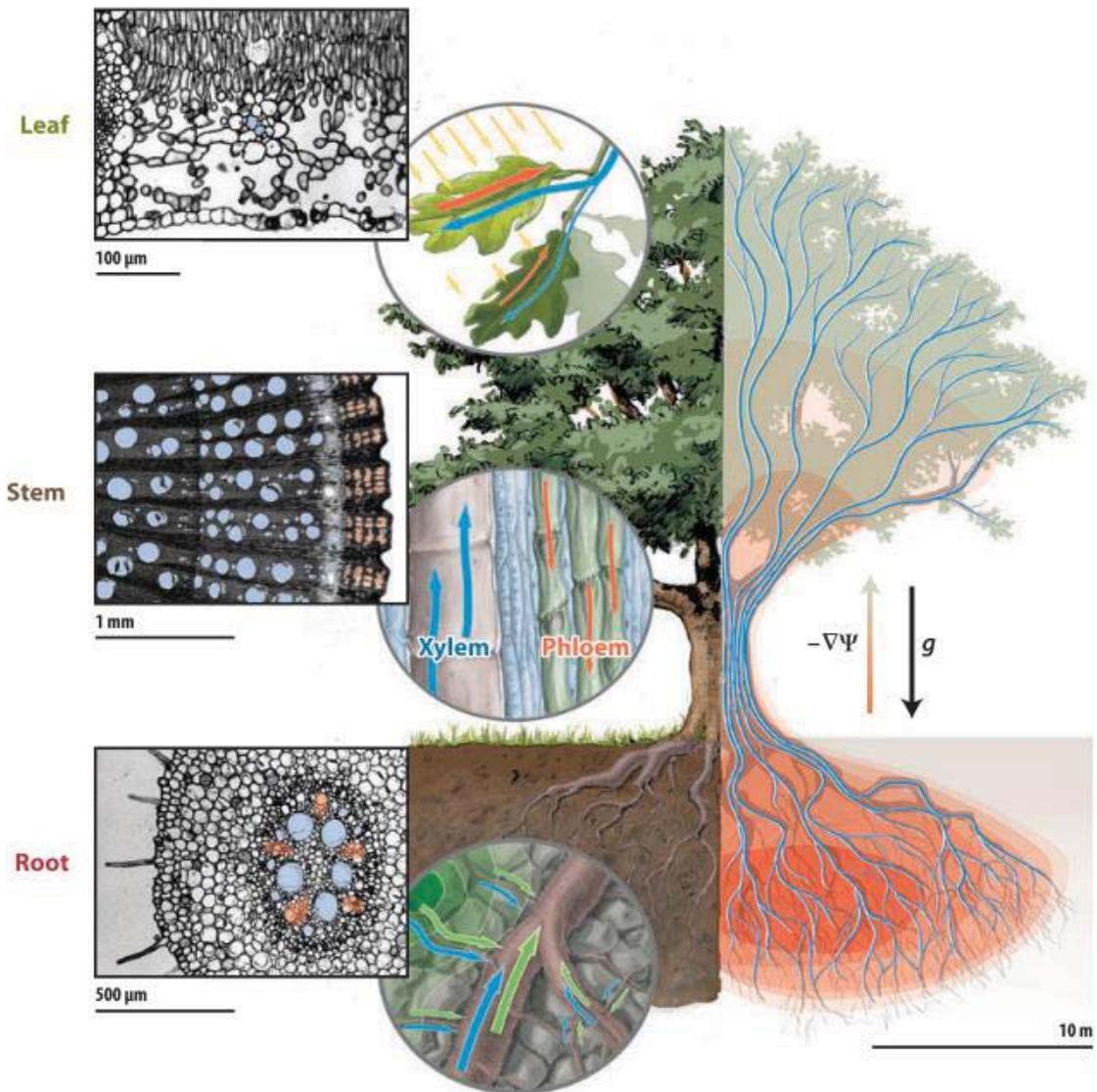


Figure 1 : Vue globale des procédés de transport d'eau, d'éléments minéraux et de métabolites dans un arbre. Le xylème permet le transport d'eau et d'éléments minéraux du sol vers l'atmosphère *via* le gradient de potentiel hydrique (ψ). Le phloème transporte notamment les sucres et autres métabolites produits au niveau des feuilles vers les puits de carbone de la plante. Les zooms montrent une vue transverse d'une feuille, d'une tige, et d'une racine avec la localisation du xylème (bleu) et du phloème (orange). Adaptée de Stroock *et al.*, 2014, par JF-Louf (2015).

I. Position du sujet

Les plantes terrestres sont des organismes fixés. Elles se développent dans la verticalité tout en étendant des ramifications toujours plus petites tant dans l'espace aérien que souterrain. Dans l'espace aérien elles captent le rayonnement solaire et le CO₂ avec lesquels elles produisent du sucre qui sera réparti dans l'ensemble de l'organisme via le phloème, et sous terre, elles puisent des éléments minéraux et de l'eau transportés via le xylème jusqu'aux feuilles (Figure 1). Cette surface d'échange peut atteindre, pour un arbre moyen, jusqu'à 200 hectares (Hallé, 2004). De telles architectures sont susceptibles de se maintenir en croissance durant des siècles dans un environnement fluctuant et contraignant les soumettant en permanence à des stimuli, notamment de nature mécanique.

La sollicitation mécanique des arbres et des plantes non ligneuses par le biais du vent, de la pluie, du frottement ou du toucher d'animaux de passage, de l'enfoncement dans le sol, ou de l'accumulation de glace ou de neige est connue pour induire une cascade de réponses physiologiques, développementales, anatomiques et morphologiques appelée thigmomorphogenèse (Jaffe, 1973).

Sous la direction de Marie-Odile Desbiez, des chercheurs du PIAF (anciennement Laboratoire de Phytomorphogenèse de Clermont-Ferrand) ont mis en évidence un transfert d'information entre organes suite à une sollicitation mécanique. Ainsi, une piqûre appliquée sur un des cotylédons de *Bidens pilosa* L. déclenche dans la minute suivante l'inhibition de la croissance du bourgeon axillaire situé sur le côté traité (M. O. Desbiez, 1971). La question d'un transfert d'information se pose, l'hypothèse d'une signalisation chimique semble difficilement expliquer la réponse compte-tenu de la rapidité de la réponse. Elle est toutefois alors défendue par les travaux de Ricca (1916), Van Sambeek et Pickard (1976b), Ryan et Farmer (1991). Une seconde hypothèse est celle du déclenchement et de la propagation d'une onde pression hydraulique mesurée plus tard par Malone et Stankovic (1991). Mais c'est l'hypothèse d'une signalisation électrique qui est alors envisagée par M-O Desbiez. En effet à chaque fois que le traitement piqûre induit l'inhibition de croissance du cotylédon de *Bidens*, une variation de potentiel est mesurée par des électrodes (M.-O. Desbiez, 1973). Cette variation de potentiel correspond à une onde lente, elle s'observe lors de **sollicitations lésantes** où elle est susceptible d'être accompagnée d'un potentiel d'action. Sa caractérisation électrophysiologique fut avancée par Jean-Louis Julien (1993). Il proposa notamment que l'onde lente ne soit pas un signal auto-propagé mais le résultat d'un changement de tension des vaisseaux du xylème causé par la sollicitation et induisant l'activation de canaux mécanosensibles responsable de la dépolarisation. Cette hypothèse est appuyée par les études de Malone qui mesure ce changement

de tension du xylème chez la tomate (Malone *et al.*, 1994), puis elle sera approfondie par Farmer en 2014 sous le nom de Squeeze Cell Hypothesis.

Les recherches en électrophysiologie végétale ont ensuite connu une période creuse, il faudra attendre la décennie 2010 avec notamment les travaux du laboratoire d'Edward E. Farmer pour leur grand retour. Mousavi *et al.*, (2013) montrent grâce à des mutants d'*Arabidopsis thaliana* que les canaux Glutamate-Receptor-like (GLRs) sont nécessaires à la propagation de l'onde lente à distance de l'organe blessé, ainsi qu'à l'activation de la voie des jasmonates. L'onde lente apparaît donc comme le vecteur de l'information dans la plante suite à une sollicitation mécanique lésante.

Fin des années 1990, le laboratoire du PIAF abandonne la plante modèle *Bidens* pour la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), et la piqûre pour la flexion. La flexion constitue une sollicitation mécanique intéressante car elle est quantifiable et non nécessairement lésante (pour une intensité de déformation inférieure à 2%). Les travaux de Catherine Coutand *et al.* (2000) permettent de mettre en évidence un arrêt de croissance primaire survenant rapidement après une flexion basale, non lésante, d'un plant de tomate, et donc suppose un transfert d'information depuis la zone sollicitée jusqu'au méristème apicale caulinaire. Elle montre aussi une corrélation entre la durée de l'arrêt de la réponse de croissance et la somme des déformations longitudinales appliquées à la tige. Une déformation longitudinale correspond au raccourcissement que subit une pièce sous l'effet d'un effort de traction ou de compression.

C'est au début des années 2010 avec la venue de Rosana Lopez (post-doctorante) au laboratoire du PIAF et le stage de master II de Sébastien Peraudeau que commencera l'étude du transfert de l'information longue distance suite à une flexion de tige chez le peuplier (*Populus tremula x alba*). Ils montrent qu'une flexion de tige d'un scion de peuplier déclenche une onde de pression hydraulique qui transiterait par le xylème en traversant l'ensemble de la tige à très haute vitesse (Lopez *et al.*, 2014). Cette onde de pression hydraulique présente une amplitude (kPa) proportionnelle au volume de tige sollicitée (Lopez *et al.*, 2014) faisant un lien avec la réponse de croissance suite à la flexion de la tomate étudiée par Coutand (2000). L'hypothèse phare devient que l'onde de pression hydraulique puisse être le signal qui transmet rapidement les informations mécanobiologiques aux feuilles, aux racines et au méristème apicale.

A l'instar de l'onde lente responsable du transfert d'information d'un organe blessé à un organe non blessé (Wildon *et al.*, 1992 ; Mousavi *et al.*, 2013), un potentiel d'action est susceptible d'être généré suite à des stimulations non lésantes comme le toucher chez les plantes

motrices (Yokawa *et al.*, 2018), ou chez le peuplier suite à l'application de froid (Lautner *et al.*, 2005). À l'image de la Squeeze Cell Hypothesis (Farmer *et al.*, 2014), la réponse électrique à la flexion pourrait être initiée par l'ouverture de canaux mécanosensibles au passage d'une onde de pression hydraulique traversant le xylème (Lopez *et al.*, 2014, Louf *et al.*, 2017).

C'est dans ce contexte que mes travaux de thèse portant sur la caractérisation de la signalisation à longue distance chez le peuplier ont débuté. Ainsi, une première partie de ce manuscrit a été consacrée à une synthèse bibliographique centrée principalement sur les connaissances acquises sur les réponses électriques chez les plantes. Le second chapitre présente la caractérisation électrophysiologique de la réponse à la flexion le long de la tige de peuplier. Le troisième chapitre vise à explorer l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique. Le quatrième chapitre présentera les résultats des modifications transcriptomiques en réponse à une flexion en distinguant une section de tige qui présente une réponse électrique, et une autre où elle est absente. Cette réponse transcriptomique sera comparée à celle induite par une brûlure. Enfin le dernier chapitre présentera les conclusions et perspectives du travail entrepris.

II. Réponses de croissance et de développement au vent et à la flexion

L'effet des sollicitations mécaniques sur la croissance et le développement des plantes est appelé thigmomorphogenèse (Jaffe, 1973). La réponse morphologique se caractérise généralement (Jaffe et Forbes, 1993) par une diminution de la croissance primaire (longitudinale) de la partie aérienne, et chez certaines espèces ligneuses par une augmentation de la croissance secondaire (radiale).

A. Modifications thigmomorphogénétiques dans la zone sollicitée

1. Modification de la croissance radiale

Chez les dicotylédones, des sollicitations mécaniques peuvent engendrer une modification de la croissance radiale dans la zone sollicitée. Dès 1803, Knight observe que des pommiers protégés du vent ont une croissance radiale plus faible que ceux qui y sont exposés (d'après revue de F. W. Telewski, 2006). Depuis, de nombreuses études ont confirmé ces résultats sur de nombreuses espèces ligneuses en comparant par exemple la croissance radiale d'arbres tuteurés ou dont les mouvements sont laissés libres au vent (Pruyn *et al.*, 2000), en mimant l'effet du vent par des flexions répétées sur de jeunes noyers (Roignant *et al.*, 2018 ; Niez *et al.*, 2019) ou encore en forêt sur des hêtres en suivant la croissance radiale d'arbres haubanés ou non (Bonnesoeur *et al.*, 2016). En fonction des traitements appliqués ou de leur durée, l'augmentation de la croissance radiale peut être très significative. Par exemple, l'application d'un traitement journalier de 20 flexions pendant deux mois sur deux hybrides de peupliers se

traduit par une augmentation significative, de 130 à 140% suivant l'hybride, de leur diamètre par rapport aux témoins non sollicités (Pruyn *et al.*, 2000).

Mais une seule sollicitation, peut être suffisante pour déclencher une réponse. Chez *Populus tremula x alba*, Coutand *et al.*, (2009) montre qu'une seule flexion transitoire de la tige entraîne une courte période d'inhibition de la croissance secondaire (4 h), suivie d'une stimulation massive du taux de croissance pendant 3 jours, et enfin d'un retour aux valeurs normales (Figure 2).

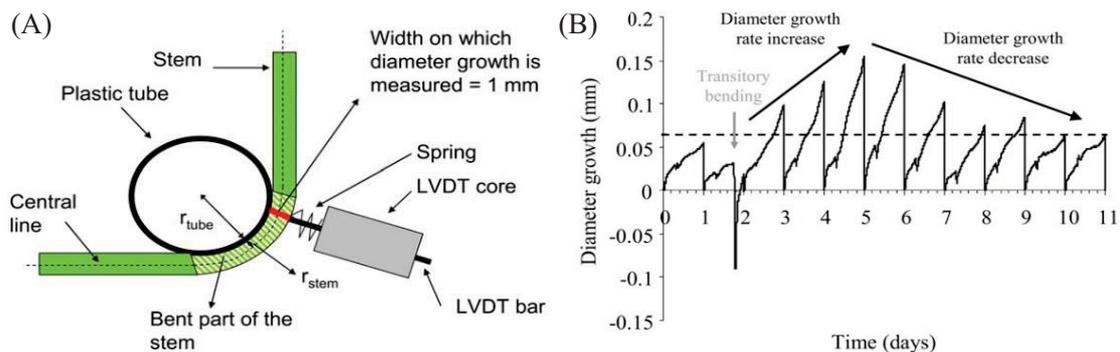


Figure 2 : Dispositif expérimentale de flexion de tige de peuplier et mesure du diamètre de la tige dans la zone fléchie. (A) La tige est équipé d'un LVDT (Linear Voltage displacement transducer) afin de mesurer la croissance secondaire avant, pendant et après la flexion. La tige est fléchie contre un tube en plastique. (B) Exemple d'enregistrement au LVDT de la croissance secondaire de la tige suite à une flexion transitoire. D'après Coutand *et al.*, 2009.

2. Modification des caractéristiques mécaniques des tissus

L'augmentation de la croissance radiale ainsi que les changements anatomiques et chimiques de la paroi modifient les propriétés biomécaniques du bois. Le paramètre mécanique caractérisant l'état mécanique de la tige est la rigidité en flexion EI , où E est le module longitudinal d'élasticité et I le moment quadratique, qui varie à la puissance 4 du diamètre. Chez le peuplier, une diminution significative du module de Young, après flexion, a été mesurée (Pruyn *et al.*, 2000 ; Kern *et al.*, 2005; Niez *et al.*, 2020;). Cela s'explique par un changement dans l'anatomie du nouveau bois formé qui possède des vaisseaux en plus faible nombre et de plus faible diamètre (Kern *et al.*, 2005), ce nouveau bois formé serait donc moins rigide.

Parallèlement, la rigidité de flexion, qui exprime la rigidité d'une tige, tend à augmenter chez les ligneux soumis à des perturbations mécaniques comme le montre Telewski (1989) chez le sapin (*Abies fraseri*).

Plus récemment, Jeanne Roignant (doctorante au PIAF) montre qu'en réponse à de multiples flexions unidirectionnelles, la tige de peuplier (*Populus tremula x alba*) développe dans la zone sollicitée une forme ovale (Roignant *et al.*, 2018). Dans la section de tige sollicitée

est alors distinguée la partie comprimée du bois et la partie étirée. Certains traits anatomiques sont modulés similairement dans les deux parties suite aux flexions unidirectionnelles (la fréquence des vaisseaux du xylème, le diamètre des fibres sans couche G, et l'angle des microfibrilles de cellulose), quand d'autres traits comme le diamètre des vaisseaux, la formation de la couche G dans certaines fibres et le diamètre de ces fibres avec G sont différentiellement modulés entre les deux zones (Roignant *et al.*, 2018).

3. Modification de la régulation des gènes dans la zone fléchie

Les premiers travaux montrant la régulation de l'expression de gènes par le toucher ont été réalisés chez *Arabidopsis thaliana*. En effet, Braam et Davis (1990) observent une induction rapide de gènes codant des calmodulines/calmoduline-like (*TCH1*, 2 et 3) 10 à 30 minutes suivant une sollicitation par le toucher, le vent ou la pulvérisation de gouttelettes d'eau sur les feuilles de la rosette en vue de simuler la pluie.

En 2005, une analyse du transcriptome de feuilles de rosettes d'*Arabidopsis* stimulées en pliant les feuilles d'avant en arrière, a permis d'avoir une vision plus globale des fonctions moléculaires modifiées après un stimulus tactile (Lee *et al.*, 2005). Plus de 700 gènes présentaient une expression régulée 30 min après le stimulus, soit plus de 2,5% du génome. 77% de ces gènes sont sur-exprimés. L'analyse de la catégorisation fonctionnelle de ces gènes a révélé un enrichissement en gènes codant pour des protéines de liaison au calcium, des protéines impliquées dans des modifications de la paroi cellulaire, des protéines de défense aux maladies, des kinases et des facteurs de transcription. Pour les gènes régulés à la baisse, les catégories "facteur de transcription" et "protéine associée à la paroi cellulaire" étaient également surreprésentées.

En 2010, Martin *et al.*, ont évalué les réponses du peuplier à de multiples flexions successives de la tige, imitant le vent, et ont fourni les premières preuves d'un processus de désensibilisation aux stimulations récurrentes au niveau de la croissance et au niveau moléculaire. Ils ont découvert que l'expression de quatre gènes mécanosensibles précoces, codant pour une calmoduline (*TCH2*), une enzyme de la voie de synthèse de l'éthylène (*ACS6*), une enzyme modifiant la paroi (*TCH4*) et un facteur de transcription à deux doigts de zinc (*PtaZFP2*), était régulée avec une intensité moindre lors d'une deuxième flexion de la tige, appliquée 24 heures après la première (Figure 3). Ce phénomène est maintenant appelé "accommodation" et il serait crucial pour éviter une réponse excessive au vent (Bonnesoeur *et al.*, 2016; Moulia *et al.*, 2011).

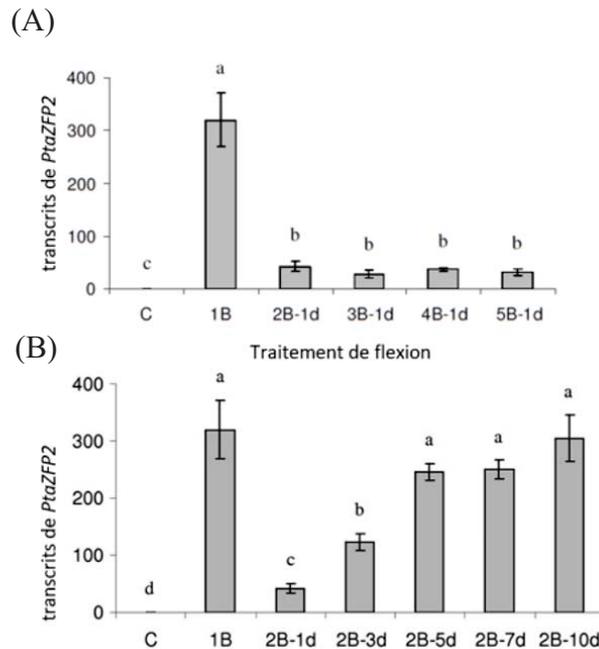


Figure 3 : Phénomène d'accommodation : effet des flexions répétées. (A) Accumulation des transcrits de *PtaZFP2* en réponse à une ou plusieurs flexions successives de la tige séparées de 24h (1d). (B) Effet du délai entre deux flexions successives sur l'accumulation des transcrits de *PtaZFP2*. C : plantes contrôles non fléchies, B : traitements de 1, 2, 3, 4, 5 flexions, d : délais de 1, 3, 5, 7 et 10 jours entre les deux flexions. D'après Martin *et al.* (2010).

Une étude du transcriptome de la zone sollicitée suite à une ou plusieurs flexions de tige de peuplier a été menée au PIAF par Lise Pomies. Cette étude révèle que 6% du génome est exprimé de manière différentielle suite à une unique flexion transitoire. Les réponses transcriptomiques à court terme (30 minutes) montrent une stimulation rapide des gènes impliqués dans les voies de signalisation de défense de la plante et du stress abiotique, y compris la signalisation de l'éthylène et de l'acide jasmonique. Les réponses transcriptomiques tardives (24h, 72h) affectent la régulation des gènes impliqués dans l'organisation de la paroi cellulaire et/ou le développement du bois. Une analyse de l'impact moléculaire de la flexion récurrente (2^{ème} flexion appliquée 24h après la première) a révélé que la grande majorité (96 %) des gènes exprimés de manière différentielle après une première flexion présentait une régulation d'amplitude réduite, voire nulle, après la deuxième exposition à la flexion (Pomies *et al.*, 2017). L'ensemble de ces données montre que les régulations géniques sont nombreuses et forment un réseau complexe pouvant intégrer des boucles de rétroaction.

Depuis ces travaux pionniers, de nombreuses études ont cherché à mieux caractériser les voies de signalisation impliquées dans ces réponses aux sollicitations chez *Arabidopsis* (revue Brenya *et al.*, 2022). Des travaux plus récents ont montré plus spécifiquement l'importance d'une balance hormonale GA/JA et de la voie de signalisation des JAs dans la régulation de la

thigmomorphogénèse chez *Arabidopsis* (Chehab *et al.*, 2012; Lange et Lange, 2015). Ainsi, différents mutants altérés dans la voie de biosynthèse des JAs (mutants *jar1*, *aos*) ou leur signalisation (mutants *myc2,3,4*) présentent une diminution de la réponse thigmomorphogénétique, tandis que la surexpression de l'acide 12-oxo-phytodienoïque réductase 3 (OPR3) favorise la thigmomorphogénèse (Chehab *et al.*, 2012; van Moerkercke *et al.*, 2019). Par ailleurs, une cascade de phosphorylation impliquant les mitogen-activated protein kinases (MAPKs) semble jouer un rôle clé dans la voie de transduction du toucher chez *Arabidopsis* (Shinozaki *et al.*, 1996). Par exemple, 3 jours de stimulation tactile continue induite par les poils d'une machine automatique provoque le syndrome thigmomorphogénétique chez les plantes de type sauvage mais ne modifie pas la taille des rosettes dans les mutants *mkk1* et *mkk2*. De plus, la phosphoprotéine TREP1, qui est rapidement phosphorylée en réponse à un stress mécanique, semble essentielle dans le déclenchement du retard induit par le toucher dans la floraison (K. Wang *et al.*, 2018).

Enfin, plusieurs études ont cherché à décrypter les étapes précoces de la mécanoperception suite à une sollicitation mécanique chez *Arabidopsis*. A ce jour, trois acteurs moléculaires ont été identifiés, tous les trois dans le cadre de l'étude de la croissance racinaire en réponse à un toucher ou à l'impédance mécanique d'un milieu : (i) la protéine FERONIA, protéine transmembranaire de la famille des CRLK (*Catharanthus roseus* Receptor-Like Kinases), qui contrôle une partie de l'augmentation du calcium cytoplasmique dans la racine suite à l'application de différentes sollicitations mécaniques (Shih *et al.*, 2014), (ii) les canaux mécanosensibles perméables au calcium MCA2 et PIEZO qui régulent la croissance racinaire dans des milieux de rigidité différentes (Yamanaka *et al.*, 2010 ; Procko *et al.*, 2021).

B. Modifications thigmomorphogénétiques à distance de la zone sollicitée

Les réponses thigmomorphogénétiques des plantes ne sont pas limitées aux zones sollicitées, et peuvent, au contraire, se manifester dans des zones non stimulées, laissant entendre un transfert d'information entre ces zones.

1. Modification de la croissance longitudinale (croissance primaire)

De nombreux résultats d'expérimentations menées en conditions naturelles montrent que la croissance longitudinale est augmentée chez les plantes protégées du vent, c'est le cas chez *Larix laricina* (Larson, 1965), *Prunus avium* (Catherine Coutand *et al.*, 2008), chez l'herbacée *Medicago sativa* (Mouliat et Combes, 2004). Ces résultats montrent l'effet du vent en terme de signal mécanique sur la croissance longitudinale des plantes.

Différents travaux étudient l'effet de diverses sollicitations mécaniques artificielles sur la croissance longitudinale. Ainsi, la croissance longitudinale est diminuée suite à des frottements chez *Phaseolus vulgaris* (Erner et Jaffe, 1983), par brossage chez *Abies fraseri* (Frank W. Telewski et Jaffe, 1986), après deux touchers par jour chez *Arabidopsis thaliana* (Braam, 2004) et après flexion chez *Lycopersicon esculentum* (C. Coutand *et al.*, 2000; Depege *et al.*, 1997) et sur *Juglans regia* (Leblanc-Fournier *et al.*, 2008).

L'étude menée sur l'effet d'une flexion contrôlée sur la croissance en longueur de tige de tomate est intéressante puisqu'elle permet de caractériser les cinétiques des réponses. Lors de cette expérience des tomates d'une hauteur moyenne de 35 cm présentant 8 entre-nœuds, dont les 5 derniers sont encore en élongation, sont utilisées. Elles sont fixées au niveau du 3^{ème} entre-nœud, soit 10 cm de la base de la tige. La flexion est réalisée par déplacement du pot sur 2 cm à une vitesse de $1,3 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, soit sur une longueur de 10 cm en position basale. En suivant la croissance longitudinale en continu à l'aide d'un capteur, ces travaux montrent que dans les 5 minutes suivant la flexion, un arrêt complet de l'élongation de la tige d'une durée de 60 minutes est observé dans 83% des cas (15/18 expériences). Les 2 expériences restantes montrent un arrêt fort mais non complet de l'élongation. (Figure 4). La tige fléchie ne retrouve une vitesse d'allongement similaire à celle du témoin qu'au bout de 2 à 16 heures (Coutand *et al.* 2000). Cela montre que la plante n'est pas seulement capable de percevoir les stimuli mécaniques localement, mais qu'elle est aussi capable de transporter cette information à distance de la zone sollicitée. A minima la vitesse de propagation du signal serait de $0,05 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, ce qui correspond à une vitesse de propagation pour laquelle le signal déclenche un arrêt de croissance instantanément à son arrivée dans les deux entre-nœuds les plus proche de l'apex.

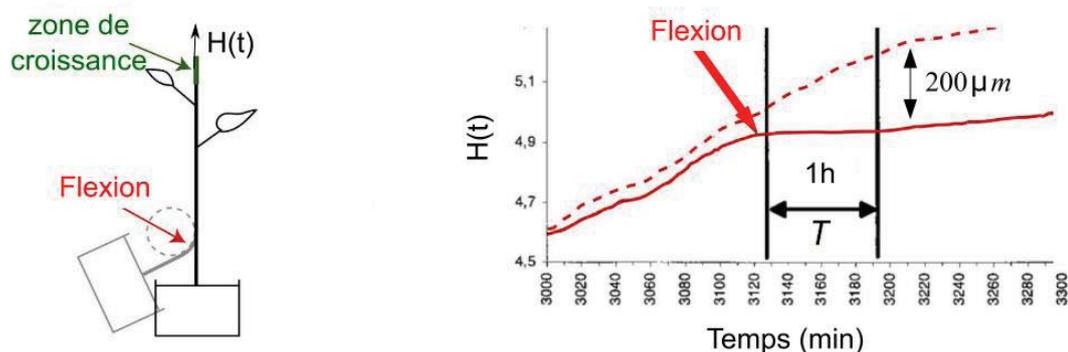


Figure 4 : Evolution temporelle de la croissance primaire en réponse à une flexion transitoire appliquée à la base de la tige (flèche), loin de la zone en croissance (vert) chez la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Quelques minutes après le stimulus, la croissance s'arrête pendant un temps T. La ligne en pointillés montre la croissance non perturbée d'un individu témoin. Adaptée de Coutand *et al.* 2000.

Parallèlement, Aude Tixier montre qu'à la différence de la tomate, une flexion unique basale d'une tige de peuplier ne permet pas de mesurer un arrêt de la croissance primaire (Tixier *et al.*, 2014), la croissance apicale entraînant une forte circumnutation de l'apex de la tige, les capteurs utilisés précédemment n'étant pas adaptés pour suivre la croissance en continu. De plus, les analyses du niveau de transcription de certains gènes associés à la division cellulaire, à l'élongation cellulaire et à certaines hormones impliquées dans la croissance dans la zone apicale n'ont pas permis de détecter une régulation à distance de ces gènes suite à flexion basale de la tige de peuplier et cela 30 minutes, 1, 2, 3, 5, 18 et 24h après la stimulation (Tixier *et al.*, 2014). Cependant, les thèses de Jeanne Roignant (2018) et Benjamin Niez (2019) ont montré qu'en imposant un régime quotidien de flexion sur une période de plusieurs semaines (voir plusieurs mois) une différence de hauteur entre des peupliers fléchis et des témoins tendait à apparaître (Figure 5). Une hypothèse peut expliquer ces résultats : une seule flexion est suffisante pour inhiber la croissance primaire, mais sur une courte durée, et de ce fait l'arrêt de croissance primaire n'est pas perceptible par les méthodes de mesure utilisées. L'addition des flexions permettrait de cumuler les micro-arrêts de croissance primaire visibles à partir d'un nombre suffisant de flexions.

On constate qu'une unique flexion est capable de déclencher une réponse rapidement à distance chez la tomate (Coutand *et al.* 2000), mais que ce n'est pas le cas chez le peuplier où plusieurs flexions basales sont requises pour constater une simple tendance dans la différence de hauteur (Tixier *et al.* 2014 ; Roignant *et al.*, 2018 ; Niez *et al.* 2019). L'idée qu'un signal soit généré à l'endroit déformé et qu'il se propage à travers la plante jusqu'à la zone qui régule la croissance primaire est pourtant bien acceptée. Le mécanisme de signalisation à longue distance serait commun chez les plantes. La nature de ce signal reste toutefois inconnue.

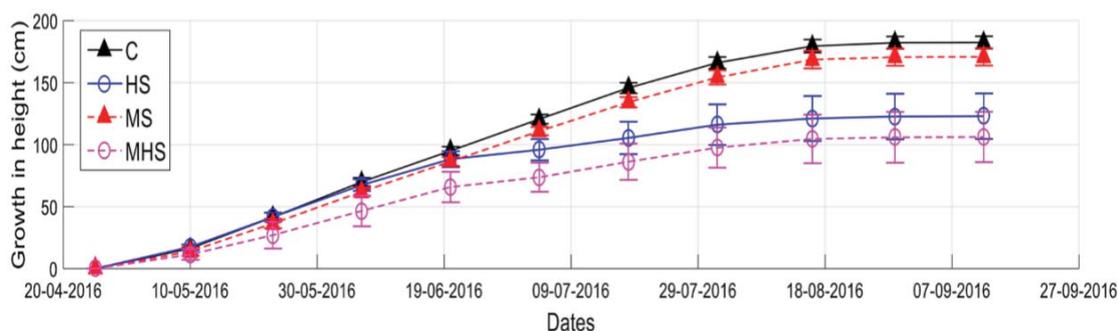


Figure 5 : Evolution temporelle de la croissance primaire du peuplier en réponse à différents traitements (Niez *et al.* 2019). La croissance a été suivie sur des peupliers (*P tremula x P alba*) en absence de flexion (lignes pleines), subissant un régime de 3 flexions basales par jour, 5 jours sur 7 durant 5 mois (lignes en pointillés) en présence d'un stress hydrique (symboles vides) ou non (symboles pleins).

2. Modification de la croissance racinaire

Plusieurs études suggèrent que le transfert d'information pourrait également modifier à distance la croissance racinaire. En effet, Gartner (1994) montre que des plantules de tomates soumises à plusieurs flexions quotidiennes de la tige allouent préférentiellement, et de manière significative, leur biomasse au système racinaire en défaveur de la partie aérienne. Des résultats similaires ont été trouvés sur *Capsella bursa-pastoris* suite à un traitement vibratoire quotidien (à 250 Hz) de la tige par une brosse à dent fonctionnant sur batterie et recouverte d'une chaussette pour éviter l'abrasion des cellules de l'épiderme (Niklas, 1998). Chez les arbres également, une flexion de tige quotidienne pendant 8 semaines entraîne une modification de la répartition de la biomasse totale au profit du système racinaire (Coutand *et al.*, 2008).

III. Transfert d'information à distance de la zone sollicitée : hypothèses des signalisations chimiques et hydrauliques

Chez les plantes, la signalisation à longue distance se produit en réponse à un large éventail de stimuli. Les plantes perçoivent un stimulus de manière localisée susceptible de provoquer ensuite des réponses adaptatives à l'échelle de la plante. La perception des signaux locaux déclenche la transmission d'informations à l'aide de différents facteurs tels que les petites molécules, des phytohormones, des ARN, des protéines ou peptides, des molécules volatiles comme l'éthylène, des vagues calciques, des vagues d'EAO (Espèces Activées de l'Oxygène, ou ROS pour reactive oxygen species), des signaux électriques et hydrauliques (Figure 6). Le transfert d'information à distance d'une section de tige fléchie a fait l'objet de peu d'études et de nombreux champs d'investigation restent ouverts. Cette partie traitera des signalisations chimiques (peptides, ROS, Ca²⁺) et hydraulique, avec pour cette dernière une revue des études traitant de la réponse à une flexion de tige de peuplier. Dans une partie suivante sera traitée la signalisation électrique chez les plantes.

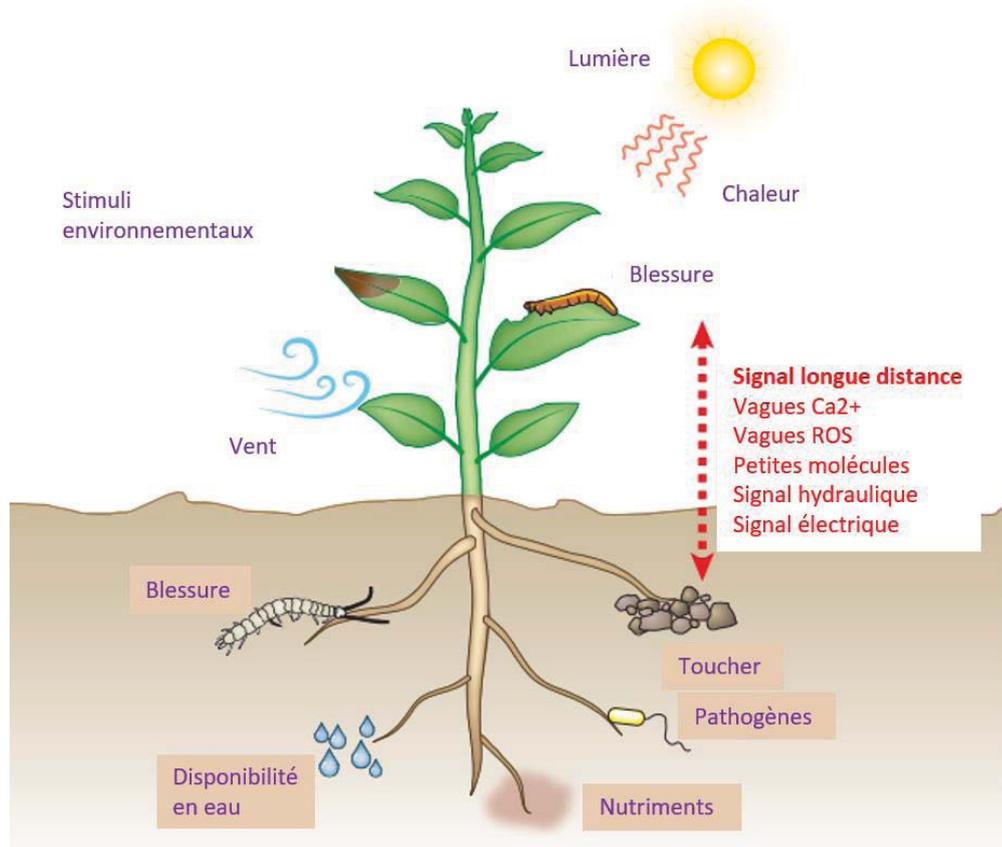


Figure 6 : Des signaux longues distances sont déclenchés dans la plante en réponse à un grand éventail de stimuli. La perception locale de stimuli environnementaux induit une transmission de l'information *via* différents éléments comme les vagues de ROS ou calcique, différentes molécules (hormones, peptides, ARN...) mais aussi des signaux hydrauliques et électriques (d'après Choi *et al.*, 2016).

A. Signalisation chimique

1. Signalisation hormonale

Les phytohormones sont des molécules présentes en faible abondance et qui activent de nombreux processus métaboliques et de développement en réponse à des signaux environnementaux ou endogènes. Les phytohormones peuvent fonctionner soit sur leur site de synthèse, soit être transportées par le système vasculaire vers des tissus éloignés de leur source. La translocation des molécules pour entrer ou sortir du système vasculaire requiert un transport radial. Ce transport radial est rendu possible par deux processus, actif ou passif, selon le gradient de concentration des hormones. Ainsi les hormones sont transportées radialement par des transporteurs actifs à travers la membrane plasmique dans des directions inverse à leur gradient de concentration, ou elles diffusent librement depuis des zones à forte concentration vers des zones à faibles concentration.

Il a été démontré que l'acide indole acétique (AIA ; une auxine), les cytokinines (CKs) et l'acide jasmonique (JA) subissent un transport polaire entre les porte-greffes et les scions. Par exemple, la lumière rouge détectée par les feuilles de scions normaux de tomate active la synthèse de l'AIA (Guo *et al.*, 2016), qui est transportée vers le bas et favorise le développement normal des racines latérales de porte-greffes mutants *diageotropica* (DGT) dont l'organogenèse des racines latérales est abolie (Ivanchenko *et al.*, 2015).

Chez *Arabidopsis*, en cas de stress osmotique, le signal perçu par les racines déclenche une synthèse de JA au niveau des feuilles qui est transporté vers les racines, où il augmente le contenu en protéine PIP, améliorant ainsi leur capacité d'absorption d'eau (Luo *et al.*, 2019). Une déficience en phosphate inorganique dans le milieu de culture induit la synthèse de strigolactones dans les racines et son transport par le xylème jusqu'à la tige où il contribue à la régulation de l'architecture de la partie aérienne (Kohlen *et al.*, 2011). La blessure d'une feuille par un herbivore, déclenche la production locale de JA mais aussi à distance, dans des feuilles non-sollicitées, via un signal électrique (Mousavi *et al.*, 2013) et aussi par translocation de JA par l'intermédiaire des transporteurs AtJAT3 et AtJAT4 (Li *et al.*, 2020).

Comme cité précédemment, l'analyse transcriptomique de la zone fléchie de la tige de peuplier montre également une activation des gènes impliqués dans les voies de biosynthèse de différentes hormones dont la voie des JAs, de l'éthylène et des GAs (Pomies *et al.*, 2017). L'hypothèse d'un transport hormonal depuis la zone sollicitée vers l'apex induisant un ralentissement de la croissance primaire de l'arbre est à envisager.

2. Signalisation peptidique

Outre les hormones végétales, les petits peptides ont été activement étudiés comme molécules de signalisation dans les plantes. La réponse à un stress peut induire une signalisation peptidique à longue distance, comme le montre chez *Arabidopsis thaliana* Takashi *et al.*, (2018). En effet, les auteurs montrent, par l'analyse de différents mutants, que l'application exogène du peptide CLE25 au niveau des racines induit l'expression du gène NCED3 dans les feuilles par l'intermédiaire des récepteurs BAM (Barely Any Meristem), et induit une fermeture des stomates en modulant l'accumulation de l'acide abscissique (Figure 7).

Chez le peuplier, l'analyse transcriptomique de la zone fléchie montre une activation de gènes codant pour des peptides CLE21, 30 minutes après la sollicitation. Ces peptides pourraient être là aussi des candidats à un transfert à longue distance.

Les CEPs sont des peptides sécrétés avec de courts domaines C-terminaux conservés. Le génome d'*Arabidopsis thaliana* comporte une famille de 15 gènes codant pour des CEPs. Les CEPs sont connus pour être induits dans les racines en réponse à une privation de azote. Ils migrent alors jusqu'à la tige où ils sont reconnus par les récepteurs des CEPs (CEPRs). Cette reconnaissance entraîne l'accumulation des polypeptides CEPD1 et 2 (CEP Downstream 1 et 2) dans les feuilles. CEPD1 et 2 descendent dans les racines où ils stimulent l'expression des gènes codant pour des transporteurs de nitrates (NRT2.1) quand le nitrate est présent dans la rhizosphère (Ohkubo *et al.*, 2017).

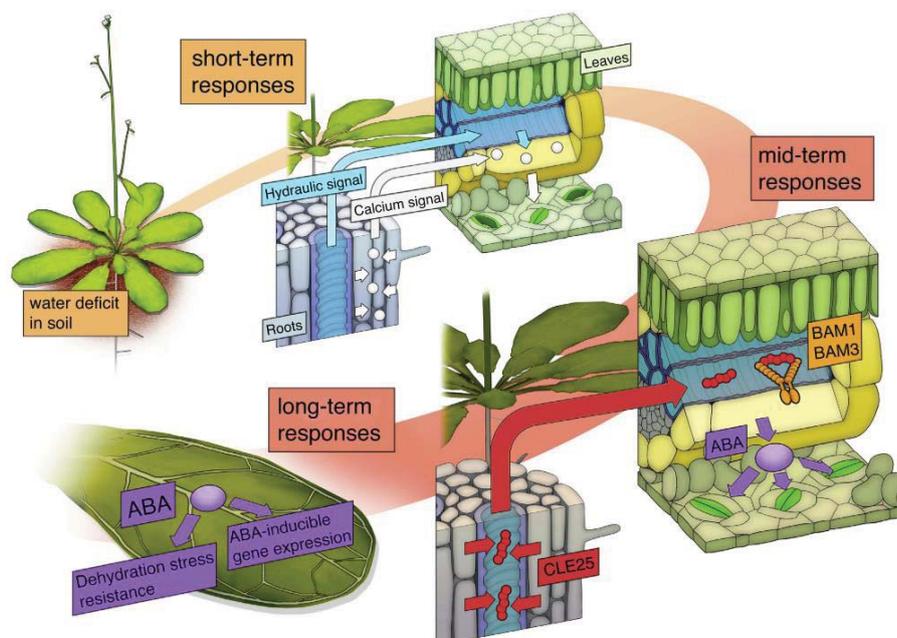


Figure 7 : Réponses à court et long termes à un stress hydrique (sorbitol) conduisant à la fermeture des stomates. D'après la revue de Takashi *et al.*, 2019.

Le mouvement des phytohormones et des peptides de cellules en cellules ou *via* les tissus conducteurs (xylème et phloème) se fait lentement. Lors d'une flexion de tige de tomate, l'arrêt de la croissance primaire est déclenché dans un délai inférieur à 8 minutes (Coutand *et al.*, 2000). En revanche, dans le cas du peuplier, si un arrêt de la croissance primaire a lieu suite à une flexion de la tige, il est n'a pas été perceptible (Tixier *et al.*, 2014). C'est seulement après plusieurs sollicitations qu'une différence de hauteur se mesure. Le transfert d'information de la zone sollicitée vers le méristème apical pourrait être assuré par un déplacement de phytohormones et de peptides.

3. La vague calcique

Le calcium est un messager secondaire bien connu. Chez *Arabidopsis*, un stress salin induit une vague calcique se propageant à une vitesse d'environ $0,04 \text{ cm.s}^{-1}$ des racines à la tige *via* les cellules du cortex et de l'endoderme, y induisant une réponse moléculaire (Choi *et al.*, 2014). Dans cette réponse à distance, les auteurs montrent l'implication du canal TPC1, un canal vacuolaire voltage-dépendant. En effet, bien qu'un mutant *tpc1-2* ne présente pas d'altération sur l'élévation de Ca^{2+} en réponse à un stress salin, la vitesse de transmission de la vague calcique est fortement réduite (divisée par 25). De plus, le niveau de réponse des marqueurs moléculaires *TCH2* et *ZAT12* est réduite dans ce mutant.

Suite à une blessure causée par un insecte herbivore, Kiep *et al.*, (2015) enregistrent *via* une sonde utilisant l'aequorine, une élévation du calcium cytosolique localement et à distance de la stimulation à travers *via* le système vasculaire. Les auteurs montrent également l'implication du canal TPC1 perméable au calcium dans cette signalisation, le mutant *tpc1-2* présentant une forte réduction de l'élévation de calcium comparé au phénotype sauvage. Toyota *et al.*, (2018) et Nguyen *et al.*, (2018) montrent que cette élévation de calcium induite par la blessure de feuilles d'*Arabidopsis*, dépend aussi des canaux Glutamate receptor-like 3.3 et 3.6 (GLRs), tous les deux localisés dans le système vasculaire. Plus récemment, Malabarba *et al.*, (2021) suggèrent l'implication de la protéine Annexine1 dans cette même signalisation (études détaillées par la suite).

Un lien entre le Ca^{2+} et la synthèse des jasmonates vient d'être mis à jour *via* le complexe JAV1-JAZ8-WRKY51 qui réprime l'expression des gènes de la voie de synthèse des JAs chez les plantes saines. Chez les plantes blessées, l'élévation du Ca^{2+} est perçue par les calmodulines CaM1, CaM4 et 7, interagissant et phosphorylant JAV1, levant la répression sur la voie de synthèse des JAs et induisant une flambée de JA (Yan *et al.*, 2018).

Chez *Arabidopsis thaliana*, la flexion de la racine principale induit une élévation du $[Ca^{2+}]_{cyt}$ dans les cellules de l'épiderme étirées par la sollicitation (Shih *et al.*, 2014). Ce mouvement de calcium est-il capable de se propager ? Est-il initiateur d'un signal électrique ou d'une vague d'espèces activées de l'oxygène (EAO/ROS) ?

4. La vague de ROS

Chez *Arabidopsis thaliana*, plusieurs stimuli comme le froid, la chaleur, la blessure, une intense lumière ou un stress salin induisent une vague de ROS, se propageant de cellule en cellule à environ 0.14 cm.s^{-1} , qui participerait à l'activation de voies de signalisation à travers la plante (Miller *et al.*, 2009; Mittler *et al.*, 2011 ; Fichman et Mittler, 2020). Cette vague de ROS est le résultat de l'activation dans la membrane plasmique de la protéine RBOHD générant des anions superoxide (O_2^-) pour former de l' H_2O_2 dans l'apoplasme. RBOHD serait activée directement ou indirectement en réponse à un signal calcique impliquant des aquaporines et plusieurs canaux calciques comme les Glutamate receptor-like (GLRs) dont notamment les GLR3.3 et 3.6, les cyclic nucleotide-gated channels (CNGCs), et les mechanosensitive small conductance-like (MSLs) (Lew *et al.*, 2020 ; Fichman et Mittler, 2021). Les molécules de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produites par la cellule, se retrouvant dans l'apoplasme, peuvent circuler et entrer dans le cytosol de cellules voisines *via* des aquaporines pour y déclencher une réponse d'acclimatation au stress (Figure 8). L'entrée d' H_2O_2 dans une cellule est susceptible de régénérer la vague de ROS en activant RBOHD, donnant un certain caractère d'autopropagation à la vague de ROS (Zandalinas et Mittler, 2018). En plus d'une route apoplasmique, une route symplasmique *via* les plasmodesmes permet la propagation de la vague de ROS. Ainsi Fichman *et al.*, (2021) montrent que la vague de ROS n'est pas induite suite à un stress à forte intensité lumineuse chez des mutants *pdlp1* et *pdlp5* d'*Arabidopsis* (PDLP pour plasmodesmata located protein). La propagation de cette vague de ROS sur de longues distances suite à une blessure a été montrée chez cinq autres espèces : *Lactuca sativa*, *Eruca sativa*, *Spinacia oleracea*, *Blitum capitatum* et *Rumex acetosa* (Lew *et al.*, 2020).

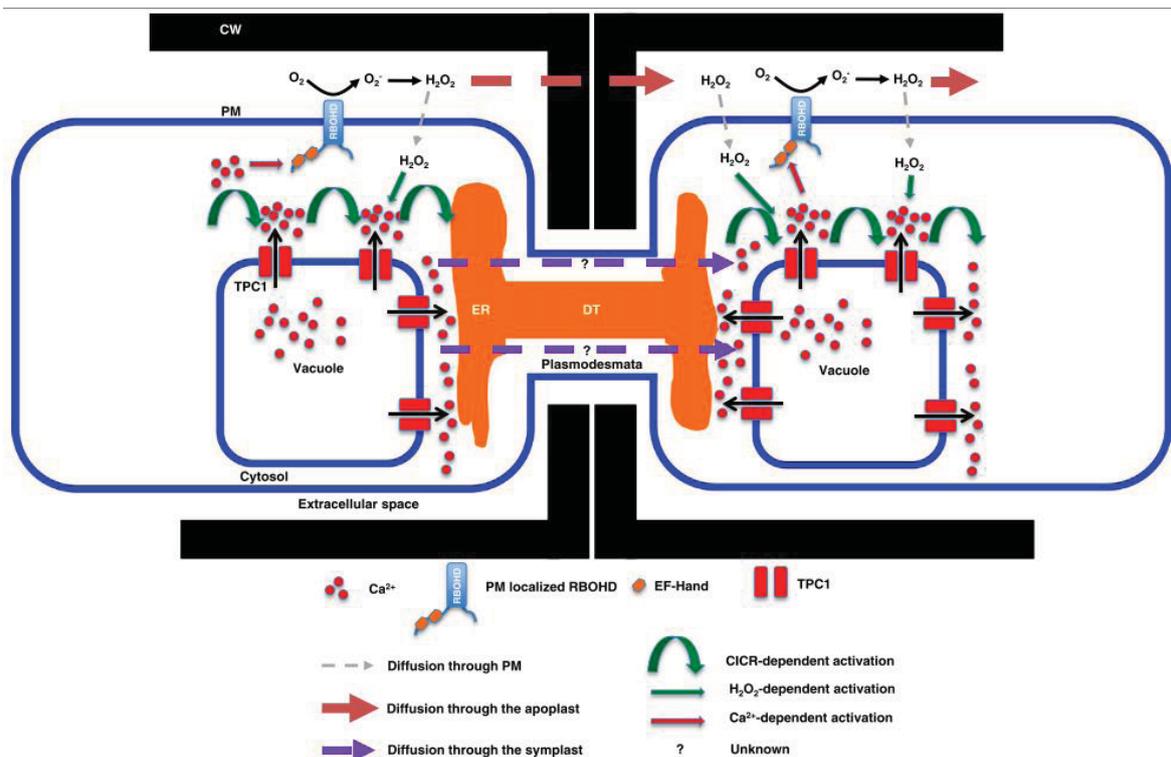


Figure 8 : Les vagues calciques et de ROS se propagent à travers la plante en réponse à différents stress, dont le stress salin. Un stress salin déclenche une augmentation de $[Ca^{2+}]_{cyt}$ depuis la vacuole, via le canal calcique TPC1 (Choi *et al.*, 2014). En parallèle, l'accumulation de ROS dans l'apoplasme est générée par la NADPH oxydase RBOHD (respiratory burst oxydase homolog D), localisée dans la membrane plasmique, et activée via la fixation de Ca^{2+} sur ses motifs EF-hands présents dans l'espace intracellulaire (Choi *et al.*, 2016). Les molécules d' H_2O_2 passeraient de cellules en cellules par voie apoplasmique, activant la NADPH oxydase sur leur passage. PM : membrane plasmique ; CW : paroi cellulaire ; ER : reticulum endoplasmique ; DT : desmotubule ; TPC1 : two pore channel 1. D'après Choi *et al.*, 2017.

B. Signalisation hydraulique

1. Changement rapide de potentiel hydrique

Christmann *et al.* (2007) montrent chez *Arabidopsis* qu'un stress hydrique appliqué aux racines induit un changement de potentiel hydrique dans les cellules du mésophylle, déclenchant la fermeture des stomates. Le stress hydrique est réalisé en exposant les racines à un milieu à haute concentration osmotique (milieu riche en sorbitol). Suite au traitement, les auteurs mesurent un changement de pression de turgescence des cellules du mésophylle, et un drainage du sorbitol entraîne un retour au potentiel de turgescence initial. Au bout d'environ une heure de traitement, ils observent une fermeture de tous les stomates. En 2014, Yuan *et al.* montrent l'implication du canal mécanosensible OSCA1 dans la libération de calcium dans le cytosol des cellules de gardes entraînant la fermeture de stomates en réponse à un choc osmotique (traitement au sorbitol). Christmann *et al.* (2013) proposent que suite à un stress hydrique (Figure 9), la modification de l'état hydrique de la plante induit une première réponse rapide en déclenchant à distance une signalisation calcique aboutissant à la fermeture des

stomates, qui pourrait se faire par l'intermédiaire d'OSCA1 (Yuan *et al.*, 2014). Un stress hydrique imposé aux racines générerait une réponse à distance, fermeture des stomates dans les cellules de gardes, *via* une signalisation hydraulique. Dans un second temps, et comme vu précédemment, le transfert du peptide CLE25 des racines jusqu'au mésophylle viendrait valider et amplifier la fermeture des stomates en modulant l'accumulation d'acide abscissique (Takahashi *et al.*, 2018).

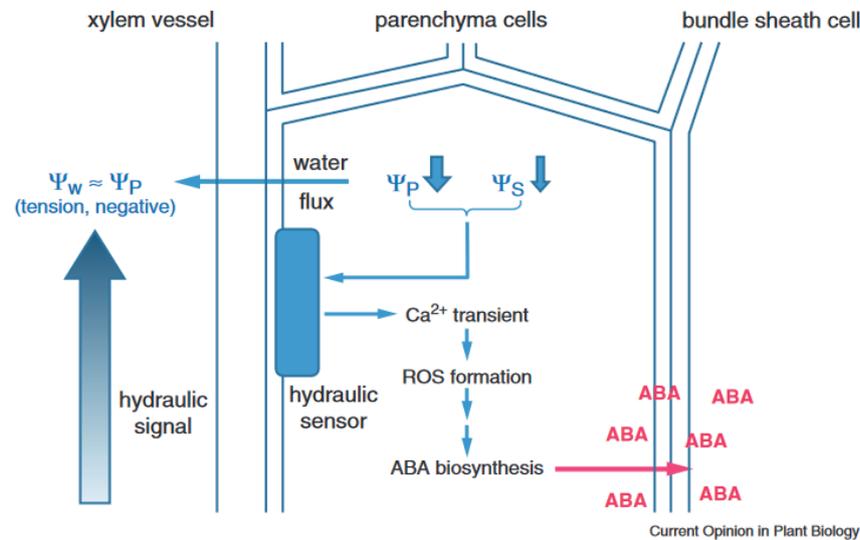


Figure 9 : Conversion d'un stress hydrique des racines en signal hydraulique perçu dans les parties aériennes de la plante *via* le xylème. D'après Christmann *et al.*, 2013.

2. Le mass flow

Des sollicitations mécaniques peuvent déclencher deux types de signaux hydrauliques distincts l'onde de pression hydraulique et la dispersion hydraulique ou mass flow (Malone, 1996).

Une signalisation à longue distance purement d'origine mécanique a été suggérée au début des années 90 (Malone et Stankovic, 1991 ; Malone, 1993). Ces auteurs proposent qu'un signal hydraulique puisse être émis dans le xylème à la suite d'une stimulation mécanique, une idée déjà avancée par Ubaldo Ricca en 1916. Après une blessure, le contenu cellulaire des cellules blessées est relâché dans l'apoplasme, si le xylème est sous tension, il attire cette eau et la tension locale du xylème sera relâchée. Le soulagement local de la tension du xylème se propage alors rapidement ($1,5-3,0 \text{ cm.s}^{-1}$) à la fois dans le sens basipète et le sens acropète (Malone *et al.*, 1994).

Cette hypothèse s'appuie sur plusieurs expériences. Malone observe que la blessure d'une feuille entraîne une augmentation rapide (de l'ordre de 100% en 2 min) de la pression interne

des cellules épidermiques, puis la génération d'un potentiel électrique, qu'il attribue à la relaxation de la tension de l'eau contenue dans les vaisseaux de la feuille (Malone et Stankovic 1991). Cette surpression est observée indirectement en mesurant une augmentation du diamètre des tiges et des feuilles (Malone et al., 1994). Ce scénario dans lequel un stress mécanique (blessure ; brûlure) génère un signal hydraulique, qui lui-même induirait une onde de dépolarisation (onde lente, voir paragraphe signal électrique), est résumé sur la (Figure 10) tirée de la thèse de Jean-Louis Julien (1993).

L'hypothèse d'un tel signal hydraulique pouvant être à l'origine de la transmission à longue distance observée dans la thimomorphogénèse est donc pertinente. Cependant, les études de Malone et de Julien ont essentiellement porté sur des stimuli mécaniques lésants (blessure), pour lesquels la continuité hydraulique du système vasculaire est rompue. L'existence de signaux hydrauliques dans le cas de déformation mécaniques non destructrices (flexion, déformation élastique) est restée hypothétique pendant les 25 dernières années.

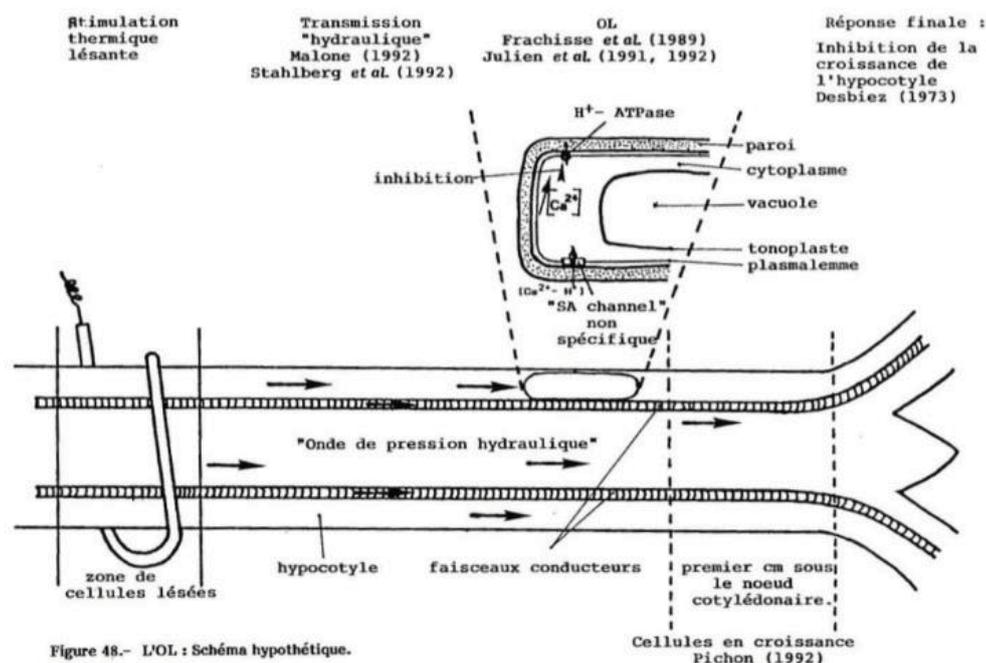


Figure 10 : Scénario de signalisation à longue distance en réponse à une blessure proposé par Julien (Thèse, 1993). Suite à une stimulation thermique lésante, une onde de pression hydraulique se propage dans le système vasculaire puis induit une onde de dépolarisation électrique au niveau apicale chez *Bidens pilosa*.

3. L'onde de pression hydraulique

Une étude récente menée par Lopez *et al.* (2014) a mis en évidence l'existence d'une onde de pression hydraulique lors d'une flexion. Des mesures de pression ont été réalisées sur des branches et tiges d'arbres soumises à des flexions transitoires et d'amplitudes contrôlées (Figure 11a).

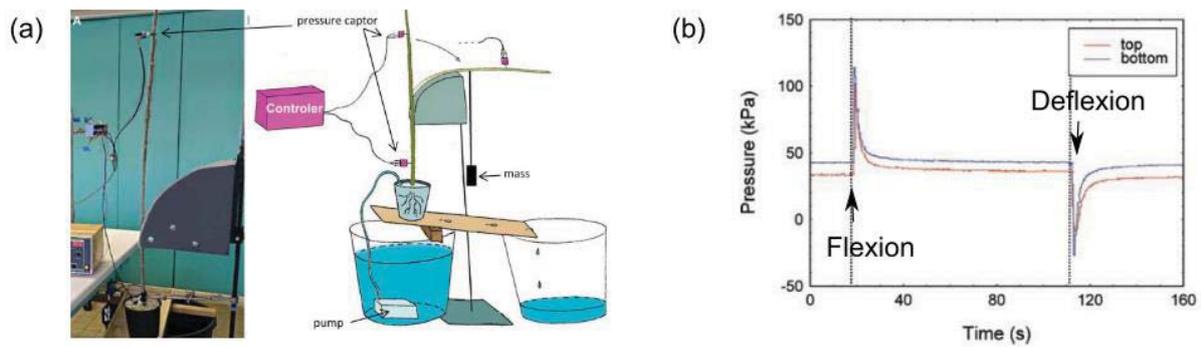


Figure 11 : Mise en évidence d'un couplage hydro-mécanique dans les tiges d'arbres fléchis. (a) Montage expérimental. (b) Signal de pression mesuré dans le système vasculaire de la plante (xylème) lorsque des tiges de jeunes arbres (*P tremula x P alba*) sont rapidement fléchies contre un gabarit. De Lopez *et al.* 2014, adapté par JF Louf (Thèse).

Des scions de peupliers hybrides *P. tremula x alba* d'une taille d'environ 2 m ont été préparés pour générer une pression racinaire. Deux capteurs de pression ont ensuite été connectés au système vasculaire du jeune arbre à l'aide de seringues, à environ 1 m de distance. La flexion a été réalisée sur 30 cm entre les deux capteurs à l'aide d'un gabarit afin d'appliquer une courbure constante le long de la section fléchie. Un signal typique obtenu *in planta* est montré (Figure 11b). On observe une surpression transitoire de quelques kilo Pascals produite presque instantanément après la flexion, avec un temps de relaxation de quelques secondes. Une dépression symétrique est obtenue lorsque la tige est ramenée à sa position initiale. Les signaux des deux capteurs sont quasiment en phase, ce qui suggère une propagation très rapide et dans les deux directions (vers le haut et vers le bas) de la surpression dans le système vasculaire.

Au cours de cette même étude, une expérience similaire a été réalisée sur des segments de branches isolés issus d'arbres de différentes essences. Il a été constaté que la flexion d'une branche d'arbre engendre une surpression globale rapide dans le système, qui relaxe ensuite lentement (Lopez *et al.* 2014).

Les travaux sur l'onde de pression hydraulique ont été poursuivis au cours du doctorat de Jean-François Louf au cours d'une collaboration entre le laboratoire de physique IUSTI (CNRS, Aix-Marseille) et le PIAF. Par une stratégie biomimétique, J-F Louf a modélisé la réponse hydraulique à la flexion d'une branche, identifiant les paramètres clés qui contrôlent la génération de l'onde de pression hydraulique et mettant en évidence l'universalité de ce mécanisme poroélastique chez les plantes (Louf *et al.*, 2017). Le même phénomène de surpression est observé suite à la flexion de cette branche modèle (Figure 12). Le modèle propose que cette surpression varie quadratiquement avec la déformation de flexion et que son

amplitude est contrôlée par la rigidité de la poutre. Ainsi, Louf *et al.*, 2017 proposent que la variation de pression s'exprime sous cette équation :

$$\Delta P = \gamma B \varepsilon_B^2$$

Où $\gamma = 1/2$, est un factor sans dimension qui suppose une compression transversale uniforme, il est dépendant de la distribution des vaisseaux du xylème. Le coefficient B relie la variation du volume liquide dans les vaisseaux à la variation de la pression de pore, il est un module de masse élastique connu comme l'inverse du coefficient de stockage spécifique dans la littérature poroélastique. Dimensionnellement, B est proportionnel au module de Young et dépend de la distribution et la géométrie des vaisseaux du xylème. ε_B est définie comme la déformation longitudinale maximale de la tige (Louf *et al.*, 2017).

Un mécanisme général de génération de signal hydraulique dans des branches modèles et des branches d'arbre a été identifié. Cependant, la structure et la rigidité du bois ne sont pas représentatives de l'ensemble des structures présentes dans le règne végétal. La généricité du phénomène n'est donc pas évidente et entre autres, il n'est pas évident que ce couplage hydro-mécanique existe dans toutes les plantes, y compris les non-ligneuses.

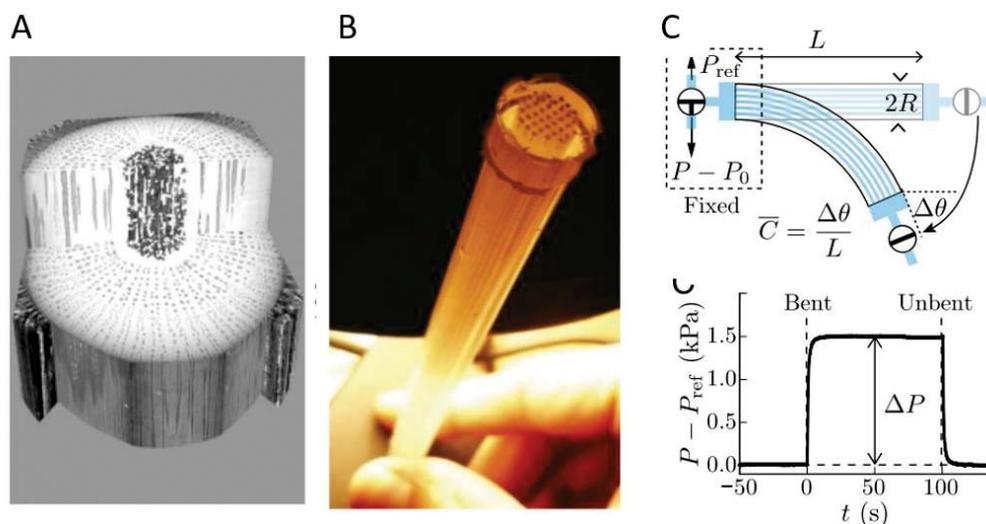


Figure 12 : Branche naturelle vs branche biomimétique et pulse hydraulique dans une branche biomimétique induit par une flexion. A : Branche de *Vitis vinifera* (vigne) vue sous rayon X par microtomographie. B : Photo d'une branche biomimétique réalisée en polydiméthylsiloxane (PDMS). C : Onde de pression en réponse à une flexion/déflexion dans une branche biomimétique en système fermé. De Louf *et al.* 2018.

Afin de tester l'universalité de ce modèle, des expériences préliminaires de flexion et de mesure de pression sont réalisées sur des inflorescences d'*Arabidopsis thaliana* (Guéna et Forterre, communication personnelle).

IV. Transfert d'information à distance de la zone sollicitée : l'hypothèse d'une signalisation électrique

Burdon-Sanderson (1872), encouragé par Charles Darwin avec lequel il partage une correspondance, est le premier à mesurer un signal électrique de type potentiel d'action (PA) chez les plantes en stimulant une feuille de Vénus attrape-mouche (*Dionaea muscipula*). Il apparaît alors que l'activité électrique n'appartient pas au seul monde animal. Le PA est par la suite observé à de multiples reprises sur d'autres espèces comme *Nitella* et *Mimosa pudica* (Sibaoka, 1953; Umrath, 1930). En 1935, Houwink découvre un autre type de signal électrique, l'onde lente (OL) suite à des brûlures infligées à *Mimosa pudica*. Des revues exhaustives sont publiées par Sibaoka en 1969 et par Barbara Pickard en 1973, indiquant que toutes les plantes pourraient utiliser les signaux électriques pour réguler une grande variété de fonctions physiologiques.

La suite de l'exposé s'articule autour de trois questions afin de faire un tour d'horizon des connaissances actuelles en électrophysiologie végétale : 1) Quels sont les mécanismes qui permettent l'édification et le maintien d'un potentiel transmembranaire, à l'échelle de la cellule, condition *sine qua none* à la génération d'un signal électrique ? 2) Quelles sont les méthodes permettant la mesure d'un signal électrique dans la plante ? 3) Quels sont les différents signaux électriques caractérisés chez les plantes et qu'induisent-ils ?

A. Le potentiel de membrane des cellules végétales au repos

Les cellules végétales présentent une distribution inégale des ions diffusibles (K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , Na^+) de part et d'autre de la membrane plasmique résultant de différents mécanismes. Cette différence de potentiel électrique est nommée potentiel de membrane ou potentiel transmembranaire. Le potentiel transmembranaire est mis en évidence en introduisant des électrodes de mesure de part et d'autre de la membrane plasmique : la face interne de la membrane est négative par rapport à l'électrode de référence placée sur la face externe de la membrane. Dans des conditions de repos, le potentiel transmembranaire est stable, il est nommé potentiel de repos et a une valeur caractéristique d'environ -160 mV pour les cellules végétales.

Parmi les différents mécanismes à l'origine de cette différence de potentiel, il est distingué ceux qui ne sont pas directement dépendant du métabolisme cellulaire (diffusion des ions à travers la membrane) et qui correspondent à la composante passive du potentiel de membrane ; et ceux dépendant du métabolisme cellulaire (pompes électrogènes, systèmes redox du plasmalemmes) et qui constituent la composante active du potentiel de repos.

1. La composante passive du potentiel de repos

La membrane plasmique présente la propriété de perméabilité sélective, qui permet de contrôler l'entrée et la sortie des différentes molécules et ions entre le milieu extracellulaire et le cytoplasme.

La composante passive, résultant de la diffusion des ions à travers la membrane, se nomme aussi potentiel de diffusion. L'état de repos est principalement déterminé par la perméabilité de la membrane au K^+ . Le potentiel de diffusion de la membrane suit alors la relation de Nernst pour des concentrations élevées en potassium extracellulaire.

$$E = \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C^+]_1}{[C^+]_2}$$

où E représente la différence de potentiel de part et d'autre de la membrane, R est la constante des gaz parfaits ($8,31 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$), T la température en K, n est la valence de l'ion, F le Faraday ($96\,485 \text{ J.V}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) et C^+ représente la concentration du cation. L'équation de Goldman permet d'obtenir une valeur plus précise du potentiel de diffusion en prenant en considération l'ensemble des ions diffusant à travers la membrane.

$$ED = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_e + P_{Na}[Na^+]_e + P_H[H^+]_e + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_H[H^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_e}$$

Où P représente le coefficient de perméabilité de l'ion indiqué en indice et $[K^+]$, $[Na^+]$, $[H^+]$, et $[Cl^-]$ les concentrations respectives du K^+ , Na^+ , des H^+ et du Cl^- , dans le milieu extracellulaire (indice e) et intracellulaire (indice i).

Le potentiel de diffusion ne rend pas compte à lui seul de la différence de potentiel membranaire, en 1965, Slayman met en évidence la composante active du potentiel transmembranaire.

2. La composante active du potentiel de repos

Ce sont les travaux de Slayman (1965) qui mettent en évidence la présence d'une pompe à H^+ à activité électrogène située dans la membrane plasmique. Par la suite, Spanwick (1981) confirme l'existence d'une pompe à H^+ électrogène chez *Nitella*. Puis Marré et Ballarin-Denti (1985) montrent que l'utilisation de la fusicoccine, un activateur de la pompe à H^+ (Marre, 1979), entraîne une hyperpolarisation de la membrane plasmique. Ces résultats seront par la suite confirmés chez *Egeria densa* (Dahse *et al.*, 1988) et sur la racine de moutarde blanche (Felle, 1987). Enfin, le rôle de l'activité H^+ -ATPase dans le maintien du potentiel transmembranaire semble maintenant communément admis (Kurkdjian et Guern, 1989).

En plus de la pompe à H^+ , un système rédox transmembranaire évacuant des protons hors de la cellule en utilisant du NAD(P)H, a été décrit. Cependant, ce système contribue très modestement à la polarisation de la membrane.

Ainsi, l'activité de la pompe H^+ -ATPase de la membrane plasmique peut être considérée comme la composante active du potentiel de repos.

B. Mesures électrophysiologiques chez les plantes

Deux types de méthodes peuvent être distingués afin de mesurer un signal électrique dans la plante : les méthodes de mesures intracellulaires et les méthodes de mesures extracellulaires. Ces différentes méthodes ont en commun l'utilisation d'une cage de Faraday et d'un amplificateur adaptateur d'impédance.

1. Mesure intracellulaire

La mesure de potentiel de membrane et de signal électrique peut être réalisée par l'utilisation de microélectrodes en verre de diamètre inférieur à 1 μm . Ces microélectrodes sont remplies d'un électrolyte, du KCl, et sont insérées avec précaution dans une cellule. L'électrode de référence, identique aux électrodes extracellulaires non invasives, est placée dans une solution saline APW (Artificial Pond Water) entourant le tissu. Une fois la microélectrode insérée dans une cellule, l'amplificateur adaptateur d'impédance signale un changement négatif du potentiel transmembranaire correspondant au potentiel transmembranaire de repos de la cellule.

Une approche alternative tire avantage des pucerons qui insèrent leurs stylets dans les tissus végétaux jusqu'à atteindre un élément du phloème. Elle consiste ensuite à couper le stylet du puceron et y à connecter une microélectrode de verre. Plusieurs difficultés peuvent être rencontrées i) le découpage du puceron peut blesser la plante et déclencher des réponses de défenses non désirées, ii) de faibles vibrations peuvent suffire à séparer le stylet de la microélectrode de verre (Fromm et Lautner, 2007; Salvador-Recatalà *et al.*, 2014).

2. Mesures extracellulaires

Deux méthodes de mesure extracellulaires peuvent être utilisées. La première est qualifiée d'invasive, elle consiste à insérer des électrodes fines et métalliques (un fil électrique de cuivre d'un diamètre de 0,4 à 1 mm, avec une extrémité en argent pour assurer la conductance, est idéal) dans une tige ou une nervure de feuille causant une blessure locale. L'électrode insérée ainsi se trouve en contact avec un grand nombre de cellules. La seconde méthode extracellulaire a l'avantage d'être non invasive. Elle consiste à connecter des électrodes, dont l'extrémité en

argent est en contact avec un mince tube de verre contenant un gel d'agar au KCl, à la surface de la plante au moyen d'un gel conducteur aqueux ou bien une simple goutte d'eau.

Dans les deux cas, une électrode de référence est placée dans une région distale de la plante ou dans le sol. Lorsque le signal fourni par les électrodes est stabilisé (cela peut prendre 12 heures), la plante peut être stimulée.

Frachisse et Julien (1993) ont montré que dans leur dispositif expérimental, les profils électriques obtenus chez *Bidens pilosa* par les méthodes de mesure intracellulaire et extracellulaire sont quantitativement comparables.

C. Signaux électriques chez les plantes

Plusieurs signaux électriques sont décrits dans la littérature chez les plantes : les potentiels électriques locaux (LEP), le potentiel d'action (PA), l'onde lente (OL).

1. Les potentiels électriques locaux (LEP)

Les potentiels électriques locaux correspondent à une dépolarisation rapide qui ne se propage pas. Ainsi Marhavý *et al.*, 2019 montrent que l'ablation d'une cellule unique de la racine provoque une dépolarisation locale (Figure 13), d'une propagation inférieure à 1 cm, qui est associée avec la signalisation de l'éthylène. Cette dépolarisation pourrait simplement être le résultat de la destruction de la cellule et du relargage de son contenu cellulaire dans l'apoplasme (Farmer *et al.*, 2020). Cependant, les LEP semblent dépendants de l'activité des protéines NADPH oxydase de type RBOH. En effet, la dépolarisation du LEP est réduite chez des mutants *rbohD* et *rbohF* (Marhavý *et al.*, 2019).

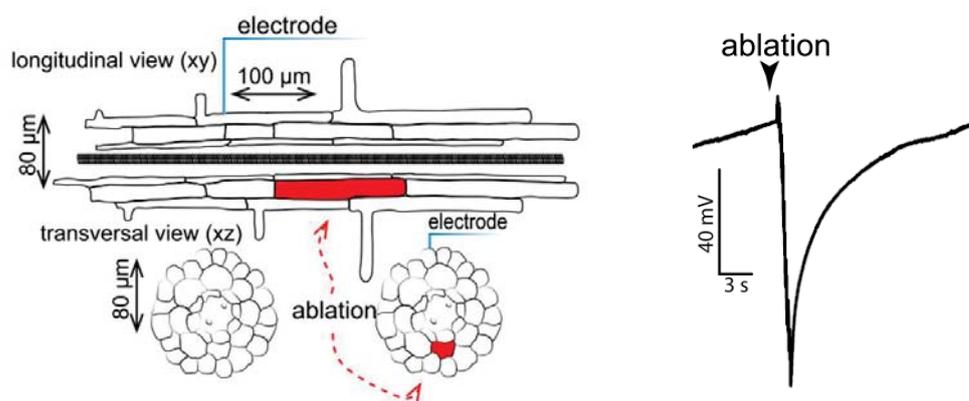


Figure 13 : Dispositif expérimental de Marhavý *et al.*, (2019) pour l'ablation d'une cellule de la racine et l'enregistrement électrophysiologique d'un LEP. En rouge est représentée la cellule du cortex détruite au laser. Les mesures électrophysiologiques sont réalisées avec des électrodes de surface. L'ablation de la cellule induit une dépolarisation de 79 mV en moyenne, et n'est plus détectable à 400 µm. De Marhavý *et al.*, 2019.

2. Le potentiel d'action (PA)

Dans la littérature le potentiel d'action (PA) correspond, à l'échelle de la cellule, à une dépolarisation rapide et transitoire de la membrane plasmique (Figure 14) présentant le principe de tout-ou-rien (Figure 15), se propageant avec une vitesse cellule-spécifique et sans décrement (Houwink 1935, Zawadzki *et al.* 1991, Krol *et al.* 2010). L'amplitude du PA spécifique aux cellules ne peut ainsi pas être augmentée par une augmentation de la force du stimulus (Krol *et al.*, 2010).

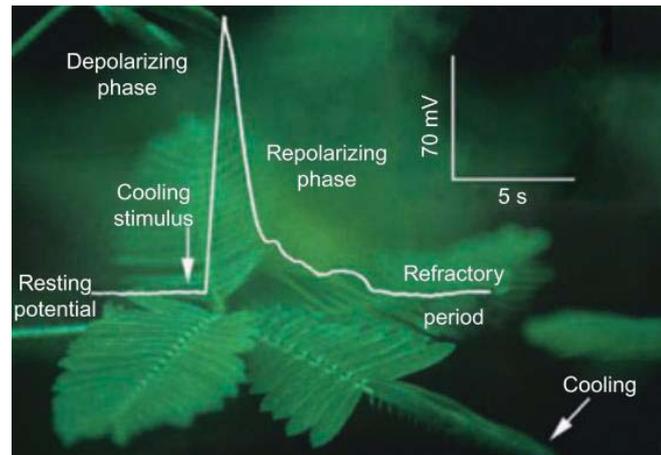


Figure 14 : Exemple d'enregistrement de PA mesuré sur *Mimosa pudica*. De Fromm et Lautner 2007.

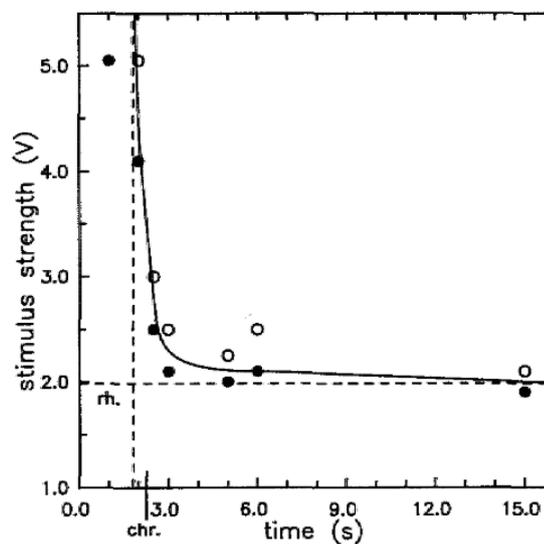


Figure 15 : La relation intensité (mV) / durée (s) du stimulus (stimulation électrique) illustrant la loi du tout-ou-rien chez *Helianthus annuus*. Les cercles remplis correspondent aux paramètres pour lesquels le stimulus n'induit pas de potentiel d'action, les cercles vides correspondent aux paramètres pour lesquels le stimulus induit un potentiel d'action. Rh., Rheobase ; chr., chronaxie. D'après Zawadzki *et al.*, 1991.

Il est induit suite à divers stimuli tels qu'un changement de pression de turgescence (Wendler *et al.*, 1983; Zimmermann et Beckers, 1978), un changement de lumière, un traitement au froid, à la brûlure, suite à une blessure (Zawadzki *et al.*, 1991 ; Stahlberg et Cosgrove 1994).

Le PA peut se caractériser par sa période réfractaire (PR) qui correspond à une durée durant laquelle tout nouveau stimulus ne provoque soit aucune réponse (PR absolue), soit une réponse diminuée (PR relative). Les mécanismes mis en marche, à l'échelle cellulaire, durant la genèse d'un PA impliquent en théorie une modification de l'activité de canaux ioniques (non clairement identifiés) laissant passer du Ca^{2+} (influx) et du Cl^- (efflux) lors de la phase de dépolarisation, suivie par l'ouverture de canaux K^+ (efflux) durant la phase de repolarisation (soit une modification de la composante passive du potentiel transmembranaire de repos) (Lunevsky *et al.*, 1983; Zimmermann et Beckers, 1978). Récemment, les travaux de Cuin *et al.*, (2018) montrent qu'un mutant *gorK* (canal K^+ efflux-rectifiant) présente une amplitude plus importante que le WT, avec une vitesse de dépolarisation plus importante. De plus, ils montrent qu'un mutant *akt2* (canal K^+ influx-rectifiant) présente une excitabilité réduite, c'est-à-dire qu'une plus faible proportion de plantes répond par un PA suite à l'application d'une tension (Cuin *et al.*, 2018).

Le mode de propagation du PA est supposé de nature électrotonique. Le signal se propage *via* le phloème qui partage des propriétés communes avec les cellules nerveuses animales, à savoir l'existence de membranes excitables par lesquelles les excitations électriques peuvent se transmettre d'une cellule à l'autre par l'intermédiaire de plasmodesmes, des pores reliant le cytoplasme d'une cellule à celui de sa voisine. La vitesse de propagation est comprise entre $0,1 \text{ cm.s}^{-1}$ chez *Helianthus annuus* et *Arabidopsis thaliana* suite à l'application d'une tension de quelques volts (Barbara Gillespie Pickard, 1971 ; Favre et Agosti, 2007) à 50, voir 200 mm.s^{-1} sur des jeunes feuilles de *Mimosa pudica* après un simple toucher (Tabata et Sibaoka, 1987 ; Fromm et Bauer, 1994).

3. L'onde lente

Une onde lente peut se décrire en trois étapes : une phase de dépolarisation rapide, suivie d'une phase plateau où le potentiel transmembranaire stagne (courte), et une phase de repolarisation durant 1 à 45 minutes (Julien, 1993). Une étude récente montre que 56% des OL mesurées chez *Arabidopsis* présentent d'abord une légère hyperpolarisation avant la dépolarisation rapide (Shao *et al.*, 2020). Une onde lente est induite suite à différents types de stimuli tels qu'une élévation de la pression de turgescence après un signal hydraulique positif (Malone et Stankovic, 1991; Rainer Stahlberg et Cosgrove, 1996), la mise en contact d'une tige

coupée avec une extraction de tissus lésés (Sambeek et Pickard, 1976), ou bien à la suite de blessures (Figure 16) (Houwink 1935 ; Van Sambeek *et al.* 1976). Roblin (1985) montre chez *Vicia faba* que l'amplitude de l'OL est proportionnelle à la surface des feuilles endommagées par brûlure.

L'OL, après un 1^{er} stimulus, présente une période réfractaire durant laquelle un second stimulus identique au 1^{er} ne déclenche aucune réponse. Cette période est de 2 heures en moyenne chez *Bidens pilosa* (Julien, 1993) et peut être de plusieurs heures chez la tomate (Van Sambeek et Pickard 1976a, 1976b). Le sens de propagation de l'OL, lié au flux transpiratoire, est préférentiellement acropète (Houwink, 1935 ; Sambeek et Pickard, 1976). La vitesse de propagation de l'OL est comprise entre 0,1 et 10 mm.s⁻¹ (Sibaoka 1953 ; Roblin et Bonnemain 1985). De plus, la vitesse et l'amplitude de l'onde lente semblent diminuer plus le site de stimulation est éloigné (Stanković et Davies, 1997).

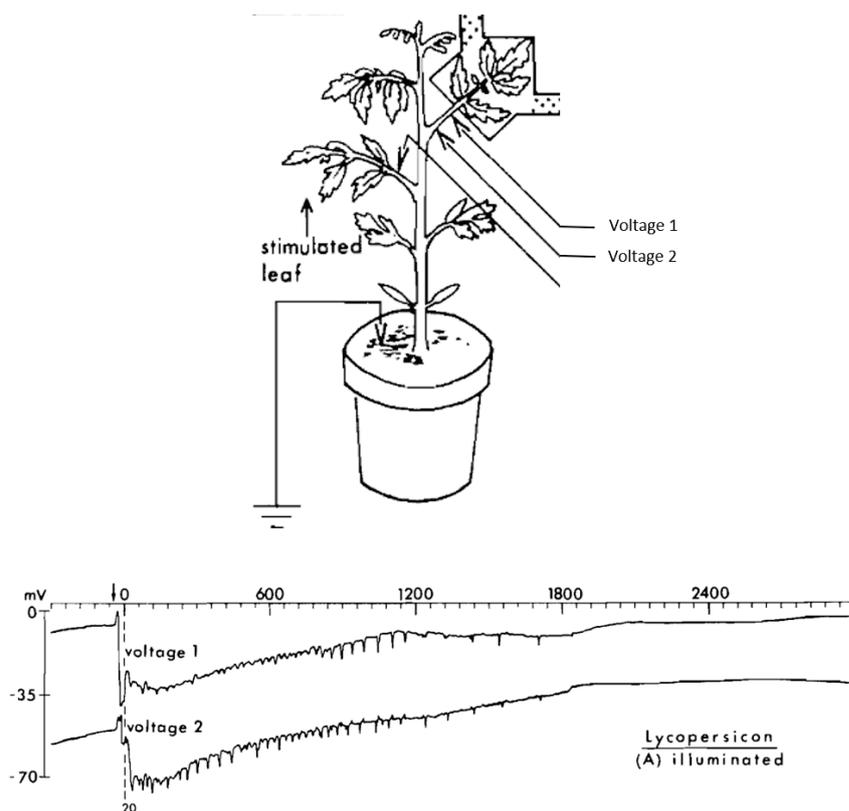


Figure 16 : Exemple d'enregistrement d'onde lente suite à une stimulation lésante d'une feuille de tomate (*Lycopersicon esculentum*). D'après Sambeek et Pickard, 1976.

Aucun consensus n'existe en revanche quant au mode de propagation de l'OL. Stahlberg et Cosgrove (1997) rejette une propagation de type électrotonique. Deux hypothèses demeurent : celle d'une propagation de type chimique (Ricca 1916, Sambeek et Pickard 1976, Cheeseman

et Pickard 1977), et celle d'une propagation de type hydraulique, proposée par Julien (1993) puis complétée plus récemment par Farmer (2014) sous le nom de « Squeeze Cell Hypothesis » (Figure 17). Cette hypothèse propose que le changement de tension dans le xylème suite à une blessure (Malone *et al.*, 1994) activerait des canaux mécanosensibles (Monshausen *et al.*, 2009). Les canaux mécanosensibles sont des protéines insérées dans une membrane, formant un pore perméable à certains ions, capable de s'ouvrir en réponse à une déformation de la membrane. L'ouverture de ces canaux initierait une onde de dépolarisation de type onde lente dont dépend l'activation de la voie des jasmonates (Mousavi *et al.*, 2013) observée au niveau des cellules associées au vaisseaux du xylème (Chauvin *et al.*, 2013).

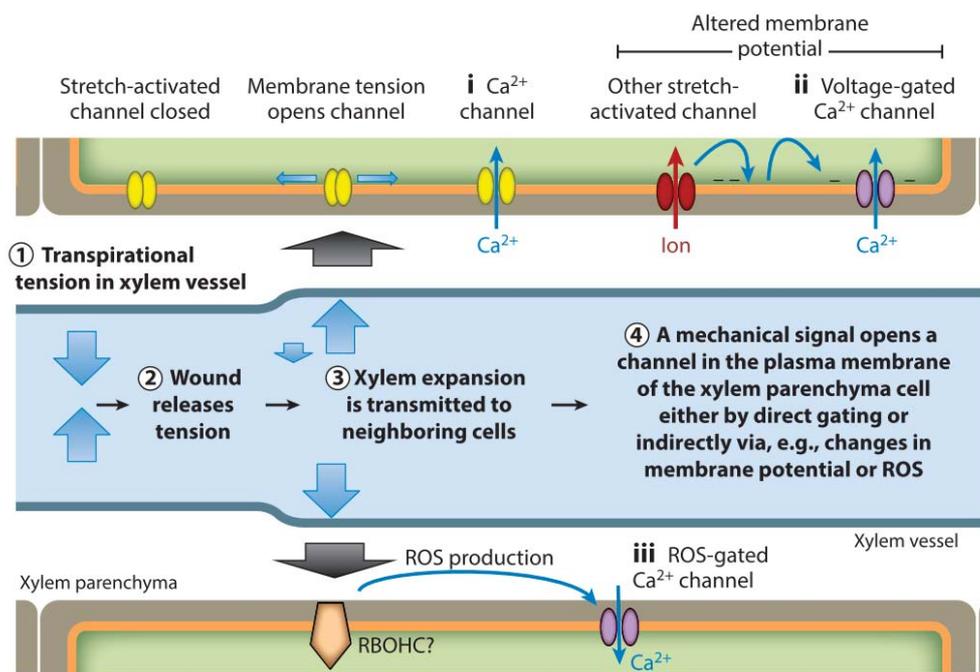


Figure 17 : La « Squeeze Cell Hypothesis » de Farmer *et al.* (2014) adaptée par Choi *et al.* (2016). Une stimulation lésante générerait un relâchement de tension dans le xylème qui se propagerait rapidement. Ce changement de pression déclencherait l'ouverture directe ou indirecte de canaux ioniques mécanosensibles des cellules de parenchyme du xylème, provoquant une entrée de Ca²⁺ dans leur cytosol (initiant l'onde lente), ainsi qu'une éventuelle production d'espèces activées de l'oxygènes (ROS), premières étapes d'une réponse à l'échelle cellulaire.

Contrairement au PA, les mécanismes moléculaires impliqués dans la genèse d'une OL ont commencé à se dévoiler ces dernières années.

Les pompes à protons

A partir de leurs travaux sur *Bidens pilosa*, Julien et Frachisse (1992) proposent que l'onde lente est principalement due à un arrêt transitoire de la pompe à protons. Cet arrêt des pompes à protons pourrait expliquer la phase de dépolarisation, et la reprise progressive de l'activité des pompes pourrait expliquer la lente phase de repolarisation. Plus récemment, une

étude sur *Arabidopsis thaliana* montre que la fusicoccine (activateur de pompes H⁺) réduit la durée de l'onde lente (Kumari *et al.*, 2019). Les auteurs ont cherché à identifier de manière plus précise quelles étaient les pompes à protons impliquées dans le mécanisme de l'onde lente. Les gènes *AHA1* et *AHA2* codant pour les pompes H⁺-ATPases sont sélectionnés, parmi les 11 isoformes présentes chez *Arabidopsis* (Axelsen et Palmgren, 2001), pour leur très forte expression durant le cycle de vie de la plante. L'étude porte sur des simples mutants *aha1* et *aha2*, les doubles mutants *aha1-aha2* n'étant pas viables (embryo-léthal). La pompe *AHA1* se révèle être un régulateur de l'onde lente. En effet, la durée de la phase de repolarisation est fortement étendue chez un mutant *aha1*. Aucune modification de l'onde lente n'est observée chez le mutant *aha2*. En plus d'affecter la signalisation électrique, l'expression du gène marqueur de la voie des jasmonates, *JAZ10*, dans les feuilles distales des blessures était accrue chez le mutant *aha1* (Kumari *et al.*, 2019), corrélant la durée de la dépolarisation à l'intensité de la réponse moléculaire.

Les Glutamates Receptor-like (GLRs)

En réponse à la blessure d'une feuille de la rosette d'*Arabidopsis*, une OL se propage dans les feuilles voisines et induit une réponse des jasmonates (Mousavi *et al.*, 2013). Les auteurs montrent le rôle crucial de plusieurs canaux GLR du clade 3 : les GLR3.1, 3.2, 3.3 et 3.6 dans la propagation de l'OL à distance de la zone sollicitée. Ainsi chez le double mutant d'*Arabidopsis glr3.3-3.6*, l'OL est mesurée avec des électrodes de surfaces sur la feuille blessée mais, au contraire du WT, n'est pas retrouvée sur les feuilles proches. En parallèle, la voie de signalisation des jasmonates est activée au niveau de la feuille stimulée et cette activation n'est pas mesurée à distance chez le double mutant. Il a été récemment montré que les canaux GLR 3.3 et 3.6 étaient localisés dans le tissu vasculaire des feuilles d'*Arabidopsis thaliana*. Le canal GLR3.3 est localisé dans la membrane vacuolaire des cellules compagnes du phloème, et le canal GLR3.6 est localisé dans la membrane du réticulum endoplasmique des cellules de contacts (appelées aussi cellules associées aux vaisseaux) du xylème (Nguyen *et al.*, 2018, Toyota *et al.*, 2018).

Jusque récemment, ces canaux GLR étaient décrits comme dépendant de la liaison à du glutamate pour déclencher leur activation. Plus récemment, les canaux GLR3.2, 3.3 et 3.6 ont fait l'objet d'analyses électrophysiologiques par patch-clamp (Wudick *et al.*, 2018 ; Shao *et al.*, 2020). Wudick *et al.*, montrent que les GLRs interagissent avec des paires de protéines CORNICHON HOMOLOGUE (CNIH) produisant des localisations subcellulaires spécifiques des protéines GLRs. Chez les animaux, ces protéines CNIHs sont essentielles pour le tri et le trafic des protéines du réticulum endoplasmique (RE). Ces études révèlent un mécanisme de

régulation qui sous-tend l'activation des AtGLRs par les AtCNIHs chez *Arabidopsis thaliana*. Les expériences de patch-clamp ont été réalisées sur des cellules COS-7 exprimant un AtGLR3.3 ou 3.2 avec une ou plusieurs protéines CNIHs. Elles mettent en évidence, en absence de ligand, un large courant dû à une perméabilité au Na⁺ et au Ca²⁺ (sans préférence). Les travaux menés par Shao *et al.*, 2020 amènent à des conclusions différentes et complémentaires. Ils montrent que les GLR3.3 et 3.6 sont sensibles au pH, et ne semblent pas s'activer à un pH acide, à l'instar des NMDARs (N-méthyl-D-aspartate receptors appartenant à la grande famille des iGluRs chez les animaux). Ils sont perméables aux cations avec une préférence pour le Ba²⁺ et le Ca²⁺. Ils s'activent en réponse à une forte concentration de glutamate (50 et 100 mM), ce qui correspond à la concentration minimale avec laquelle les auteurs génèrent une OL (sans blessure).

Le rôle exact des canaux GLR dans le déclenchement et la propagation de l'onde lente n'est pas encore clairement compris et des interrogations subsistent. Ainsi, chez le mutant *Atglr3.5*, l'OL est observée sur un nombre de feuilles plus important que chez le WT, sur des feuilles qui ne partagent, à priori pas de connexion vasculaire avec la feuille blessée (Salvador-Recatalà, 2016). Le canal GLR3.5 aurait une fonction de restriction de propagation de l'information.

NADPH oxydases – ROS et onde lente

Certains auteurs proposent que l'accumulation de ROS à l'extérieur de la membrane plasmique, durant la progression de la vague de ROS induite par une blessure, pourrait causer la dépolarisation de la membrane, et générer et permettre la propagation d'un signal électrique (Mittler *et al.*, 2011; Suzuki *et al.*, 2013). Ainsi, Suzuki *et al.* (2013) montrent que chez le mutant *AtrbohD*, l'amplitude de l'OL est fortement réduite par rapport au WT suite à un stress thermique ou à une forte intensité lumineuse. Cependant, dans le cas d'une blessure, des résultats différents ont été présentés pour le mutant *AtrbohD* (Mousavi *et al.*, 2013, données supplémentaires) pour lequel la transmission de l'OL entre les feuilles d'*Arabidopsis* n'est pas impactée (Farmer *et al.*, 2020). Par ailleurs, le mutant *Atrboh/f* ne présenterait pas un phénotype OL différent du WT en réponse à une blessure (Moe-Lange *et al.*, 2021, données supplémentaires).

MSL – Mechanosensitive channel of small conductance-Like

Il y a quelques mois, 19 chercheurs ont pu mettre en évidence l'implication essentielle du canal anionique mécanosensible MSL10 dans le mécanisme de l'OL (Moe-Lange *et al.*, 2021). Chez un mutant *Atmsl10*, l'amplitude et la durée de l'OL générée par une blessure présentent une forte réduction. De plus, l'expression du marqueur *JAZ10* est réduite à distance de la feuille

blessée. Les auteurs proposent qu'à distance du site de blessure, un signal mécanique déclencherait un efflux d'anion *via* l'activation du canal MSL10. La dépolarisation de la membrane qui en résulterait favoriserait la complète activation des GLR3.3 et 3.6 et par ces-derniers l'entrée de calcium dans le cytosol (Moe-Lange *et al.*, 2021).

La synthèse des éléments impliqués et attendus dans le mécanisme de l'OL est présentée dans la Figure 18.

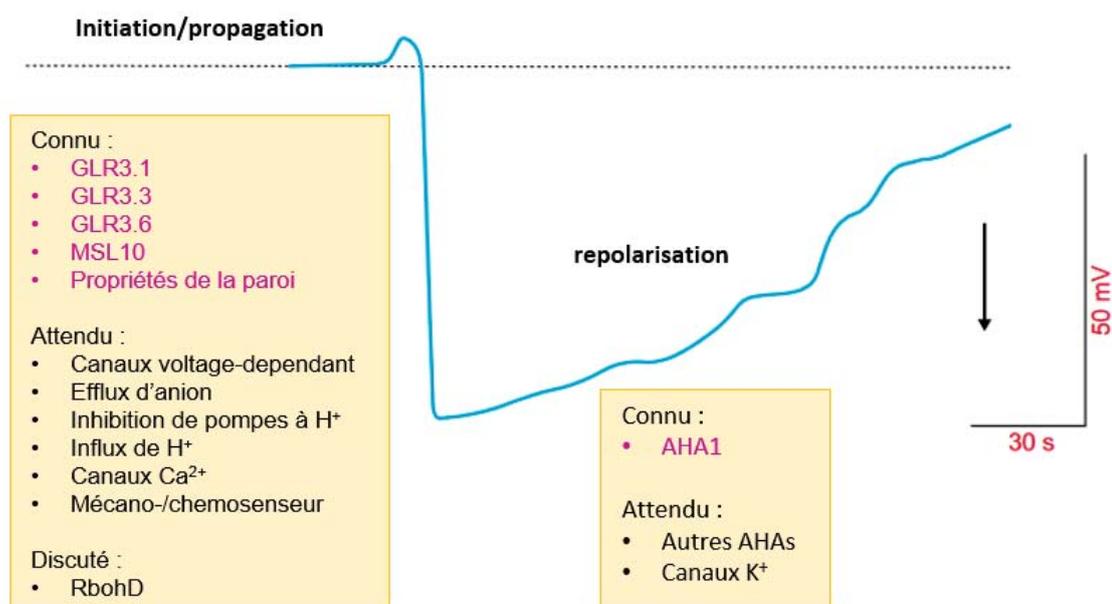


Figure 18 : Gènes connus ou prédits pour contrôler l'onde lente induite par la blessure. Les composants indiqués en rose ont été vérifiés par une approche génétique chez *Arabidopsis thaliana*. D'après les travaux de Mousavi *et al.*, (2013), Suzuki *et al.*, (2013), Nguyen *et al.*, (2018), Kumari *et al.*, (2019) et Moe-Lange *et al.*, (2021). La ligne en pointillés représente le potentiel de repos, avant stimulation. La flèche noire indique le sens de dépolarisation. Notons que la base génétique de l'hyperpolarisation qui précède la large dépolarisation n'est pas certaine. Si c'est le cas, elle pourrait dépendre de l'activation de la pompe à protons. Figure adaptée de Farmer *et al.*, (2020).

4. Le « système potentiel »

Le système potentiel (SP) correspond à une hyperpolarisation transitoire se propageant à 0.05 à 0.2 cm.s⁻¹, soit l'ordre de vitesse d'une OL, en réponse à l'ajout d'ions Ca²⁺ ou K⁺, ou de glutamate sur feuille coupée. Ce signal a été mis en évidence par Zimmerman (M. R. Zimmermann *et al.*, 2009, 2016) chez plusieurs espèces (*Hordeum vulgare*, *Nicotiana tabacum*, *V. faba*). Le SP, comme l'OL, présente une amplitude et une durée qui dépendent de la sollicitation. L'hyperpolarisation de la membrane s'expliquerait par une sur-activation des pompes à H⁺ (Zimmerman *et al.*, 2016).

V. D'autres acteurs moléculaires impliqués dans les mouvements d'ions

Comme cela a été vu dans le cas de l'OL, et dans une moindre mesure dans celui du PA, les signaux électriques chez les plantes sont générés principalement par la modification du potentiel transmembranaire causée par des changements du gradient électrochimique établi de part et d'autre de la membrane plasmique des cellules. Ce sont les ions Ca^{2+} , Cl^- , H^+ et K^+ qui semblent majoritairement affecter les caractéristiques de chaque signal électrique. Le mouvement de ces ions à travers la membrane plasmique est permis principalement par des canaux ioniques, des pompes à protons et des transporteurs. Comme les travaux de ces dernières années sur l'OL le montrent, l'identification de ces canaux est cruciale pour comprendre les mécanismes de génération et de propagation des signaux électriques, mais aussi pour faciliter l'étude de leur rôle physiologique (Mousavi *et al.*, 2013, Kumari *et al.*, 2019 ; Moe-Lange *et al.*, 2021). Ainsi dans cette partie seront présentés les différents gènes codant pour des canaux ioniques et des pompes, identifiés chez *Arabidopsis thaliana* et chez *Populus trichocarpa*.

A. Le Calcium

Comme cité précédemment, dans le cas d'une blessure, l'initiation de la dépolarisation du PA comme de l'OL est associée à augmentation de $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$, mais aussi éventuellement à une sortie de Cl^- de la cellule (Moe-Lange *et al.*, 2021). L'augmentation intracellulaire de calcium est également une composante importante des voies de signalisation déclenchées par des sollicitations mécaniques non lésantes telles que le toucher, la flexion et le vent (Knight *et al.*, 1992; Monshausen *et al.*, 2009) et pourrait donc également être à l'origine de la génération de signaux électriques pouvant se propager à distance. Grâce à l'analyse des génomes de nombreuses plantes, plusieurs types de canaux ioniques perméables au Ca^{2+} ont été identifiés autres que les canaux GLR : les canaux CNGCs et TPC1, mais aussi des canaux mécanosensibles (OSCA, Piezo et MCA). Bien que non étudiés dans le cadre d'une propagation d'un signal électrique à longue distance à ce jour, ils pourraient participer à la génération de ces différents types de signaux électriques.

1. Les canaux cationiques ligand-récepteurs

Les canaux cycliques nucleotide-gated (CNGCs)

Les CNGCs sont des canaux perméables aux cations présents chez les plantes et chez les animaux. Les CNGCs présentent 6 domaines transmembranaires, ainsi qu'un site CNBD (pour cyclic nucleotide binding domain) de liaison aux nucléotides cycliques (Figure 19). Il est présumé que les CNGCs soient activés suite à la fixation de GMPc et de guanosine 5'-

triphosphate (GTP). Vingt gènes divisés en 4 clades codant pour des CNGCs sont identifiés chez *Arabidopsis thaliana*, et seulement 12 chez *Populus trichocarpa* (Ward *et al.*, 2009).

La présence du domaine Isoleucine-glutamine (IQ) sur certains CNGCs pourrait jouer le rôle de site de liaison pour la calmoduline (Fischer *et al.*, 2017). Gao *et al.* (2012) montrent par des techniques électrophysiologiques de patch-clamp que le canal calcique AtCNGC6 s'activerait en réponse à la chaleur.

Pan *et al.*, (2019) rapportent un fonctionnement d'auto-inactivation par le calcium similaire à ce qui aurait été observé chez les CNGCs animaux. En effet, ils montrent que les canaux CNGC18, 8 et 7 présents dans le tube pollinique d'*Arabidopsis thaliana* constituent avec la Calmoduline 2, un commutateur moléculaire qui ouvre ou ferme le canal calcique en fonction du niveau du calcium cellulaire. L'interaction de la calmoduline 2 avec le complexe CNGC18 et 8 est possible lorsque le taux de calcium est faible, ce qui ouvre le canal et entraîne l'augmentation du $[Ca^{2+}]_{\text{cyt}}$. La liaison du calcium avec la calmoduline 2 entraîne la dissociation de cette dernière avec le complexe CNGC et la fermeture de celui-ci, initiant une baisse de la concentration en calcium. Ainsi ce complexe CNGC régulé par le calcium et une calmoduline constitue une boucle de rétroaction autorégulatrice.

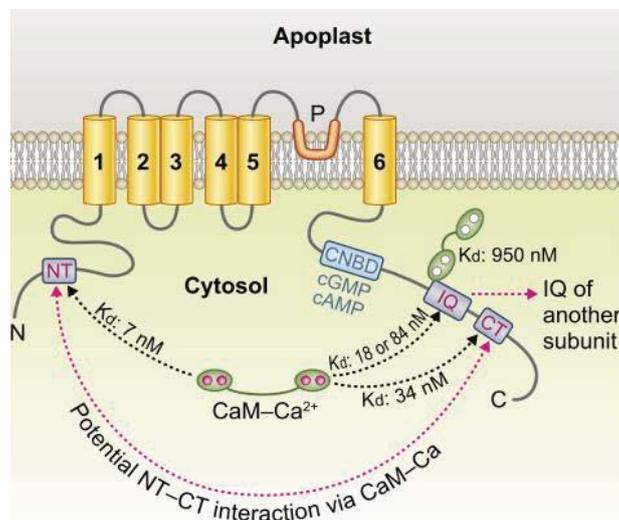


Figure 19 : Schéma de la topologie membranaire d'un canal CNGC (Cyclic nucleotide gated channel). Le canal est composé de 6 domaines transmembranaires. D'après Demidchik *et al.*, (2018).

Meena *et al.*, (2019) montrent l'implication d'AtCNGC19 dans la signalisation calcique en réponse à une blessure causée par un herbivore. Au niveau transcriptionnel, plusieurs gènes codant pour des canaux CNGCs sont régulés positivement, localement, après une blessure.

Localement, *AtCNGC19* (AT3G17690) est l'un des gènes CNGCs les plus surexprimés, et cela dès 15 minutes après la blessure, avec un pic de surexpression après 1 heure. *AtCNGC19* est aussi surexprimé à distance de la blessure, avec un pic d'expression 30 minutes après stimulation. L'utilisation du reporter GCaMP3 sur un mutant *cngc19* montre que le signal calcique est dérégulé sur la feuille blessée par rapport au WT, ne se propageant plus entièrement dans la feuille. De plus, la quantité de JA et de JA-Ile, ainsi que l'expression de gènes de la voie des JAs comme *LOX2*, présentent des niveaux réduits sur la feuille blessée du mutant *cngc1-2* comparé à celle du WT.

2. Les canaux cationiques voltage-dépendants

Le Two-pore channel

Le canal à deux pores d'*Arabidopsis thaliana* TPC1, aussi nommé 'slow vacuolar channel' (SV channel), est un canal sélectif aux cations, modulé par le Ca^{2+} et dépendant du voltage, localisé dans la membrane vacuolaire et conférant à la vacuole son excitabilité (Hedrich et Marten, 2011 ; Hedrich *et al.*, 2018). Chez *Arabidopsis* un seul gène codant pour TPC (AT4G03560) a été identifié. La séquence de la protéine possède 733 acides aminés présentant deux motifs EF-hands de liaison avec le calcium et est composée de deux fois 6 domaines transmembranaires (**Figure 20**).

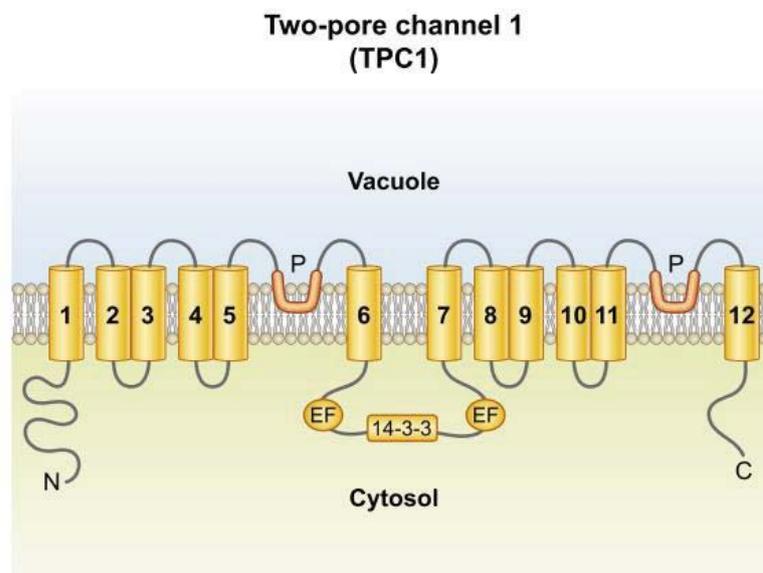


Figure 20 : Schéma de la topologie membranaire du canal TPC1 (Two pore channel 1). D'après Demidchik *et al.*, (2018)

Le mutant *Arabidopsis thaliana fatty acid oxygenation upregulated2* (*fou2* ; Bonaventure *et al.*, 2007) dans lequel la voie JA est très active révèle une version hyperactive du canal cationique vacuolaire TPC1. Comme mentionné précédemment, les travaux de Kiep *et al.*

(2015) montrent l'implication du canal TPC1 dans la signalisation calcique locale et à distance d'une feuille blessée d'*Arabidopsis thaliana*.

Canaux voltage-dépendants non-identifiés

Des expériences utilisant la technique de patch-clamp ont mis en évidence des courants calciques générés par des acteurs moléculaires dont la nature reste encore à identifier. Ainsi certains auteurs suspectent l'existence de DACCs (Depolarisation activated Ca²⁺ channels) qui s'activeraient lors d'une dépolarisation de la membrane plasmique, à un potentiel de membrane d'environ -100 à +30 mV (Demidchik et Shabala, 2018). Ils pourraient être impliqués précocement en réponse à un stress.

3. Les canaux mécanosensibles perméables au Ca²⁺

Les canaux ioniques mécanosensibles (MS) intégrés dans la bicouche représentent l'archétype du mécanocapteur capable de transposer directement et instantanément les forces membranaires en signaux électriques et calciques. Décrits dans diverses revues (Hamilton *et al.*, 2015 ; Basu et Haswell, 2017; Frachisse *et al.*, 2020 ; Hartmann *et al.*, 2021), plusieurs types de canaux MS ont été identifiés chez les plantes, notamment le canal MSL perméable aux anions et plusieurs types de familles de canaux perméables au calcium tels que MCA, Piezo et OSCA.

La famille Mid1-Complementing Activity (MCA)

La famille MCA a été décrite pour la première fois chez *Arabidopsis thaliana* (Nakagawa *et al.*, 2007). Les gènes *AtMCA1* et *AtMCA2* sont des paralogues, avec une forte homologie de séquence. L'expression du MCA est corrélée à l'influx de Ca²⁺ suite à des stimuli mécaniques tels que le choc hypo-osmotique ou l'étirement de la membrane (Nakagawa *et al.*, 2007 ; Furuichi *et al.*, 2012).

Le canal MCA serait organisé comme un homo-tétramère avec une petite région transmembranaire formant le pore (avec un seul domaine transmembranaire par monomère Figure 21) et une plus grande région cytoplasmique de motifs (un motif de type main EF, un motif de bobine enroulée et une région riche en cystéine homologue au motif PLAC8 ou DUF614 près de l'extrémité carboxyle) régulant le pore (Nakano *et al.*, 2011; Shigematsu *et al.*, 2014 ; Kamano *et al.*, 2015). Alors que le domaine PLAC8 est observé dans les protéines eucaryotes, sa combinaison avec le domaine transmembranaire et le motif ED hand-like est spécifique aux streptophytes, et absent des chlorophytes : MCA semble être spécifique aux plantes terrestres (Nishii *et al.*, 2021).

Mid1-complementing activity channels (MCA)

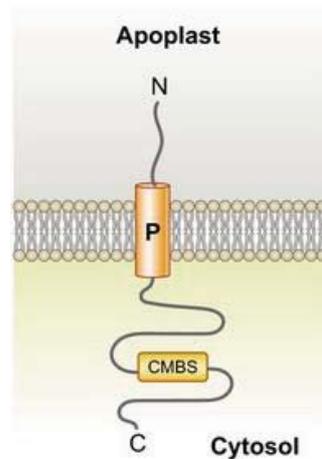


Figure 21 : Représentation de la topologie membranaire des canaux MCAs (Mid1-complementing activity channels). D'après Demidchik *et al.*, (2018).

In vivo, AtMCA2 semble être impliqué dans l'absorption du Ca^{2+} dans les racines d'*Arabidopsis thaliana* (Yamanaka *et al.*, 2010). Il serait également crucial dans le processus de pénétration des racines dans un milieu agar dur (Nakagawa *et al.*, 2007). L'hypergravité a pour effet d'inhiber la croissance de l'hypocotyle d'*Arabidopsis thaliana*. Cet effet est réduit chez un mutant *mca-null* par rapport au type sauvage, et est renforcé chez un mutant surexprimant MCA (Hattori *et al.*, 2020). Ces résultats suggèrent l'implication de AtMCA dans la perception de la gravité.

La famille Piezo

Identifiée pour la première fois chez les vertébrés, la famille des canaux mécanosensibles Piezo (Figure 22) est conservée avec des homologues chez les procaryotes, les plantes et les invertébrés (Coste *et al.*, 2010).

Piezo 1 et 2 sont de grandes structures d'environ 2500 acides aminés comprenant de nombreuses régions transmembranaires (Figure 22). Des études de cryo-microscopie électronique (cryo-EM) ont montré que Piezo1 possède une structure homotrimérique à lames arborescentes comprenant un module central de pores conducteurs d'ions (Y. R. Guo et MacKinnon, 2017; Saotome *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2018 ; L. Wang *et al.*, 2019). Chaque lame périphérique possède 38 régions transmembranaires, avec les structures en forme de lame périphérique du côté extracellulaire et trois faisceaux du côté intracellulaire.

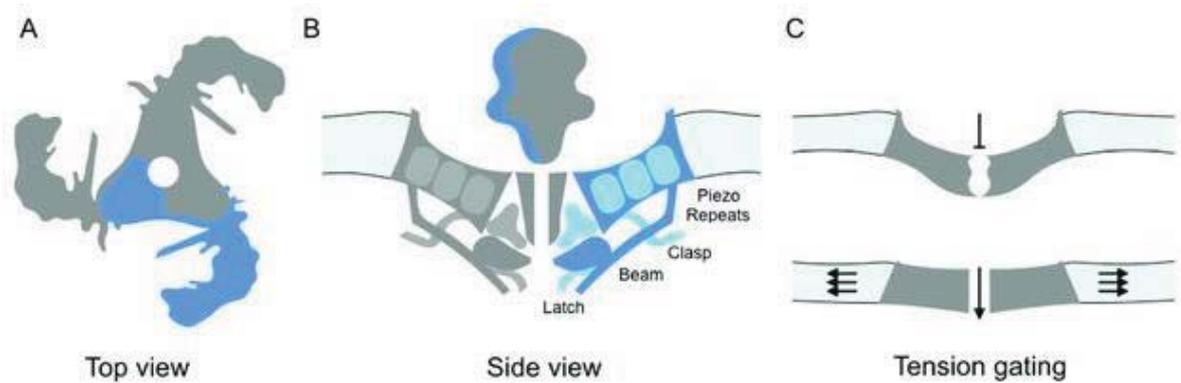


Figure 22 : Structure schématique du canal Piezo. De Jan *et al.*, 2018.

Avec ses lames distales et le pore central, le canal Piezo1 pourrait avoir un mécanisme de mécano-transduction de type levier qui pourrait expliquer comment il convertit les forces mécaniques en un influx de cations (Fang *et al.* (2021) ont proposé un modèle illustré).

Piezo 1 et 2 sont des mécanotransducteurs capables de convertir une force mécanique en une augmentation du Ca^{2+} cytosolique, renforçant ainsi diverses voies de signalisation en aval dépendantes du Ca^{2+} . Piezo1 peut être activé par une grande variété de stimulations mécaniques comme la piqûre, l'étirement ou toute tension locale de la membrane, tandis que Piezo2 semble être fortement activé uniquement par la piqûre.

Les canaux ioniques Piezo jouent des rôles clés dans les processus mécanobiologiques chez les animaux, par exemple dans le développement vasculaire ou la détection du toucher (Wu *et al.*, 2017). Chez les plantes, leur rôle est encore largement inconnu, avec seulement quatre études à ce jour. Chez *Arabidopsis thaliana*, AtPiezo est un élément clé de la réponse immunitaire au virus de la mosaïque du concombre et au virus de la mosaïque du navet (Zhang *et al.*, 2019). Par ailleurs, plusieurs travaux récents ont permis des avancées majeures sur le rôle potentiel d'AtPiezo chez *Arabidopsis* (Fang *et al.*, 2021; Mousavi *et al.*, 2021). Lorsque des plantes *atpiezo-null* mutantes sont cultivées *in vitro* dans des plaques verticales conduisant à une croissance des racines à la surface du milieu, aucune différence n'est observée par rapport aux plantes de type sauvage (Fang *et al.*, 2021). Cependant, lorsque les plantes sont cultivées dans une plaque horizontale avec 0,8% d'agar, la capacité des racines à pénétrer dans le milieu diminue d'environ 20% par rapport au WT. Des résultats similaires ont été obtenus par Mousavi *et al.* (2021), qui ont montré que lorsque les racines des plantules poussaient dans le milieu MS (Murashige et Skoog) standard, la longueur des racines mutantes était plus courte que celle des WT. Ces deux études suggèrent un rôle direct d'AtPiezo dans la mécanoperception des racines. De manière intéressante, comme cela a été détecté pour *AtMCA1* (Yamanaka *et al.*, 2010), dans ces deux études, l'utilisation d'une construction *Piezo::GUS* dans des plantes transgéniques

d'*Arabidopsis thaliana* montre que *AtPiezo* est principalement exprimé dans la coiffe racinaire. Les cellules de la coiffe racinaire étant les premières à rencontrer des obstacles, ce tissu est un site potentiel de mécanosensibilité. Chez la mousse (*Physcomitrium patens*), PpPiezo1 et 2 sont localisés dans le tonoplaste et seraient impliqués dans la régulation de la forme des vacuoles dans les cellules apicales du caulonème (Radin *et al.*, 2021).

La famille des OSCA, des canaux perméables au calcium

Les OSCA constituent la plus grande famille de canaux ioniques activés mécaniquement identifiée et conservée chez les eucaryotes, notamment chez les champignons, les animaux (canaux homologues TMEM63) et les plantes (Hou *et al.*, 2014; Murthy *et al.*, 2018). Chez *Arabidopsis thaliana* et *Populus trichocarpa*, la famille OSCA est composée de 15 et 17 gènes répartis dans quatre clades. Murthy *et al.* (2018) ont testé la mécanosensibilité des canaux à travers les clades en sélectionnant un gène de chaque clade chez *Arabidopsis thaliana*. Les résultats électrophysiologiques suggèrent que les canaux codés par les trois gènes *AtOSCA1.8*, *AtOSCA2.3* et *AtOSCA3.1* sont mécanosensibles, un trait qui ne serait pas retrouvé pour le canal *AtOSCA4.1* (Murthy *et al.*, 2018). Le clade 4 partage le moins d'homologie avec le clade 1. *AtOSCA4.1* pourrait avoir une fonction distincte.

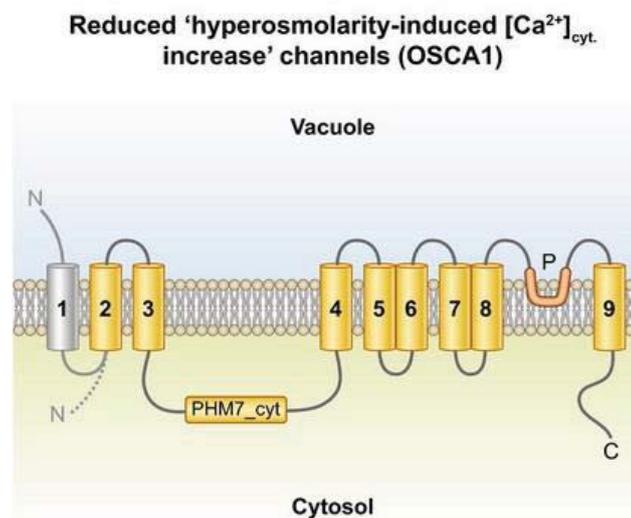


Figure 23 : Représentation de la topologie membranaire du canal OSCA1 (Reduced'hyperosmolarity-induces $[Ca^{2+}]_{cyt}$ increase' channel 1). D'après Demidchik *et al.*, (2018).

Des études cryo-EM (Figure 23) ont révélé une structure moléculaire formée par un homodimère avec deux pores (Jojoa-Cruz *et al.*, 2018; X. Liu *et al.*, 2018). Les travaux sur *AtOSCA1.1* et *AtOSCA1.2* suggèrent que les pores résultants sont perméables de manière non sélective aux cations (Murthy *et al.*, 2018). Chaque sous-unité est composée de 11 domaines transmembranaires, ainsi que d'un domaine cytosolique soluble avec un motif de

reconnaissance de l'ARN. Le domaine cytosolique présente une caractéristique structurelle distincte sous la forme de bras hélicoïdaux intracellulaires étendus parallèles à la membrane plasmique. Ces bras sont bien positionnés pour détecter un changement de la tension latérale de la feuille de bicouche lipidique interne causé par un changement de la pression de turgescence (Maity *et al.*, 2019). La topologie membranaire semble être conservée chez les eucaryotes (Murthy *et al.*, 2018).

La fonction physiologique des canaux OSCA reste mal comprise. Jusqu'à présent, les études ont impliqué les gènes OSCA dans les réponses osmotiques. Or, un choc hypo- ou hyperosmotique entraîne un étirement ou une relaxation de la membrane plasmique, et peut être considéré comme une stimulation mécanique. AtOSCA1 est le médiateur de la signalisation osmotique dans les cellules de garde et les cellules des racines, et atténue la transpiration de l'eau au niveau des feuilles, et la croissance des racines en réponse au stress osmotique (Yuan *et al.*, 2014). AtOSCA1.3 contrôle l'immunité stomatique des plantes (Thor *et al.*, 2020). Des mutants Arabidopsis porteur du gène *ZmOSCA2.4* présentent une meilleure tolérance à la sécheresse que des plantes témoins (Cao *et al.*, 2020). Récemment, une étude RNA seq de Procko *et al.* (2021) a suggéré une implication des canaux mécanosensibles MSL et OSCA dans le déclenchement de la fermeture des feuilles de la Venus Attrape-Mouche. Il serait intéressant de voir si les canaux OSCA ont un rôle dans d'autres processus mécaniques.

La diversité des canaux mécanosensibles perméables au calcium présents dans les plantes pourrait expliquer ce qui rend spécifique le modèle de signalisation du $[Ca^{2+}]_{cyt}$ induit par le toucher (empreinte du Ca^{2+} , conduisant finalement à une réponse physiologique spécifique et graduelle). Comme l'explique très bien J.M Frachisse dans sa revue (Frachisse *et al.* 2020), la caractérisation détaillée des propriétés électrophysiologiques de ces différents canaux montre qu'ils diffèrent dans leurs propriétés de perméation et d'ouverture. Ils peuvent donc déclencher des voies de signalisation distinctes et potentiellement être activés de manière différente en fonction de l'intensité de la contrainte mécanique.

4. Les Pompes et échangeurs

Les pompes Ca^{2+} -ATPases

Les pompes Ca^{2+} -ATPases appartiennent à la super famille des P-type ATPases, et sont divisées en deux sous familles celles du type IIA et celles du type IIB. Les pompes de type IIA ou ECA sont responsables du transfert du Ca^{2+} cytosolique vers la lumière du réticulum endoplasmique (RE). Les pompes de type IIB ou ACA sont responsables du transfert du Ca^{2+} du cytoplasme vers l'extérieur de la cellule ou vers des compartiments internes, en effet leur

localisation subcellulaire concerne la membrane plasmique, chloroplastique, tonoplastique et celle du RE (Bossi *et al.*, 2020).

La spécificité des réponses aux signaux calciques déclenchés par divers changements environnementaux dépend de l'amplitude, de la fréquence et de la localisation du pic transitoire de concentration en calcium cytosolique. Il est proposé dans la littérature que les transporteurs actifs de Ca^{2+} (antiporteur $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ et Ca^{2+} -ATPases) pourraient jouer un rôle crucial dans la définition de la forme spatiale et temporelle de la vague calcique dans le cytosol et donc dans l'élicitation de la réponse spécifique de la plante au stimulus (Bose *et al.*, 2011). L'une des différences majeures entre les ECAs et les ACAs est leur affinité pour le Ca^{2+} qui est de l'ordre du micromolaire pour les ACAs et l'ordre de quelques micromolaires pour les ECAs (Bossi *et al.*, 2020). Les ECAs sont aussi moins sélectifs que les ACAs, ils sont notamment perméables aux Cd^{2+} , Mn^{2+} et Zn^{2+} . Ces différences pourraient poser les ACAs en meilleurs candidats de régulateurs de la vague calcique.

Les échangeurs antiports de Ca^{2+} (CAXs)

En plus des pompes Ca^{2+} -ATPases, un second mécanisme présent dans la cellule est susceptible de contribuer à moduler la forme du signal $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$, ce sont les échangeurs antiport de Ca^{2+} (CAXs). Les premiers associent une forte affinité au Ca^{2+} et une capacité de transport faible quand les seconds présentent une affinité plus faible mais une plus forte capacité de transport. Les CAXs sont localisés sur les membranes plasmique et tonoplastique, éventuellement mitochondriale. Chez *Arabidopsis*, six gènes *CAX* (*AtCAX1* à *AtCAX6*) qui codent pour des échangeurs $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ et cinq CCX (échangeurs cation/ Ca^{2+} , précédemment décrits comme *AtCAX7* à *AtCAX11*) qui codent pour des échangeurs $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ dépendants du K^+ , ont été identifiés à ce jour (Bose *et al.*, 2011).

5. Les annexines

Les annexines sont présentes dans les organismes eucaryotes et forment une superfamille multigénique diversifiée de protéines de liaison membranaire (liaison avec les phospholipides) dépendantes du Ca^{2+} qui servent de cibles au Ca^{2+} dans la plupart des cellules eucaryotes (Clark 2017). Elles sont composées de quatre motifs de 60 à 70 acides-aminés formant un tétramère capables de s'attacher à la membrane ou de s'y insérer.

Huit annexines sont identifiées chez *Arabidopsis thaliana*. AtANN1 est la plus étudiée, elle a été détectée aussi bien dans le cytosol, le RE, la vacuole, les mitochondries, les chloroplastes, et la paroi cellulaire (Laohavisit et Davies, 2011). Malabarba *et al.*, (2021) étudient le rôle d'ANN1 dans la réponse à une blessure chez *Arabidopsis thaliana*, en analysant le mutant *ann1*.

Ils montrent i) que *ANN1* est surexprimé chez le Col-0 en réponse à la stimulation, ii) la stimulation génère une élévation locale de $[Ca^{2+}]_{cyt}$ et à distance chez Col-0, mais seulement locale chez le mutant, iii) la voie de signalisation des jasmonates est activée dans la feuille sollicitée et à distance chez le Col-0, mais seulement dans la feuille sollicitée chez le mutant.

B. Les canaux anioniques

L'étude de Lunevsky *et al.* (1983) sur l'algue *Chara* suggère une activation de canaux chloriques à l'origine du potentiel d'action. Une forte sortie de Cl^- du cytosol pourrait être un point commun pour expliquer les dépolarisations de membranes des différents signaux électriques (Lunevsky *et al.*, 1983; Jeworutzki *et al.*, 2010; Hedrich *et al.*, 2016 ; Sukhov *et al.*, 2019 ; Moe-Lange *et al.*, 2021). Plusieurs familles de canaux anioniques ont été identifiées chez les plantes : les canaux mécanosensibles MSL, les canaux voltages-dépendant de type S (SLACs pour Slow Anion Channel) et de type R (QUACs pour QUic Anion Channel, aussi nommé ALMTs pour Aluminium malate transporter), canaux chloriques (CLCs), et les canaux 'voltage dependent anion channel' (VDACs). Les canaux anioniques participant aux mécanismes ioniques sous-tendant les signaux électriques n'ont pas été identifiés, à l'exception de MSL10 (voir § Onde lente, Moe-Lange *et al.*, 2021).

Les SLACs et les QUACs sont deux types de canaux anionique voltage-dépendants qui se distinguent par leur cinétique d'activation en réponse à l'impulsion de tension. Tandis que les canaux de type R (QUACs) présentent une activation de quelques millisecondes, la transition des canaux de type S (SLACs) vers l'état ouvert prend plusieurs secondes (Linder et Raschke, 1992 ; Kolb *et al.*, 1995). En outre, les canaux de type R présentent une dépendance prononcée vis-à-vis du voltage. Ils sont inactifs à des potentiels de membrane hyperpolarisés mais s'activent progressivement lors de la dépolarisation (Kolb *et al.*, 1995). Alors que les canaux de type S ne sont que faiblement voltage dépendants.

1. Slow Anions Channels - SLACs

Les gènes codant pour les canaux anioniques voltage dépendants n'ont été découverts que dans la précédente décennie avec notamment l'étude de Vahisalu *et al.*, (2008). Les auteurs montrent l'implication du canal SLAC1 dans les mécanismes d'ouverture-fermeture des stomates. SLAC1 est préférentiellement présente dans les cellules de gardes, et plus précisément dans la membrane plasmique.

La famille des canaux SLACs est conservée à travers les Embryophytes. Chez *Arabidopsis thaliana*, quatre homologues de SLAC1 ont été reconnus, AtSLAH1 à 4 (Negi *et al.*, 2008). Pour former un pore anionique, la protéine SLAC1 est constituée de trois sous-unités

composées de 10 domaines transmembranaires (Chen *et al.*, 2010). Le pore d'AtSLAC1 est perméable au Cl⁻ et au NO₃⁻, tandis qu'AtSLAH3 est préférentiellement perméable au NO₃⁻. L'activité de SLAC1 est principalement modulée *via* l'interaction avec des protéines kinases incluant les Calcium-dependent kinases (CPKs), les Calcineurines B-like-CBCL-interacting protein kinase (CIPKs), les SNF1-related kinases (SnRKs), et l'inactivation de la phosphatase 2C (PP2C) (Saito et Uozumi, 2019).

Comme *AtSLAC1*, *AtSLAH3* est, lui aussi, préférentiellement exprimé dans les cellules de garde et est impliqué dans les mécanismes de régulation d'ouverture/fermeture des stomates (Geiger *et al.*, 2010). D'après Saito et Uozumi (2019), d'autres canaux anioniques pourraient être impliqués dans ce mécanisme d'ouverture et de fermeture des stomates.

Hedrich *et al.*, (2016) suggèrent que des canaux SLACs pourraient participer à la phase de dépolarisation des signaux électriques, en particulier du potentiel d'action, après une activation par une augmentation de [Ca²⁺]_{cyt}.

2. QUic Anion Channel – QUAC

Le premier gène codant pour un canal QUAC est *TaALMT1*. Il a été identifié chez le blé et est associé à la résistance à l'aluminium (Raman *et al.*, 2005). Chez *Arabidopsis thaliana*, 14 gènes codent pour des canaux anioniques voltages-dépendants de type R (QUACs ou ALMTs). Un canal QUAC serait formé de 4 sous-unités présentant chacune 6 ou 7 domaines transmembranaires (Jingbo Zhang *et al.*, 2013), avec la présence d'un motif de fixation du GABA (γ -aminobutyric acid). Les QUACs seraient perméables notamment au Cl⁻ et au NO₃⁻. L'activité des QUACs serait principalement modulée *via* l'interaction avec les protéines SIZ1, STOP1 et RAE1.

Les canaux QUACs s'activent en quelques millisecondes en réponse à une tension. Cette propriété pousse Hedrich *et al.*, (2016) à suggérer leur implication dans l'initiation du PA.

C. Les canaux potassiques

Le potassium sous sa forme ionique K⁺, à l'instar du proton, joue un rôle important dans le maintien du potentiel de repos. Le transport du potassium à travers la membrane plasmique se réalise *via* des transporteurs mais aussi des canaux ioniques voltage-dépendants. Certains présentent une faible sélectivité pour le K⁺ comme les CNGCs décrits précédemment, et d'autres présentent une sélectivité plus forte comme les canaux voltage-dépendants Kvs. Chez les plantes, ces canaux sont divisés en 5 grands groupes. Les groupes I et II sont activés par l'hyperpolarisation de la membrane et facilite l'influx de K⁺ à l'intérieur de la cellule. Chez *Arabidopsis*, cela concerne notamment les canaux entrant-rectifiants (inward-rectifying

channel) AKT1, KAT1 et KAT2. KAT1 et KAT2 sont particulièrement exprimés dans les cellules de garde où ils participent à la régulation de l'ouverture des stomates. Les membres du groupe III sont faiblement régulés par le voltage et sont représentés par AKT2 chez *Arabidopsis*. AKT2 est un canal de « fuite » restant ouvert ou partiellement ouvert à tous les voltages, et donc permettant le mouvement des ions K^+ en fonction du gradient électrochimique et donc majoritairement impliqué dans le potentiel de repos. C'est l'un des deux canaux dont l'implication dans le mécanisme du PA a été montré par Cuin *et al.*, (2018). Le groupe IV ne semble pas être un groupe de canaux fonctionnels mais qui aurait pour fonction de s'assembler avec les autres canaux K_v s pour former des hétérotétramères. Les membres du groupe V s'activent en réponse à la dépolarisation de la membrane, provoquant une sortie de K^+ vers l'extérieur de la cellule, ils se nomment donc les canaux sortant-rectifiants (outward-rectifying channel) et sont représentés notamment par GORK et SKOR. GORK, à l'instar d'AKT2, est impliqué dans le mécanisme du PA (Cuin *et al.*, 2018). Pour revue, lire Cécile Lefoulon (2021), elle traite notamment les structures et les mécanismes d'ouvertures des canaux K_v s.

VI. Conclusion et objectifs

Les réponses de thigmomorphogenèse de l'arbre face au vent sont notamment étudiées par la flexion des tiges ou des branches des plantes. Ainsi, il a été montré qu'une flexion de tige de peuplier induit une réponse locale avec en particulier une modification de la croissance cambiale et l'activation de voies de synthèses hormonales comme les JAs (Pomies *et al.*, 2017). Des flexions successives de la tige de peuplier entraînent aussi un ralentissement de la croissance longitudinale, suggérant le transfert d'information de la zone fléchée jusqu'à l'apex.

En partant de l'hypothèse d'un transfert rapide de l'information, des études sur une possible signalisation hydraulique générée par la flexion ont été entreprises. Elles ont montré qu'une onde de pression se propage via le xylème lors de flexion de tige ou de branche chez le peuplier ainsi que chez d'autres espèces (Lopez *et al.*, 2014 ; Louf *et al.*, 2017). Cette réponse hydraulique présente une amplitude qui varie en fonction des paramètres de la flexion. Elle se déplacerait à grande vitesse (estimée $>$ à 300 m.s^{-1}) et serait susceptible de se propager dans l'ensemble de la plante via le système vasculaire. Cependant, aucune étude n'a montré que l'onde de pression hydraulique constituait un signal à proprement parler. Dans la mesure où Aude Tixier (2014) n'a pas mis en évidence de réponse transcriptionnelle à l'apex de plants de peupliers soumis à une flexion, on peut se demander si l'onde de pression hydraulique est responsable du transfert de l'information depuis la zone sollicitée.

D'autres vecteurs sont envisagés, notamment une signalisation électrique. Etant donné que la réponse électrique suite à une flexion de tige n'a jamais été abordée, le but premier de ce travail est de déterminer et caractériser cette réponse par des techniques d'électrophysiologie extracellulaire. Puis, dans un second temps, en nous aidant d'une analyse transcriptionnelle, l'objectif sera de montrer que cette réponse électrique est susceptible d'induire une réponse physiologique à distance de la zone sollicitée.

CHAPITRE 1 : Réponse électrophysiologique à une flexion de tige

I. Introduction

Dans les conditions naturelles, les plantes sont soumises à des stress mécaniques non lésons comme le toucher et le vent, qui impactent leur croissance au niveau local et à distance. Les réponses locales ont été largement décrites, mais les signaux qui se propagent dans la plante et sont responsables des réponses à distance du site de sollicitation sont peu étudiés. Ce chapitre explore la possibilité d'une réponse électrique suite à une flexion de tige mimant le vent. Deux espèces sont à l'étude : le peuplier (*Populus tremula x alba*) et le douglas (*Pseudotsuga menziesii*). Après avoir présenté le matériel et méthodes décrivant notamment le dispositif expérimental original de mesure d'électrophysiologie en réponse à la flexion de tige d'un arbre, les résultats démontreront l'existence de la propagation d'un signal électrique dont les caractéristiques seront comparées aux signaux déclenchés par d'autres types de facteurs abiotiques tels que la brûlure et le froid. Enfin, dans une dernière partie, une discussion proposera deux hypothèses quant à la nature de la réponse électrique observée.

II. Matériel et méthodes

A. Matériel végétal et conditions de culture

1. Les peupliers cultivés en hydroponie

Les jeunes peupliers (*Populus tremula* × *alba*, clone INRA 717-1B4) ont été obtenus par micropropagation *in vitro* (Leple *et al.*, 1992). Une fois qu'ils ont atteint une hauteur d'environ 4 cm, ils ont été progressivement acclimatés sur une solution hydroponique (Martin *et al.*, 2009) en diminuant progressivement l'humidité relative ambiante. Les arbres ont ensuite été placés dans une chambre de croissance (cycle lumière/obscurité de 16 h/8 h à $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et de température 22 °C/18 °C avec une humidité relative de l'air de 60 %). Quatre mois après la micropropagation, les peupliers ont été utilisés pour les expériences : à ce stade, les tiges avaient une hauteur d'environ 77,8 cm ($\pm 1,5$ SE) et un diamètre moyen de 5,8 mm ($\pm 0,3$ SE) à 35 cm en-dessous de l'apex.

Avant les expériences d'électrophysiologie, les plantes ont été déplacées dans une cage de Faraday dans le laboratoire (cycle lumière/obscurité de 16 h/8 h à $20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et de température 22 °C/20 °C). Les plantes ont été placées verticalement et fixées en deux points de

la tige avec des anneaux de serrage (Figure 24). De la mousse a été enroulée autour de chaque partie de la tige avant de serrer les anneaux de serrage pour éviter les blessures de la tige et permettre d'éventuelles variations de son diamètre. Le système racinaire a été plongé dans une cuve de 20 L remplie de solution hydroponique.

2. Les douglas

Des douglas (*Pseudotsuga menziesii*, variété PME-VG-04-France 1 VG) sont cultivés en pots par la société Dubost Forêt. Six plants, âgés de 4 ans et mesurant en moyenne 70 cm de hauteur, ont été placés dans une cage de Faraday dans le laboratoire pour des mesures électrophysiologiques en réponse à une flexion de tige. Les conditions sont similaires à celle de l'expérience utilisant des peupliers (cycle lumière/obscurité de 16h/8h à 20 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et de température 22 °C/20 °C), excepté que l'électrode de référence est placée dans la terre au lieu d'être immergée dans la solution nutritive.

B. Protocole de la flexion « standard »

Dans le cas des peupliers, les feuilles portées par le segment de tige courbé ont été retirées le jour de l'installation dans la cage de Faraday, soit 24 à 48 h avant la flexion, à l'aide d'une lame de rasoir afin d'éviter les stimuli mécaniques incontrôlés. La vitesse et l'amplitude de la stimulation de flexion ont été contrôlées par un bras motorisé (moteurs pas à pas hybride 17PM-H311-P1, Minebea.Co) qui pousse la tige contre un gabarit en plastique, dont le rayon de courbure est constant et permettant de fléchir la tige sur 12 cm de long. La vitesse du moteur a été fixée de manière à générer un temps de flexion de 2 s (aller-retour) à l'aide du logiciel d'interface MegunoLink, soit une vitesse du bras motorisé de 2.5 cm.s^{-1} . L'amplitude de la déformation sur la périphérie de la tige a été contrôlée par le rayon de courbure du gabarit en plastique. Cette méthode a permis d'appliquer le même niveau de déformation sur 12 cm du segment fléchi. Le montage a été ajusté pour appliquer une déformation longitudinale périphérique maximale de l'écorce d'environ 2% selon l'équation suivante :

$$\varepsilon \text{ max}(\%) = 100 \times \frac{D}{D + 2 \times \rho}$$

où ρ est le rayon de courbure du gabarit plastique et D est le diamètre de la tige dans la direction de la flexion (Niez *et al.*, 2019). Cette valeur est suffisamment élevée pour générer des réponses thigmomorphogénétiques significatives (Niez *et al.*, 2019) sans induire de lésions aux tissus soumis à la flexion.

Deux types de traitements de flexion ont été appliqués. Pour la flexion apicale transitoire, le gabarit a été placé 35 cm sous l'apex (Figure 24A). Pour la flexion basale transitoire, le gabarit a été placé à 25 cm au-dessus des racines (Figure 24B).

La flexion « standard » est donc définie par plusieurs paramètres : une longueur de tige fléchie de (A) 1, une vitesse de flexion « rapide » (B) $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$, et une intensité de déformation d'environ 2%.

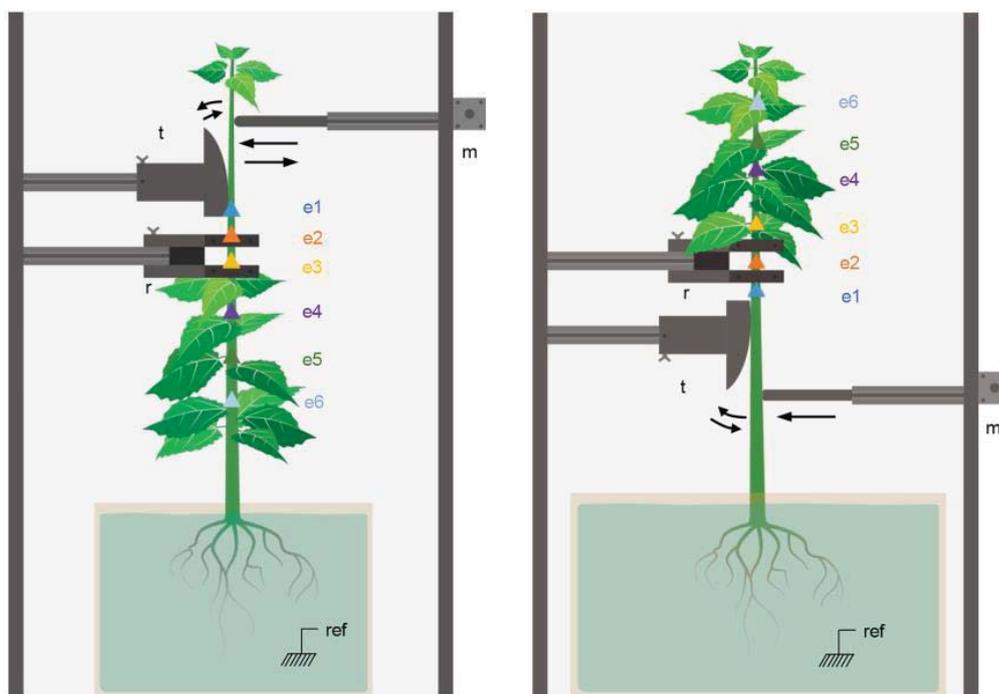


Figure 24 : Dispositifs expérimentaux pour mesurer la réponse électrique dans la tige après une flexion apicale (A) ou basale (B) transitoire. Le peuplier est placé dans une cage de Faraday, fixé en deux points de la tige par des anneaux de serrage (r). Le système racinaire baigne dans une solution nutritive. La tige est fléchie à une vitesse de $2.5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ avec un bras motorisé (m) qui pousse la tige le long d'un gabarit en plastique de courbure constante (t). Les électrodes sont placées dans la partie immobile de la tige. L'électrode e1 est insérée 2 cm en dessous du contact tige-gabarit. Les distances sont alors : e1-e2 = 2 cm, e2-e3 = 3 cm, e3-e4 = 5 cm, e4-e5 = 5 cm and e5-e6 = 5 cm. La différence de potentiel est mesurée le long de 20 cm de tige droite, en dessous (A) ou au-dessus (B) de la région courbée.

C. Protocole de brûlure

La brûlure a été effectuée sur une feuille le long de la nervure centrale avec une allumette. La flamme a été maintenue à 1 cm sous la feuille pendant 4 à 6 secondes détruisant les tissus sous l'effet de la chaleur, mais sans combustion.

D. Protocole de traitement froid

Le traitement au froid a été appliqué en plaçant une goutte d'eau froide (5°C) avec une pointe de pipette près de l'anneau de serrage supérieur.

E. Mesure électrophysiologique extracellulaire

Pour minimiser les interférences artéfactuelles, un seul peuplier à la fois a été placé dans une cage de Faraday. Tout le matériel électronique était situé à l'extérieur de la cage. Six électrodes de mesure (fil de cuivre étamé (359-835), 0,25 mm de diamètre, RS Components) ont été insérées dans la tige, traversant tous les tissus jusqu'à la moelle, et ont mesuré le potentiel électrique simultanément près de la zone de flexion et jusqu'à 20 cm de celle-ci. Une fois l'installation terminée, la plante a été laissée au repos pendant 24 à 48 heures.

L'électrode de référence (modèle RC3, World Precision Instruments) était constituée d'un fil Ag/AgCl immergé dans la solution nutritive des plantes. Le potentiel électrique enregistré est la différence entre une électrode de mesure et l'électrode de référence. Contrairement aux mesures intracellulaires, les mesures extracellulaires montrent des variations de potentiel vers le bas pour une dépolarisation et vers le haut pour une hyperpolarisation. La première électrode de mesure e1 a été insérée 2 cm en dessous (flexion apicale) ou au-dessus (flexion basale) du contact entre la tige et la plaque (Figure 24). Les distances respectives de chaque électrode par rapport à e1 étaient de 2 cm (e2), 5 cm (e3), 10 cm (e4), 15 cm (e5) et 20 cm (e6). Les six électrodes de mesure et l'électrode de référence ont été connectées à une carte électronique cDAQ-9171 (National Instrument). La carte électronique a été utilisée comme amplificateur d'impédance (10 G) et convertisseur A/N. Le logiciel DAQExpress 1.0.1 (National Instrument) a enregistré la différence de potentiel avec un taux d'échantillonnage de 200 Hz. Les graphiques et les analyses ont été construits à l'aide du logiciel MatLab®.

L'analyse des enregistrements a fourni plusieurs paramètres du signal. L'amplitude a été définie comme la valeur maximale de la différence par rapport à la ligne de base avant la flexion. Le temps de demi-vie du signal a été défini comme la durée à la moitié de l'amplitude (Figure 25B). La vitesse moyenne de propagation du signal a été calculée entre chaque électrode comme le rapport entre la distance entre deux électrodes consécutives et le délai entre la détection d'un changement de différence de potentiel.

F. Analyse statistique

Toutes les données mesurées et calculées ont été analysées statistiquement à l'aide du logiciel R. Les tests de Kruskal et Wallis et les tests de Dunn ont été réalisés pour comparer les résultats en termes d'amplitude, de durée et de vitesse du signal ($p < 0,05$).

G. Détermination de la distance maximale de propagation du potentiel graduel

Disposant de mesures d'amplitude du potentiel graduel en fonction de la distance à la source (position des électrodes), les données ont été ajustées à une fonction linéaire par

morceaux ('piecewise linear function') pour estimer la distance maximale de propagation. Cette fonction consiste en un segment linéaire décroissant depuis la source pour s'annuler à la distance maximale recherchée, la fonction restant nulle au-delà :

$$\text{Amplitude}(x) = \begin{cases} a(x - x_0) & \text{si } x < x_0 \\ 0 & \text{si } x \geq x_0 \end{cases}$$

où x est la distance à la source, x_0 la distance maximale atteinte par le signal, et a la pente quantifiant la décroissance de l'amplitude avec x .

Les paramètres a et x_0 sont estimés par régression non-linéaire au moyen de la fonction *nls* de R, qui fournit également (fonction *confint*) des intervalles de confiance (à 95%) sur les valeurs estimées.

Pour comparer les paramètres de propagation du signal sous deux conditions différentes (*cond.1* vs. *cond.2*), on étend le modèle précédent en ajoutant 2 paramètres supplémentaires da et dx_0 quantifiant respectivement les différences éventuelles de pente et de distance maximale atteinte :

$$\text{Amplitude}(x) = \begin{cases} \left\{ \begin{array}{ll} a(x - x_0) & \text{si } x < x_0 \\ 0 & \text{si } x \geq x_0 \end{array} \right\} & \text{pour } \textit{cond.1} \\ \left\{ \begin{array}{ll} (a + da)(x - [x_0 + dx_0]) & \text{si } x < x_0 + dx_0 \\ 0 & \text{si } x \geq x_0 + dx_0 \end{array} \right\} & \text{pour } \textit{cond.2} \end{cases}$$

Outre les estimations des 4 paramètres x_0 , a , dx_0 et da , les intervalles de confiance (IC à 95%) calculés par *nls* permettent de juger de la signification (au seuil $\alpha = 5\%$) des différences de pente et/ou de distance de propagation max. entre les 2 conditions, suivant que les ICs (Intervalles de confiance) sur da et dx_0 , contiennent ou non la valeur 0.

Si la différence sur l'un des 2 paramètres, par ex. la pente, n'est pas significative, on peut lui imposer une valeur commune aux 2 conditions, ce qui améliorera la puissance du test sur l'autre paramètre (la distance max.) en ajustant le modèle intermédiaire à 3 paramètres :

$$\text{Amplitude}(x) = \begin{cases} \left\{ \begin{array}{ll} a(x - x_0) & \text{si } x < x_0 \\ 0 & \text{si } x \geq x_0 \end{array} \right\} & \text{pour } \textit{cond.1} \\ \left\{ \begin{array}{ll} a(x - [x_0 + dx_0]) & \text{si } x < x_0 + dx_0 \\ 0 & \text{si } x \geq x_0 + dx_0 \end{array} \right\} & \text{pour } \textit{cond.2} \end{cases}$$

et en testant la nullité du paramètre dx_0 par la même méthode que ci-dessus.

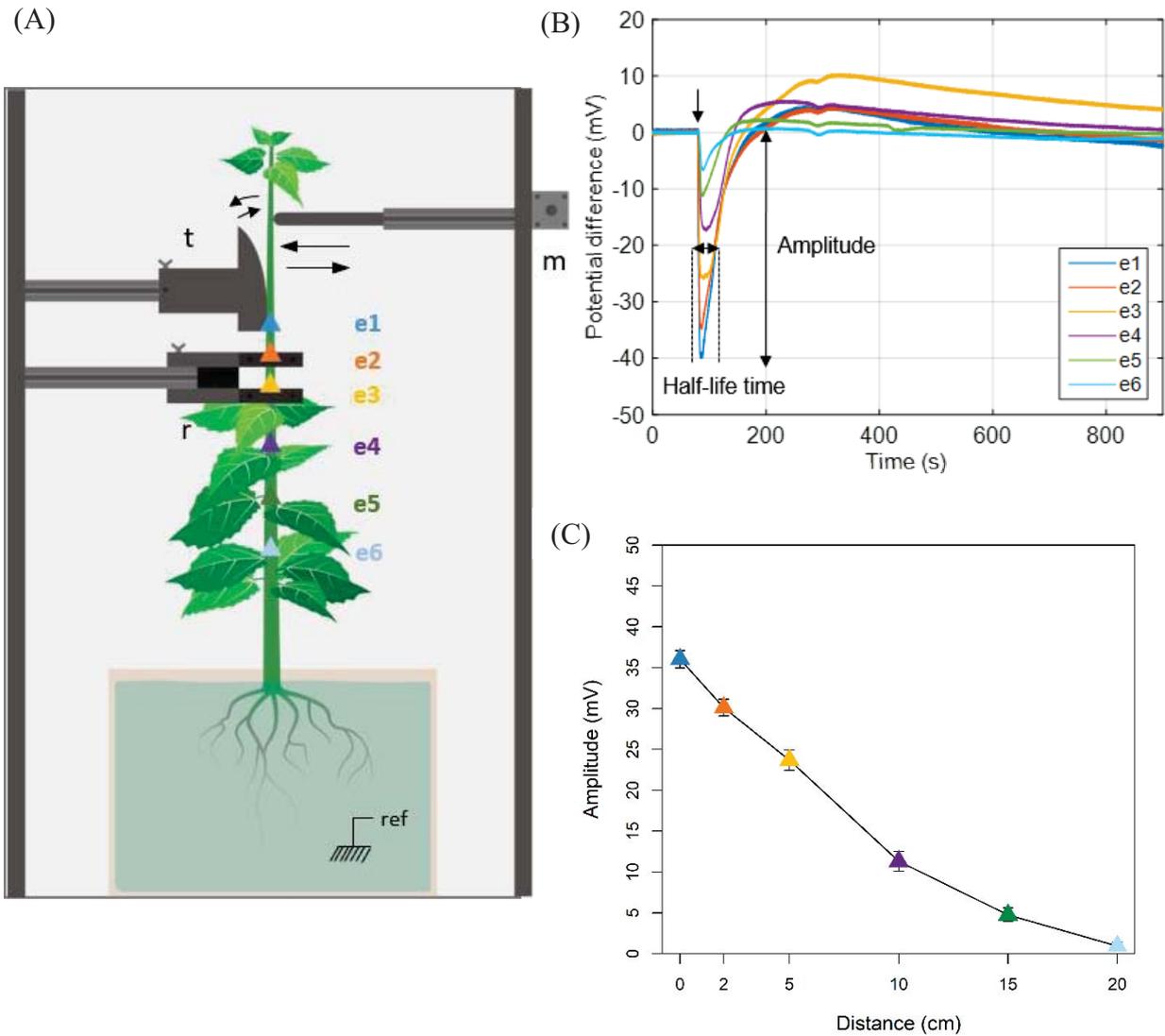


Figure 25 : Réponse électrique mesurée après une flexion apicale transitoire de la tige et enregistrée à différentes positions dans la tige chez *Populus tremula x alba*. (A) Rappel du dispositif expérimental pour mesurer la réponse électrique dans la tige après une flexion apicale. (B) représente un exemple d'enregistrement de la réponse électrique à la flexion de la tige. (C) Amplitude moyenne de la réponse électrique en fonction de la distance par rapport à la zone sollicitée (N=40).

III. Résultats

Pour tester l'effet de la flexion de la tige sur la production d'un signal électrique qui se propage, le premier défi a été de développer un dispositif original (Figure 25) dans lequel les électrodes de mesure étaient maintenues immobiles pendant la flexion de la tige. Dans notre cas, nous avons attaché la tige à deux points fixes. Cette configuration mécanique évitait la rotation possible des sections transversales de la tige et donc, le déplacement de sa partie non sollicitée. Ainsi, les électrodes ont été maintenues totalement immobiles lors de la flexion de la tige.

A. Réponse électrique du peuplier à une flexion standard

1. La flexion apicale standard génère une dépolarisation le long de la tige

Une flexion unique, transitoire et rapide (2s) de la partie apicale de la tige de peuplier a induit une variation de la différence de potentiel (dépolarisation Figure 25A et B) se propageant dans le sens basipète, jusqu'à 20 cm avec un décrétement significatif. L'amplitude moyenne près du point de flexion était de 36 mV (e1), et a chuté à 23.7 mV après 5 cm (e3), pour atteindre une moyenne de 0.9 mV à 20 cm de la zone fléchie (Figure 25C). Le passage de l'onde de dépolarisation a été suivi d'une légère hyperpolarisation des quatre électrodes de mesure les plus proches de la stimulation. Ensuite, un retour lent (jusqu'à 30 minutes) et sans oscillation au potentiel initial a été observé. Le temps de demi-vie de l'onde de dépolarisation tend également à diminuer avec la position de l'électrode ; de 44,2 s pour e1 (l'électrode la plus proche de la zone fléchie) à 34,3 s pour e3 et 6,8 s pour e6, l'électrode la plus éloignée (Tableau 1). La vitesse moyenne de propagation de l'onde de dépolarisation a été évaluée entre chaque électrode (Tableau 2). La vitesse est maximale ($14,9 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1} \pm 1.2$) à la sortie de la zone sollicitée (entre e1 et e2), puis chute progressivement : à $12,8 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ entre e2 et e3, jusqu'à un minimum de $2.5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ entre les deux dernière électrodes e5 et e6.

Le déclenchement et la propagation du signal électrique en réponse à la flexion apicale de la tige ont été constatés chez 100 % des peupliers (N= 40).

Tableau 1 : Evolution de la demi-vie en fonction de la distance de la vague de dépolarisation induite par la flexion de la tige.

Numéro d'électrode	Demi-vie (s)	
	Flexion Apicale	Flexion Basale
e1	44.2 ± 6.7	51 ± 8.3
e2	32.9 ± 4.5	43.3 ± 7.1
e3	34.3 ± 3.5	42.3 ± 4.4
e4	21.6 ± 5.01	35 ± 3.6
e5	15.1 ± 4.9	32.3 ± 3.9
e6	6.8 ± 4.4	9.7 ± 9.7

Tableau 2 : Evolution de la vitesse moyenne de propagation en fonction de la distance de la vague de dépolarisation induite par la flexion de la tige.

Intervalle depuis la zone fléchie (cm)	Vitesse moyenne (cm.s ⁻¹)	
	Flexion Apicale	Flexion Basale
[0;2]	14.9 ± 1.2	15.12 ± 5.4
[2;5]	12.8 ± 1.8	16.87 ± 2.7
[5;10]	8.2 ± 1.6	12.27 ± 2.7
[10;15]	4.3 ± 0.9	8.43 ± 1.1
[15;20]	2.5 ± 1.5	1.19 ± 1.2

2. La flexion basale standard génère une dépolarisation le long de la tige

Une flexion transitoire et rapide du segment basal de la tige a généré une variation de la différence de potentiel (dépolarisation, Figure 26A et B) se propageant dans le sens acropète jusqu'à 20 cm de la zone fléchie. L'amplitude moyenne à 2 cm de la zone fléchie est d'environ 32,4 mV (e1), et chute à 21,2 mV après 5 cm (e3), pour finalement atteindre une moyenne proche de zéro (e6 = 3 mV) à une distance de 20 cm (Figure 26C). Après la phase de dépolarisation, une légère hyperpolarisation a été observée sur les quatre électrodes de mesure les plus proches de la zone stimulée. Ensuite, un retour lent et sans oscillation au potentiel initial s'est produit. Le temps de demi-vie de la réponse électrique est défini comme le temps pendant lequel l'amplitude de la réponse est supérieure à la moitié de l'amplitude maximale. Le temps de demi-vie de l'onde de dépolarisation a également diminué avec la position de l'électrode ; de 51 s pour e1 à 42,3 s pour e3 et 9,7 s pour e6 (Tableau 1). La vitesse moyenne de propagation de l'onde de dépolarisation a été évaluée entre chaque électrode. Près de la zone fléchie, la vitesse varie de 15,1 à 16,9 cm.s⁻¹ entre e1 et e3, tandis qu'elle chute de manière significative dans une gamme de vitesse de 8,4 à 1,2 cm.s⁻¹ entre les électrodes les plus éloignées e3 et e6 (Tableau 2). Le déclenchement et la propagation du signal électrique en réponse à la flexion basale de la tige ont été constatés chez 100 % des peupliers (N=10).

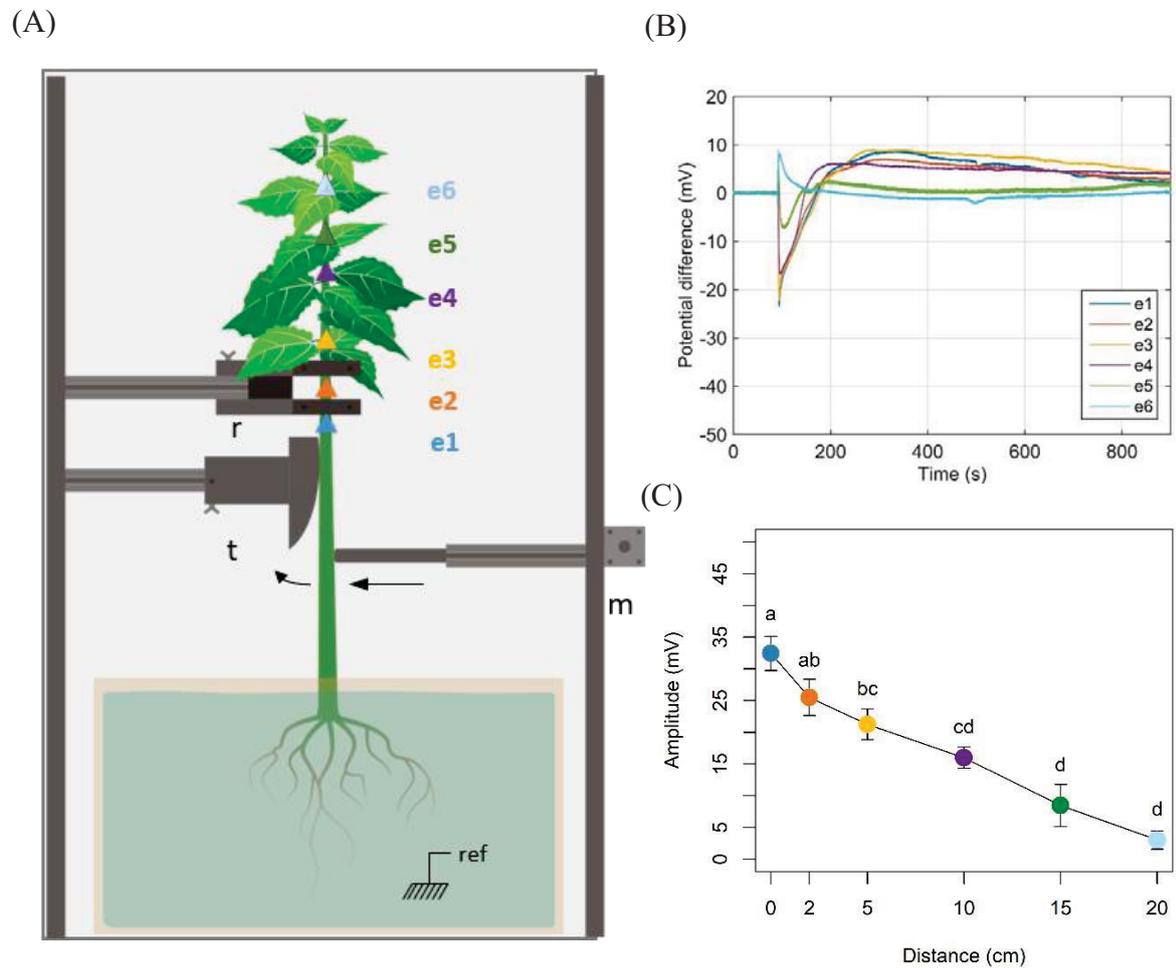


Figure 26 : Suivi de la réponse électrique mesurée après une flexion basale transitoire et enregistrée à différentes positions dans la tige chez *Populus tremula x alba*. (A) Rappel du dispositif expérimental pour mesurer la réponse électrique dans la tige après une flexion basale (B) représente un exemple d'enregistrement de la réponse électrique à la flexion de la tige. (C) représente l'évolution de l'amplitude de la dépolarisation mesurée en fonction de la distance de la zone fléchie (N=10).

B. Etude de la période réfractaire

L'OL et le PA sont caractérisés par une période réfractaire. La période réfractaire (PR) correspond au temps pendant lequel une seconde stimulation, identique à la première, n'induit aucune réponse (la PR est dite 'absolue') ou une réponse diminuée en amplitude par rapport à la première (la PR est dite 'relative'). Une série d'expériences ayant pour objectif de déterminer une PR de la réponse électrique induite par la flexion apicale standard a été menée.

Ainsi, plusieurs expériences ont consisté à tester l'effet d'une seconde flexion 2'30, 4h et 7h après la première. La durée de 2'30 a été choisie car elle correspond environ à la durée de la réponse électrique induite par la première flexion. La durée de 4h était un choix arbitraire et compte-tenu du résultat observé, une expérience avec une flexion à 7h a été ajoutée.

Pour chacune de ces secondes flexions, une réponse électrique a été induite (Figure 27). La seconde flexion appliquée 2'30 (N=5) après la première est la seule expérience qui montre une réponse électrique (Figure 278A) dont l'amplitude est réduite par rapport à celle observée lors de la première flexion aux abords de la zone sollicitée (e1 et e2) et qui atteint rarement une distance de 10 cm (e4). En revanche, la réponse électrique à une seconde flexion (N=5) appliquée 7h après la première (Figure 278B) est identique à celle observée lors de la première flexion. La réponse électrique à une seconde flexion réalisée 4h après la première (N=5) présente une amplitude similaire à celle mesurée lors la première flexion sur les 5 premiers centimètres (e1, e2, et e3), mais avec un décrétement plus important pour les autres électrodes, la réponse n'atteignant jamais 15 cm de distance (e5).

Ces résultats montrent une atténuation de l'amplitude de la réponse électrique à la seconde flexion (PR 2'30), mais aussi une atténuation de sa distance de propagation (PR2'30 et 4h). Afin de caractériser de manière plus précise cette de distance de propagation, une fonction linéaire par morceaux a été appliquée aux données (Voir Matériels et Méthodes). Ainsi, la distance théorique de propagation maximale de la réponse électrique induite par une première flexion est de 17,2 cm, elle est similaire celle calculée après la seconde flexion à 7h avec une valeur de 16,4 cm (Figure 287). Elle est significativement plus faible en réponse à une seconde flexion appliquée 2'30 et 4h après la première, avec des valeurs respectives de 8,5 cm, et 10,2 cm.

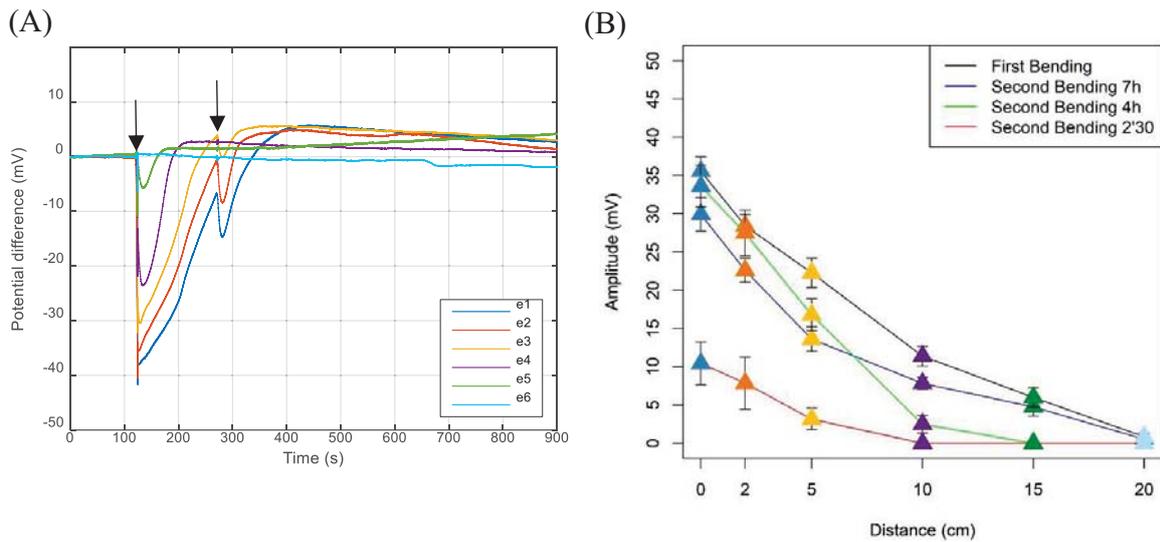


Figure 28 : Effet d'une seconde flexion apicale transitoire de la tige 2'30, 4h et 7h après la première flexion. (A) Exemple d'enregistrement à 6 électrodes de mesures après de deux flexions consécutives séparées de 2'30 (indiquées par les flèches noires). (B) Amplitudes moyennes de la réponse électrique en fonction de la distance pour la première flexion, et après les secondes flexions à 2'30, 4h et 7h (N=5).

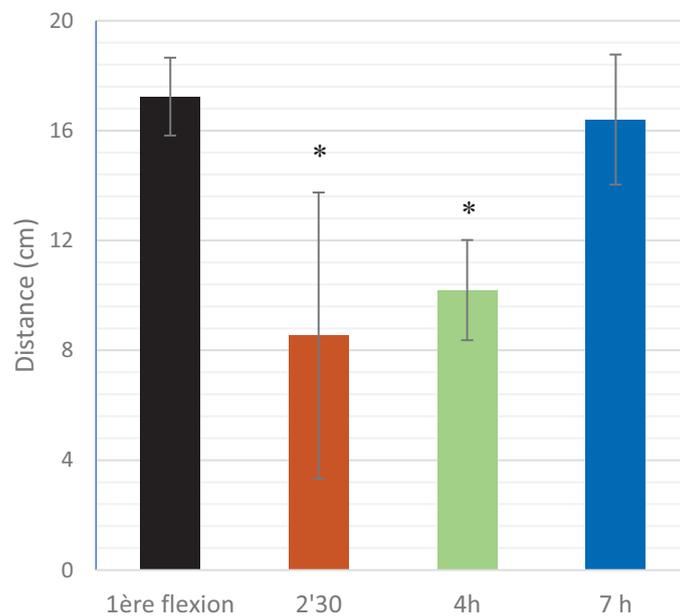


Figure 27 : Distance maximale théorique de propagation de la réponse électrique induite par une première flexion et par une seconde flexion appliquée 2'30, 4h et 7h après la première. La distance maximale théorique est calculée par l'application d'une fonction linéaire par morceaux, '*' indique une différence significative par rapport à la 1^{ère} flexion (IC 95%).

C. L'onde lente et le potentiel d'action chez le peuplier

1. La brûlure d'une feuille de peuplier génère une réponse électrique de type onde lente

Afin de comparer la nature des signaux électriques déclenchés et propagés suite à différents types de stimulation, nous avons donc testé la réponse des peupliers à une brûlure foliaire. Comme le montre la Figure 29, une dépolarisation rapide a été observée pour chaque électrode suite à une brûlure de feuille, en commençant par celles placées le plus près du site de stimulation. Cette vague de dépolarisation s'est propagée aussi bien dans le sens acropète que dans le sens basipète dans la tige du peuplier. Le retour au potentiel initial est lent (5 à 45 minutes) et irrégulier. On observe un décrétement de l'amplitude de la dépolarisation avec la distance de propagation. La vitesse de propagation est de $0,02 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (N=20).

A. Le traitement par le froid génère une réponse électrique de type potentiel d'action

Comme expériences complémentaires, nous avons essayé de générer un PA en appliquant de l'eau froide sur la tige de huit individus de peupliers différents (Figure 30). Alors que trois plantes n'ont pas réagi, une dépolarisation locale (sans propagation) a été mesurée sur quatre d'entre elles, avec une amplitude moyenne de 21,3 mV. Une seule plante a montré un événement de dépolarisation clair se propageant sur une distance d'au moins 1 cm mais inférieure à 3 cm avec une vitesse d'environ $0,5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ et une amplitude de 30 mV.

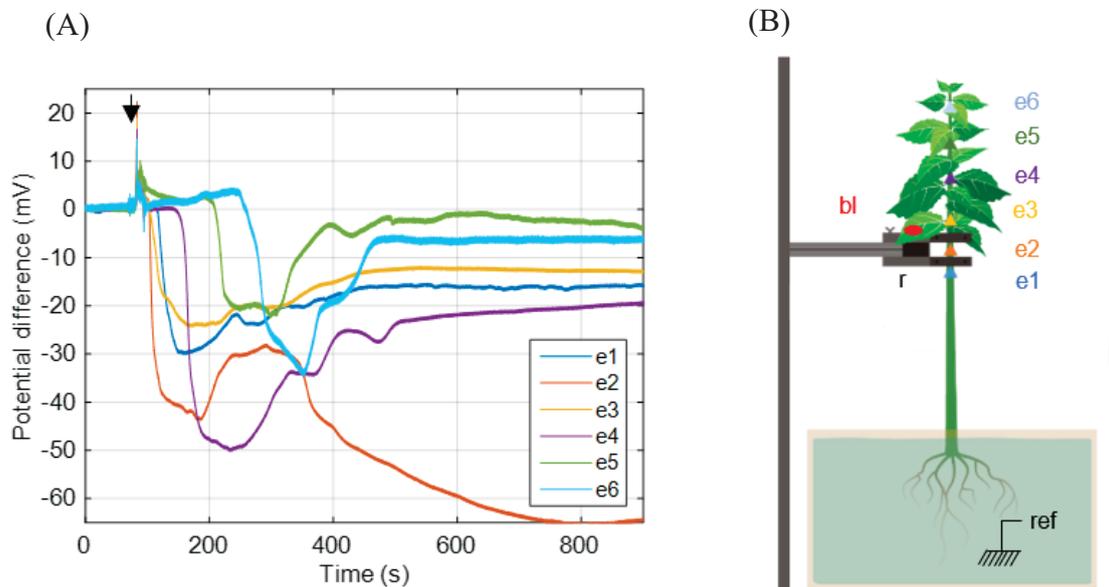


Figure 29 : Enregistrement du signal électrique généré par une brûlure (bl) de feuille chez le peuplier *tremula x alba*. Pour chaque électrode, l'onde lente consiste en une dépolarisation rapide suivie d'un retour lent et irrégulier au potentiel initial. L'amplitude est ici comprise entre 20 et 70 mV et la vitesse est d'environ $0,02 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (A). Le moment de la stimulation est indiqué par la flèche noire. Le peuplier est placé dans une cage de Faraday, fixé en deux points de la tige par des anneaux de serrage (r). La stimulation consiste à brûler (bl) la feuille avec une allumette pendant environ 4 s (B). Les électrodes sont placées le long de la tige comme suit : e1-e2 = 2 cm, e2-e3 = 3 cm, e3-e4 = 5 cm, e4-e5 = 5 cm and e5-e6 = 5 cm.

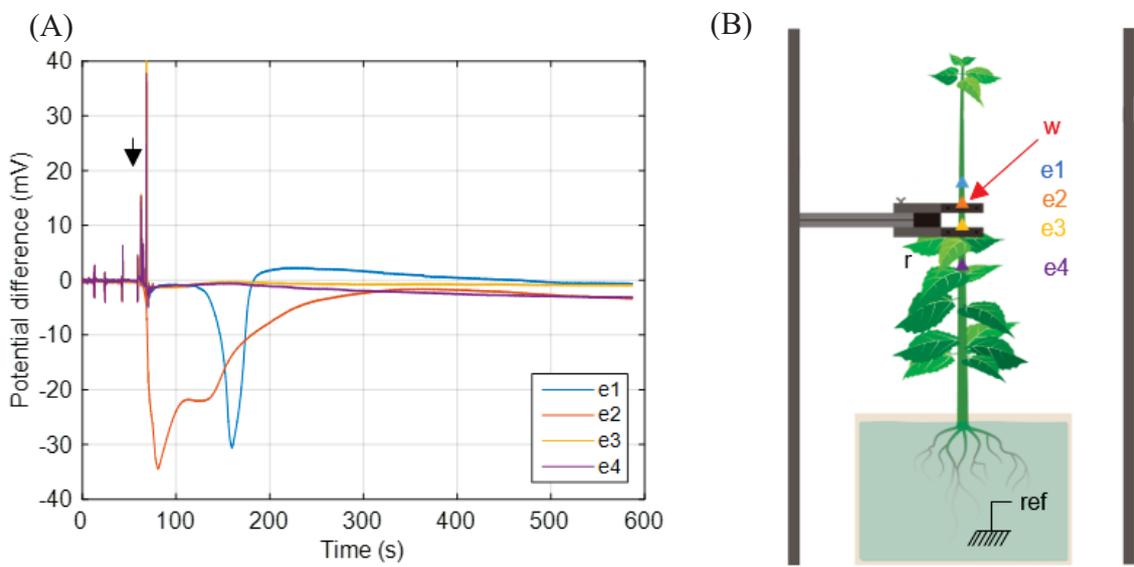


Figure 30 : Enregistrement du signal électrique généré par l'application d'une gouttelette d'eau à 5°C sur la tige (w) chez le *Populus tremula x alba*. (A) Le moment de la stimulation est indiqué par la flèche noire. (B) Le peuplier est placé dans une cage de Faraday, fixé en deux points de la tige par des anneaux de serrage (r). La stimulation consiste à déposer une goutte d'eau froide (w) sur la tige. Les électrodes sont placées le long de la tige comme suit : e1-e2 = 2 cm, e2-e3 = 3 cm and e3-e4 = 5 cm.

D. Réponse électrique du douglas à une flexion standard

Afin de tester la réponse électrique à la flexion de tige chez une autre espèce que le peuplier, des douglas ont été installés selon le même protocole dans la cage de Faraday.

Les douglas sont soumis à une flexion apicale identique à celle réalisée sur les peupliers. Une réponse électrique est mesurée à la suite de cette flexion (Figure 31A). Elle présente une amplitude moyenne de dépolarisation de 4 mV à proximité de la zone sollicitée (e1) puis elle décroît de manière exponentielle ($R^2 = 0,98$) avec une valeur de 0,06 mV ($\pm 0,06$ SE) à 10 cm (Figure 31B). La distance de propagation atteint donc parfois 5 cm (e3) et une fois 10 cm (e4) sur les 6 douglas analysés. La vitesse moyenne de propagation est de 8 cm.s⁻¹ à proximité de la zone fléchie, et présente une atténuation exponentielle ($R^2 = 1$) avec la distance (Figure 32).

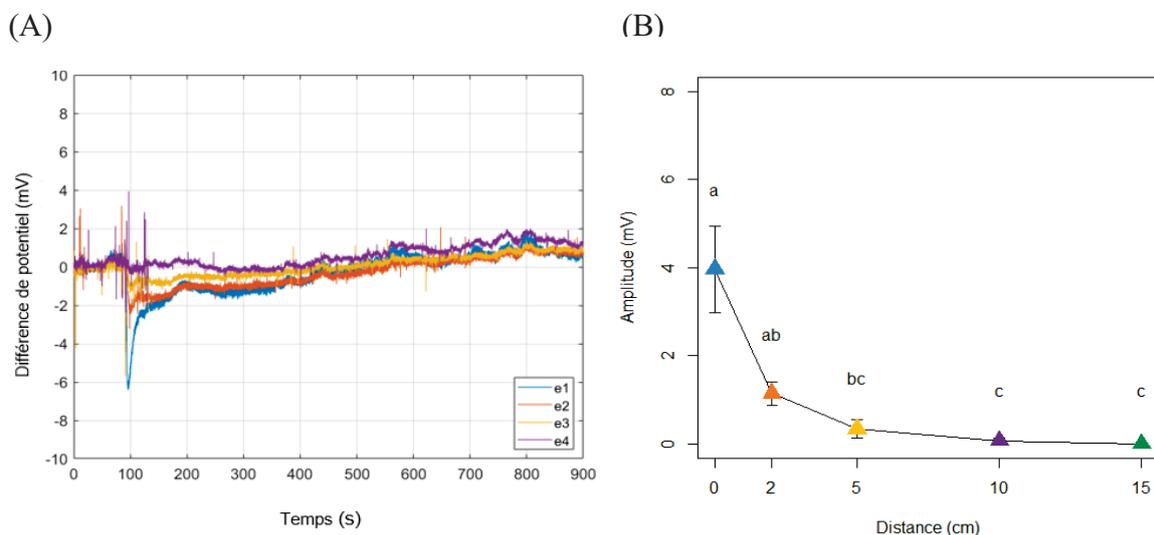


Figure 31 : Réponse électrique mesurée après une flexion apicale transitoire de la tige et enregistrée à différentes positions dans la tige chez *Pseudotsuga menziesii*. (A) Exemple d'enregistrement avec 4 électrodes de mesures suite à une flexion de tige de douglas. (B) Valeurs moyennes \pm SE de l'amplitude de la réponse électrique induite par la flexion de tige de douglas (N=5), (tests de Kruskal et Wallis et tests de Dunn $p < 0,05$).

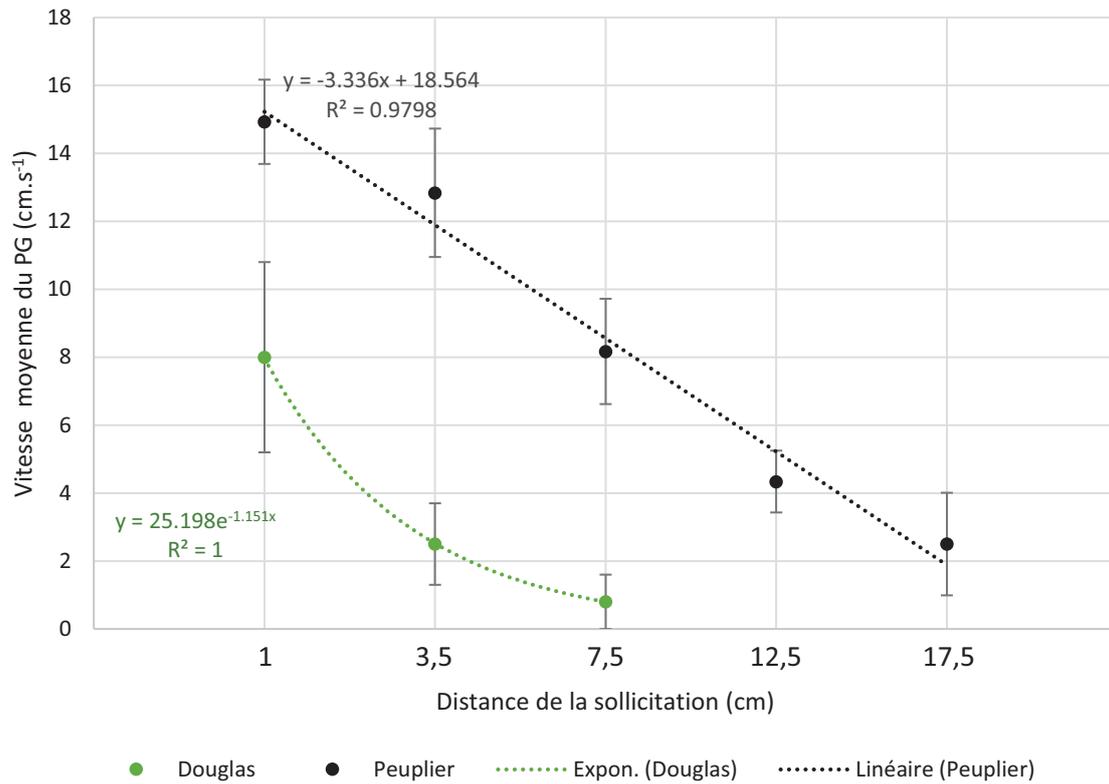


Figure 32 : Evolution de la vitesse moyenne du PG induit par une flexion de tige de douglas (vert) et de peuplier (noir).

IV. Discussion

L'objectif de cette première partie des travaux de thèse était de mesurer et de caractériser la réponse électrique à la flexion. Pour cela plusieurs expériences ont été entreprises : i) une flexion de la tige en positions apicale et basale, ii) l'étude de la période réfractaire de la réponse électrique, iii) l'utilisation de stimulations connues pour induire une OL ou un PA chez les plantes en vue de comparer ces réponses à celle induite par la flexion, iv) une flexion apicale de tige chez une autre espèce de plante afin d'évaluer le caractère générique de la réponse.

A. La réponse électrique induite par la brûlure

En réponse à une brûlure foliaire, une dépolarisation typique d'une onde lente (OL) se propageant dans la tige est enregistrée (Figure 29). Les caractéristiques de cette OL sont identiques à celles décrites dans la littérature pour les espèces herbacées : une dépolarisation rapide qui tend à diminuer avec la distance suivie d'un retour lent et irrégulier au potentiel initial et une vitesse de propagation de l'ordre de 0,01 à 0.1 cm.s⁻¹ (Sambeek et Pickard, 1976a, 1976b ; Roblin et Bonnemain, 1985; Julien *et al.*, 1991). De plus, une réponse similaire à la brûlure a été mesurée sur *Populus trichocarpa* et *Populus tremula* x *P. tremuloides* par Lautner *et al.*, (2005). Toutefois, nos résultats diffèrent des travaux de Lautner. En effet, les auteurs ont obtenu des réponses différentes à la brûlure selon la position de la feuille brûlée par rapport aux électrodes de mesures : une feuille brûlée en position basale induit une OL (dépolarisation) alors qu'une feuille brûlée en position apicale par rapport aux électrodes induit une hyperpolarisation qui pourrait être un système potentiel (SP). Dans notre étude, tous les signaux générés de part et d'autre de la feuille brûlée sont caractéristiques d'une OL (dépolarisation). Il paraît étrange qu'à la suite d'une même stimulation, deux réponses électriques distinctes soient mesurées. Jusqu'à 2005, seule une OL est mesurée suite à une blessure de la plante. Comme aucun contrôle du positionnement intracellulaire des électrodes est montré dans la publication, il est possible que les auteurs, voulant réaliser des mesures électrophysiologiques intracellulaires, aient parfois réalisés des mesures extracellulaires, expliquant le changement de signe de l'OL à la suite de certaines de leur brûlure. La stimulation par la brûlure apporte deux éléments : i) enregistrer une onde lente induite par la brûlure permet de valider le dispositif expérimental de mesure électrophysiologique qui est utilisé et une brûlure de feuille a donc été réalisée sur chacun des arbres après la flexion pour contrôler le dispositif de mesure et ii) elle permet de distinguer une réponse type, induite par une sollicitation lésante (OL) de celles induites par l'eau froide et la flexion.

B. La réponse électrique induite par un choc froid

L'objectif de cette expérience était de mesurer et caractériser un potentiel d'action induit par l'application d'eau froide sur la tige de peuplier. Par la suite, cette réponse électrique pourrait être comparée à celle mesurée suite à la flexion de la tige de peuplier. L'expérience a été réalisée sur 8 plants de peuplier et une dépolarisation a été mesurée dans 62,5% des cas. Dans 50% des cas, la dépolarisation mesurée est locale avec une propagation inférieure à 1 cm. Dans 12,5% des cas, soit à une occasion, la dépolarisation se propage sur une distance supérieure à 1 cm (mais inférieure à 3 cm) permettant de calculer une vitesse de 0.5 cm.s^{-1} . L'amplitude moyenne est d'environ 21 mV et reste constante entre l'électrode 1 et la 2, elle n'est plus détectée par la troisième électrode ce qui laisse suggérer une atténuation soudaine. Un phénomène similaire en réponse à un traitement eau froide semble avoir été observé par Lautner *et al.*, (2005) avec une forme et une vitesse de propagation identique. Pour ces auteurs cette dépolarisation correspond à un potentiel d'action. La distance parcourue par ce PA putatif, comme la reproductibilité du phénomène, ne sont pas précisées dans l'étude, qui est la seule étude d'électrophysiologie concernant le peuplier. Les réponses électriques obtenues suite à la stimulation par l'eau froide dans notre cas, ne se propagent pas ou presque pas, contrairement à ce que l'on aurait pu attendre d'un PA. Par exemple, chez le saule (*Salix Viminalis*), l'application d'une tension induit la propagation d'un PA détecté sur les deux électrodes de mesures insérées dans la tige avec une distance de 10 cm qui les sépare (Fromm et Spanswick, 1993). Ce PA se propage à une vitesse plus grande que celle observée ici (2 cm.s^{-1}) et à amplitude constante.

Les dépolarisations observées ici rappellent le potentiel électrique local (LEP) mesuré par Marhavý et ses collaborateurs, suite à l'ablation d'une cellule de racine plutôt que le PA (Marhavý *et al.*, 2019).

C. Réponse électrique à la flexion de tige

La flexion de la tige génère une variation de la différence de potentiel (dépolarisation) capable de se propager à travers la tige sur une distance d'environ 17 cm depuis la zone fléchie (**Figure 25** Figure 26), aussi bien vers l'apex que vers les racines (Flexions Apicale et Basale). Les caractéristiques comme la forme et la vitesse de propagation de cette vague de dépolarisation la distinguent de l'onde lente générée par la brûlure. Et bien que similaire par la forme, elle se distingue aussi de la différence de potentiel mesurée à la suite d'un traitement à l'eau froide par une distance de propagation 6 à 20 fois supérieure, une vitesse de propagation 30 fois supérieure, et une amplitude qui présente un décrétement quasiment linéaire.

La forme de la réponse électrique induite par la flexion de la tige, une dépolarisation rapide suivie d'une repolarisation au potentiel initial, présente des similitudes avec le PA tel que décrit par Pickard, (1973). L'amplitude maximale est atteinte près de la zone fléchie, avec une valeur moyenne d'environ 36 mV, une valeur faible comparée à celle du PA mesuré chez diverses espèces végétales. La position des six électrodes le long de la tige a permis de suivre le signal électrique sur une distance de 20 cm. Ces mesures ont mis en évidence une atténuation significative de l'amplitude et de la vitesse avec l'augmentation de la distance du point de stimulation (Figure 26C, Figure 25C et Tableau 2). Au contraire, la littérature rapporte que le PA des plantes se propage à une vitesse constante et sans décrétement (Król *et al.*, 2010; Sukhov *et al.*, 2019). Bien que très peu d'études se soient attachées à l'étudier sur une distance supérieure à 10 cm, cela a été observé par Zawadzki *et al.* (1991) où un PA généré électriquement sur une tige de *Helianthus annuus* se propage sur au moins 15 cm de tige à vitesse constante et sans décrétement. Ces travaux ont été ensuite confirmés par Stankovic *et al.* (1998). Des résultats similaires sont enregistrés chez le Saule, où l'application d'une tension induit la propagation d'un PA à amplitude constante sur 10 cm de tige (Fromm et Spanswick, 1993). La double atténuation de l'amplitude et de la vitesse de propagation observée dans notre étude constitue une différence majeure avec la description admise dans la littérature du potentiel d'action végétal. Pour prendre en compte cette caractéristique typique de la réponse électrique induite par la flexion chez le peuplier, il a été proposé (Tinturier *et al.*, 2021) de la désigner par le terme de 'potentiel graduel' ou PG.

Une autre particularité du PG a été observée lors de l'étude de la période réfractaire. En effet, on remarque que lors d'une seconde flexion appliquée 2'30 après la première, l'amplitude de la dépolarisation est diminuée (Figure 27) aux abords de la zone sollicitée (e1 à e3). Le PG présente alors une distance de propagation réduite de moitié (Figure 28). En revanche, lors d'une seconde flexion appliquée 4h après la première, l'amplitude de la dépolarisation aux abords de la zone fléchie est revenue au niveau de celle de la première flexion, mais est fortement diminuée à 10 cm de la zone fléchie (e4) et la dépolarisation n'atteint jamais e5. C'est une seconde flexion appliquée 7h après la première qui permet de retrouver un PG qui présente les mêmes caractéristiques que celles observées lors de la première flexion. Comment expliquer que le retour à une amplitude maximale aux abords de la zone fléchie ne soit pas associé au retour de la distance maximale de propagation ? La période réfractaire correspond au temps nécessaire aux cellules pour retrouver un état excitable (Krol *et al.*, 2010). Est-ce que les cellules à proximité de la zone fléchie retrouvent leur excitabilité plus rapidement que les

cellules distantes, alors qu'elles ont été davantage sollicitées ? Cela semble plutôt contre-intuitif.

Deux hypothèses peuvent être proposées pour expliquer les différentes caractéristiques du PG. La première hypothèse reprend les caractéristiques principales du potentiel d'action, i) une dépolarisation transitoire de la membrane plasmique ii) qui suit la loi du tout-ou-rien, c'est-à-dire que les stimuli inférieurs à un certain seuil n'induisent pas de PG, tandis que les stimuli supérieurs au seuil déclenchent le signal avec une amplitude constante, iii) qui a une propagation électrotonique. L'atténuation de l'amplitude du PG avec la distance s'expliquerait par les pertes énergétiques qu'occasionne la propagation électrotonique *via* le phloème. En effet, on peut s'attendre à ce que la résistance électrique causée par le rétrécissement de la membrane au niveau des plasmodesmes, et la capacité de la membrane non myélinisée (cellules compagnes) provoquent la dissipation du signal électrique (Hedrich *et al.*, 2016). L'éventuelle ré-amplification du signal le long du phloème par des canaux voltage-dépendants, si elle a lieu, ne serait alors pas suffisante pour compenser cette dissipation. En effet, aucune structure équivalente aux nœuds de Ranvier n'a été identifiée à ce jour chez les plantes. La transmission de l'état excité aux cellules voisines aurait donc tendance à diminuer, ce qui pourrait expliquer la baisse de la vitesse de propagation (Sibaoka, 1969 ; Favre et Agosti, 2007). De plus, la réduction de la distance de propagation du potentiel lors d'une seconde flexion réalisée durant la PR pourrait s'expliquer par une occlusion des plasmodesmes des cellules du phloème par un dépôt de callose (Fromm *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2018). Cette hypothèse propose que le PG soit en fait un PA, et que chez le peuplier, et peut-être chez les arbres, l'amplitude du PA s'atténue à mesure de l'éloignement de la zone sollicitée.

La seconde hypothèse suggère que le potentiel " graduel " observé suite à une flexion transitoire de la tige pourrait résulter de l'ouverture de canaux mécanosensibles suite au passage d'une onde de pression hydraulique induite par la flexion dans les tissus vasculaires, mise en évidence récemment (Lopez *et al.*, 2014, Louf *et al.*, 2017), travaux pouvant corroborer l'hypothèse de la Squeeze cell hypothesis émise par Farmer *et al.* (2014). Ces travaux ont montré que l'amplitude de cette impulsion hydraulique dépend de l'intensité de la flexion appliquée sur la tige. La modification de l'amplitude et de la vitesse de propagation de l'onde de pression hydraulique à travers le xylème le long de la tige n'ont cependant pas été caractérisées, les mesures ayant été réalisées en un seul point de part et d'autre de la zone fléchie ou à quelques centimètres de la zone fléchie. Toutefois, on pourrait suspecter son atténuation quasiment linéaire en amplitude et en vitesse. En effet, les éléments du xylème du peuplier sont longs de 15 à 20 cm et sont perforés à leur extrémité. Ils sont parsemés de ponctuations

permettant une connexion entre les éléments du xylème voisins, ainsi qu'avec les cellules vivantes et excitables du parenchyme voisin. Ces ponctuations pourraient être la principale cause de perte de charge rendant compte d'une atténuation de l'amplitude et de la vitesse de propagation de l'onde de pression hydraulique. Si la réponse électrique est couplée à cette onde de pression hydraulique, alors la diminution de l'amplitude sur la distance de cette dernière pourrait expliquer l'atténuation de l'amplitude et de la vitesse de propagation du PG. La période réfractaire pourrait à la fois se définir comme un retour d'excitabilité des cellules, et éventuellement comme la capacité à remobiliser un volume d'eau lors d'une flexion.

D. Différences entre PG du peuplier et PG du douglas induit par la flexion de tige

L'expérience sur le douglas a montré qu'une flexion de tige induit une réponse électrique qui présente des caractéristiques similaires à celle du PG par sa forme et, dans une certaine mesure, par l'atténuation de son amplitude et de sa vitesse moyenne de propagation. En effet, ces deux dernières caractéristiques présentent une atténuation exponentielle chez le douglas alors qu'elle est quasiment linéaire chez le peuplier (Figure 32). Cependant, le niveau moyen d'amplitude est nettement plus faible (4 mV en e1) que celui du PG mesuré chez le peuplier (35 mV en e1). Et en conséquence, la distance maximale de propagation est d'environ 5 cm, 10 cm au maximum. L'ordre de grandeur de l'amplitude du PG du douglas rappelle celle observée lors de l'unique étude d'électrophysiologie suite à une flexion d'organe chez les plantes, très peu relayée de l'américain William C. Asher (1968). Ainsi, ce sont plus de 400 aiguilles appartenant à 8 individus de *Pinus elliottii* et de *Pinus taeda*, qui ont été fléchies. Ces flexions d'aiguilles ont induit une dépolarisation présentant la forme de la réponse mesurée ici chez le douglas, et présentant une amplitude plus faible, de l'ordre de 0.7 mV en moyenne (Asher, 1968). Une seule électrode de mesure avait été utilisée lors de cette étude, ne permettant pas la caractérisation de la propagation de la dépolarisation.

Comment expliquer cependant la différence entre l'amplitude du PG mesurée chez le douglas et celle mesurée chez peuplier (Figure 25 et Figure 31) ? Est-ce que les différences d'anatomie entre angiospermes et conifères pourraient expliquer ce phénomène ? Si on considère l'hypothèse du couplage hydro-électrique, bien que n'ayant pas été analysée chez le douglas, une flexion d'une branche génère une onde de pression dans le xylème dont la valeur de la surpression générée est de 5 kPa en sortie de la zone fléchie. La surpression ne présente pas de différence significative pour le peuplier ou le pin, appartenant respectivement aux angiospermes et conifères (Louf *et al.*, 2017). Comment une même surpression pourrait générer une réponse électrique de différente amplitude ?

Si on considère que l'onde hydraulique est générée au niveau des tissus conducteurs du xylème, il est important de souligner les différences anatomiques entre les vaisseaux du peuplier et les trachéides du Douglas. En effet, l'architecture hydraulique d'une plante, ie l'ensemble des caractéristiques du tissu conducteur de sève brute, détermine la répartition des flux d'eau, la conductivité hydraulique et les potentiels hydriques des racines jusqu'aux feuilles (Cochard, communication non publiée).

Or, le douglas est un conifère dont le xylème est constitué d'un grand nombre de trachéides. Une trachéide est une cellule morte dont ne subsiste que la paroi secondaire lignifiée. Celle-ci est plus épaisse que celle des vaisseaux de xylème car en plus d'assurer la conduction de la sève, les trachéides ont un rôle de soutien mécanique. Une trachéide de douglas mesure entre 1 et 2 mm de longueur (Peterson *et al.*, 2007), présente un diamètre d'environ 30 à 40 μm (Rathgeber *et al.*, 2006) et porte sur ses parois radiales des ponctuations aérolées. Les trachéides se chevauchent au niveau des extrémités, et les ponctuations permettent la conduction de la sève d'une trachéide à l'autre (Figure 33). Les trachéides présentent aussi des ponctuations aréolées avec des cellules vivantes du parenchyme qui permettent, en autres, une connexion avec le phloème.

Chez le peuplier, le xylème est composé d'éléments ou vaisseaux du xylème de 20 cm de longueurs (*Populus nigra*), et de diamètre d'environ 40 μm (Pivovarovoff *et al.*, 2016). Ces éléments du xylème sont empilés l'un sur l'autre, et présentent à leur extrémité des perforations assurant la conduction de la sève d'un élément à l'autre. A l'instar des trachéides, les éléments du xylème sont connectés *via* des ponctuations aux cellules vivantes du parenchyme présentes dans le bois.

Les différences architecturales entre peuplier et douglas ont un impact sur la conductivité de la sève. Une longueur plus importante réduit le nombre de parois traversées, ie. les ponctuations, augmentant ainsi la conductance hydraulique de la voie vasculaire (Cruiziat *et al.*, 2002). Concernant le diamètre, la loi de Hagen Poiseuille prévoit que le flux dans un capillaire parfait augmente avec la puissance 4 de son diamètre (Tyree et Zimmermann, 1971; Tyree *et al.*, 1994). Par conséquent, de par leur architecture hydraulique, les trachéides des douglas transportent une quantité d'eau bien moindre par rapport aux vaisseaux du peuplier.

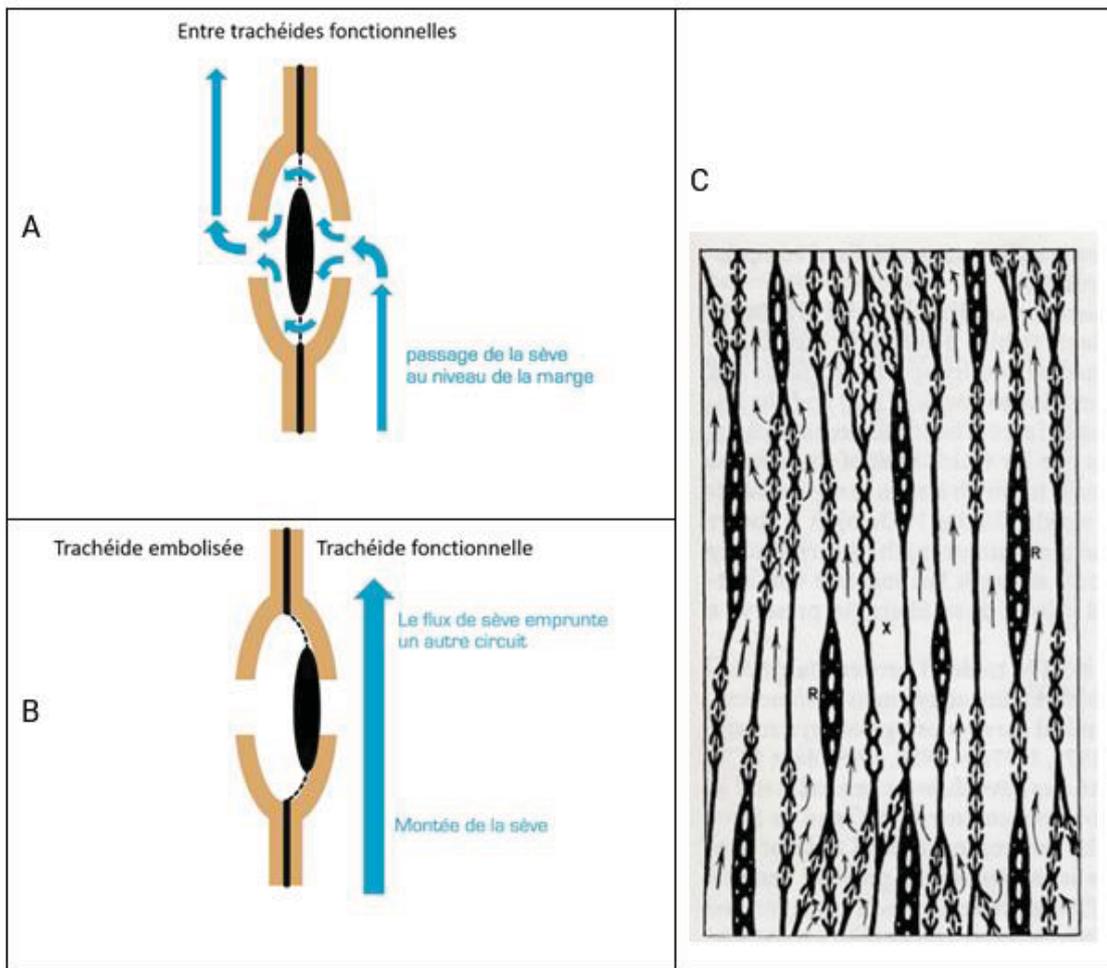


Figure 33 : Passage de la sève à travers les ponctuations aréolées connectant les trachéides chez les conifères. Adapté des cours de M-C Trouy et d'après Tyree et Zimmerman (1993). A : Passage de la sève au niveau d'une ponctuation aréolée entre deux trachéides fonctionnelles. B : en cas d'embolie, le torus est aspiré et vient se bloquer contre le lumen de la ponctuation du côté de la trachéide fonctionnelle. C : représentation schématique d'une coupe tangentielle de bois de résineux avec une trachéide embolisée (repérée par une croix et l'absence de flèche) et des trachéides fonctionnelles).

De plus, Cruiziat *et al.*, (2002) soulignent le phénomène de redondance hydraulique présent essentiellement chez les conifères avec l'association de plusieurs éléments conducteurs en parallèle (Figure 33C). Une conception où les conduits ne sont pas seulement connectés bout à bout mais aussi à travers leurs parois latérales, montre une redondance des chemins hydrauliques, ce qui pourrait favoriser la perte de charges de l'OP générée par la flexion.

Il est donc probable que l'onde de pression hydraulique générée par une flexion ait des caractéristiques différentes entre ces deux espèces, à proximité comme à distance de la zone fléchie. En effet, la succession des ponctuations et les nombreuses trachéides peuvent créer des pertes de charges importantes réduisant beaucoup l'amplitude et la propagation du flux de sève.

D'autre part, il a été précisé que la conduction de la sève entre deux trachéides est permise par le passage à travers des ponctuations aréolées (absentes chez les angiospermes). Au niveau

d'une de ces ponctuations, la paroi secondaire des trachéides est percée, formant un petit cratère. Au centre de la ponctuation, l'épaississement de la paroi primaire forme le torus. Ce dernier est susceptible d'être plaqué contre le lumen de la ponctuation lors d'un changement de pression, comme lors d'un stress hydrique, rompant ainsi la conductivité hydraulique (Figure 33B). L'onde de pression hydraulique générée par la flexion de tige de douglas pourrait induire la fermeture des ponctuations et être rapidement circonscrite.

Enfin, le déclenchement d'un signal électrique généré par le passage d'une onde de pression hydraulique dans le xylème nécessite la présence de cellules excitables vivantes au sein du bois. Là encore des différences anatomiques existent entre angiospermes et conifères : les seules cellules vivantes du bois de conifères correspondent aux cellules des rayons ligneux, présentes en proportion plus faible que dans le bois d'angiospermes (Barbe et Keller, 1996). Au contraire, les vaisseaux de xylème chez les angiospermes sont entourés de cellules vivantes du parenchymes appelées « cellules associées aux vaisseaux » qui pourraient participer au phénomène.

Dans le prochain chapitre, l'hypothèse du couplage hydro-électrique sera testée à travers différentes expériences.

CHAPITRE 2 : Test de l'hypothèse du couplage hydro-électrique

I. Introduction

Dans le premier chapitre, il a été montré qu'une flexion transitoire de tige génère une vague de dépolarisation sur environ 17 cm de tige, au-dessus et en-dessous de la zone sollicitée. Cette dépolarisation bien que présentant une forme de PA, se distingue de celui-ci par une amplitude et une vitesse de propagation qui décroissent avec la distance. Pour illustrer ces différences, la réponse électrique a été nommé potentiel 'graduel' (PG). Deux hypothèses ont été présentées expliquant la propagation du PG, (1) la voie électrotonique du PA et (2) le couplage hydro-électrique. D'après l'hypothèse (1), il est attendu que l'amplitude du PG ne varie pas lorsque l'intensité de la stimulation varie, et qu'aucune réponse ne soit générée pour une intensité suffisamment faible (Loi du tout-ou-rien du potentiel d'action). A l'inverse, d'après l'hypothèse (2), il est attendu que l'amplitude du PG soit modulée par l'intensité de la sollicitation mécanique, puisque l'intensité de l'onde de pression hydraulique varie en fonction de la déformation appliquée à la tige.

Dans ce chapitre sont présentés les résultats des expériences de mesure d'électrophysiologie en réponse à des flexions dont les paramètres sont séparément modulés. Ces résultats sont ensuite discutés afin d'étayer l'une des deux hypothèses.

II. Matériel et méthodes

A. Matériel végétal et conditions de culture

Le matériel végétal et les conditions de cultures utilisées pour ce chapitre sont identiques à ceux du chapitre précédent.

B. Protocoles des traitements flexion

La flexion « Standard » est définie à partir du chapitre précédent. Pour rappel, elle correspond à une flexion apicale transitoire, avec une intensité de déformation à 2%, une vitesse de flexion dite « rapide » ($2,5 \text{ cm.s}^{-1}$, soit un aller-retour de la tige contre le gabarit en 2 secondes environ), une longueur de tige fléchie de 12 cm, et 6 électrodes de mesure placées sur un segment de tige 20 cm à partir de la zone sollicitée

Dans ce chapitre, le protocole de flexion reprend celui du chapitre précédent en faisant varier certains paramètres comme :

- l'intensité de déformation de la tige, pour cela une large gamme de gabarits à différents rayons de courbures ont été produits à l'aide d'une imprimante 3D. D'après l'équation présentée dans le chapitre I

$$\varepsilon \text{ max(\%)} = 100 \times \frac{D}{D + 2 \times \rho}$$

pour appliquer une déformation contrôlée, un gabarit de rayon de courbure ρ est choisi en fonction du diamètre de la tige du peuplier, mesuré au milieu de la zone qui va être fléchi.

Ainsi, deux nouvelles intensités de déformation différentes ont été testées : 0.2% et 1%.

- la vitesse de flexion, le bras motorisé permet de tester différentes vitesses mais aussi de stopper le bras motorisé en position fléchi.

- la longueur de la tige fléchi, pour cela des gabarits plus ou moins longs ont été produits.

C. Protocole du traitement pression

Lors de cette expérience, comme pour le traitement flexion, les peupliers cultivés en hydroponie ont été utilisés. Une chambre à pression, construite au laboratoire dans les années 1990, permettant de mettre sous pression des tiges de plus de 5 mm de diamètre a été utilisée (Cochard *et al.*, 1992). La chambre à pression est placée dans la cage de Faraday. Le système racinaire, ainsi que 15 cm de tige sont placés dans la chambre à pression et sont maintenus par un joint d'étanchéité (Figure 34). Un volume d'eau est placé dans la chambre, environ 1L, de manière à être sous le niveau de l'arrivée d'azote et de la valve de sortie. Les racines sont presque entièrement plongées dans ce volume d'eau. Des électrodes de mesures sont ensuite insérées dans la tige. La première électrode de mesure est insérée dans la tige en position basale, le plus proche possible de la sortie de la chambre à pression, à distance 0 cm. Puis les autres électrodes sont insérées le long de la tige comme cela : e1-e2 = 5 cm ; e1-e3 = 10 cm ; e1-e4 = 15 cm et e1-e5 = 22 cm. À la différence des mesures électrophysiologiques du protocole de flexion où l'électrode de référence est placée dans la solution nutritive, elle est ici insérée à l'apex du peuplier.

La chambre à pression est connectée à une bouteille d'azote gazeux positionnée en dehors de la cage de Faraday. Un manomètre est connecté à la chambre à pression. Une vanne permet de faire monter la pression à l'intérieur de la chambre à environ 1 bar, en environ 8 secondes.

La pression est alors maintenue à 1 bar le temps de l'enregistrement. Une autre vanne permet d'ouvrir le circuit et de faire chuter la pression de la chambre à la pression atmosphérique.



Figure 34 : Photo du dispositif de mise sous pression du système racinaire et de mesures électrophysiologiques.

III. Résultats

A. Effet d'une flexion puis d'une déflexion de la tige sur la réponse électrique

Jusqu'à présent les flexions réalisées dans le cadre des mesures électrophysiologiques étaient réalisées en imposant un aller-retour à la tige contre le gabarit sans temps d'arrêt. Lors de cette expérience, la flexion est décomposée en deux phases, la flexion de la tige contre le gabarit, et un retour à sa position initiale après 4h. La vitesse de flexion, l'intensité de la déformation, et la longueur fléchie correspondent à une flexion standard (2.5 cm.s^{-1} , 2% et 12 cm). Le choix d'un retour après 4h, permet de sortir presque complètement de la période réfractaire du PG.

Lors de la *flexion* comme lors de la *déflexion* un potentiel graduel est mesuré (Figure 35). Ce potentiel graduel présente une évolution de l'amplitude moyenne statistiquement similaire entre la *flexion* et la *déflexion* avec une atténuation quasiment linéaire. La vitesse moyenne de propagation du PG est similaire entre les deux sollicitations, avec notamment une forte hétérogénéité entre 0 et 5 cm, et suit une atténuation exponentielle avec un R^2 supérieur à 0,99 (Figure 36). Les distances théoriques de propagation maximale sont évaluées à environ 17 cm, sans différence significative (Figure 12C). Le potentiel graduel initié par la *flexion* semble donc identique à celui observé lors de la *déflexion* 4 heures plus tard.

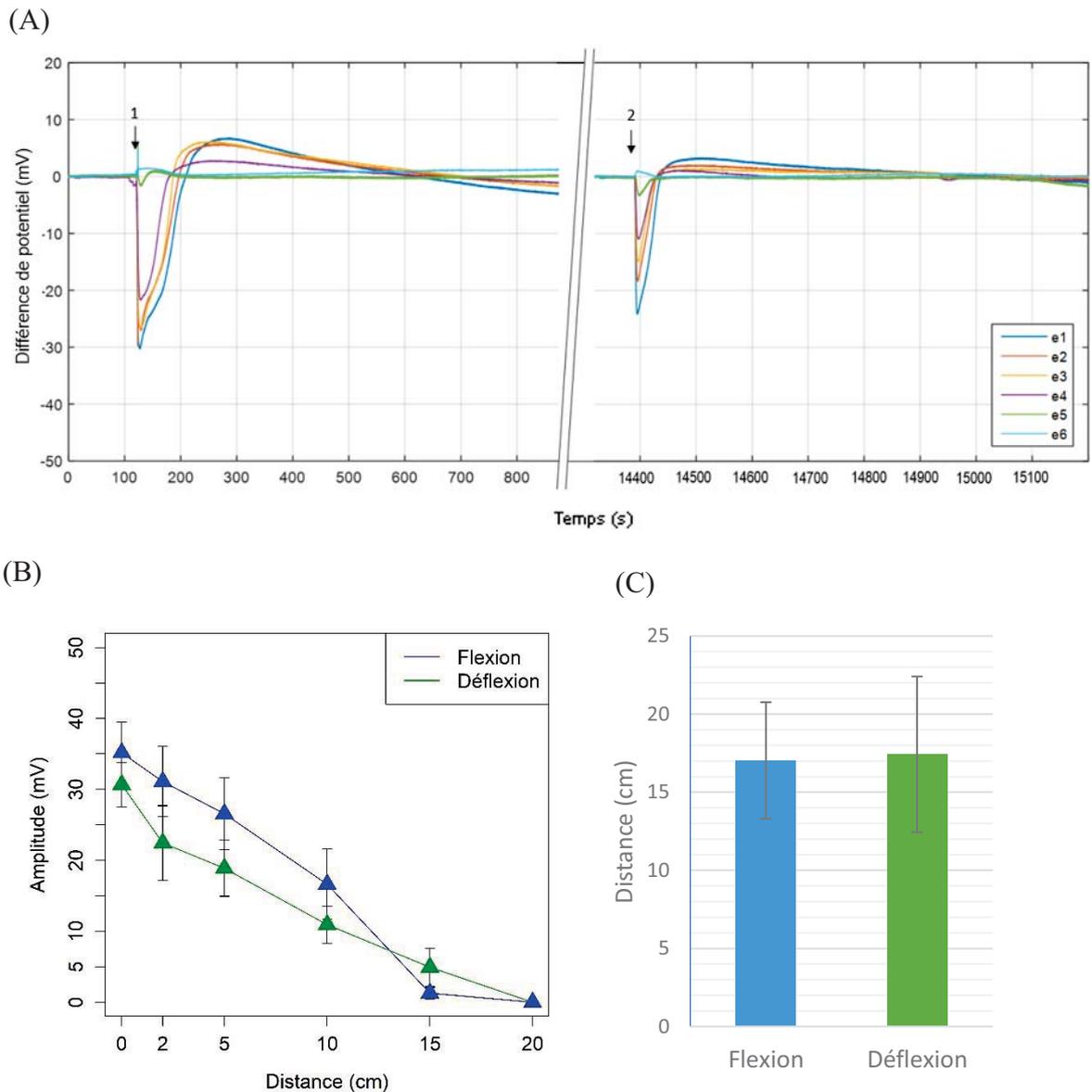


Figure 35 : Effet de la flexion et de la déflexion de la tige de peuplier sur la réponse électrique. (A) Exemple d'enregistrement à 6 voies de deux ondes de dépolarisation successives induites par la flexion de la tige maintenue contre le gabarit (1) et, 4 heures plus tard, par le retour à la position initiale de la tige (2). (B) Valeurs moyennes \pm ES de l'amplitude du potentiel graduel après la flexion de la tige puis son retour en position initiale 4 h après ($n=5$) (tests de Kruskal et Wallis et tests de Dunn $p < 0,05$). (C) Distance maximale théorique du PG induit par la flexion et par la déflexion, calculé à partir d'une régression linéaire par morceaux (Cf. Mat&Met Chapitre 1).

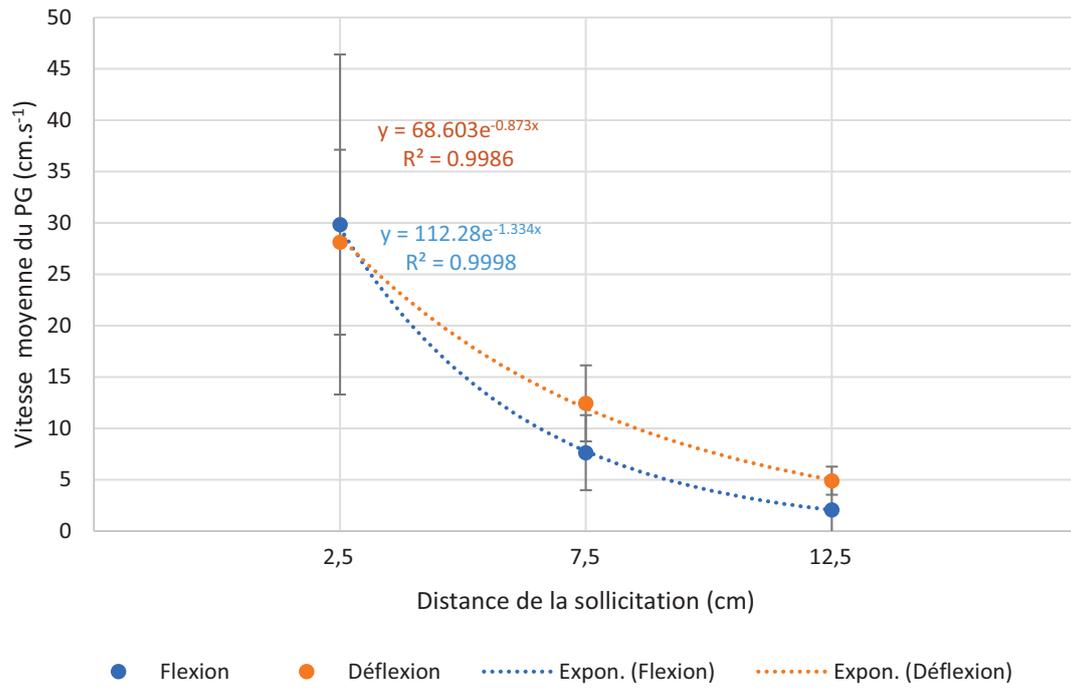


Figure 36 : Evolution de la vitesse moyenne de propagation du PG induit par la flexion (bleu) puis par la déflexion (orange). Une courbe exponentielle est tracée pour chaque sollicitation. Le nombre de répétition biologique pour cette expérience est égal à 5.

B. Impact de l'intensité de déformation sur le potentiel graduel

Trois régimes d'intensité de déformation de la tige ont été appliqués lors de la flexion : 0,2% ; 1% et 2%, ce dernier régime correspond à la flexion apicale « standard » présentée au Chapitre 1.

Lors de chacun de ces régimes de flexion, un PG a été mesuré. Les résultats montrent sur les 5 premiers centimètres que les amplitudes moyennes des PG induits par des flexions à 0,2% et 1% présentent une plus grande hétérogénéité par rapport à la flexion standard (à 2%), mais aucune différence statistique de l'amplitude du signal n'apparaît entre ces différents régimes (Figure 37). A distance, les amplitudes moyennes des signaux déclenchés par des flexions à 1 et 2% diminuent de manière linéaire, et présentent une distance maximale théorique voisine à 17,43 cm ($\pm 4,5$) et 17,24 cm ($\pm 1,4$) respectivement (Figure 37). En revanche, l'amplitude moyenne de la flexion à 0,2% chute fortement entre e3 et e4 (de 27,7 mV ($\pm 4,7$) à 5,4 mV ($\pm 2,4$)), avec une distance maximale théorique significativement réduite à 12,3 cm ($\pm 1,8$). L'évolution de la vitesse moyenne de propagation du PG a été comparée entre les différentes conditions de flexion (Figure 38). A proximité de la zone fléchie, entre 0 et 2 cm, la vitesse moyenne du PG est similaire pour les différentes conditions de déformations. Par contre, après 2 cm, la vitesse moyenne du PG induit par des déformations faibles est significativement plus basse que sous les deux autres conditions de flexions. On note aussi que l'évolution de la vitesse moyenne du PG induit par des flexions de faible déformation suit une régression exponentielle ($R^2=0,998$), alors que les deux autres conditions en sont plus éloignées. En tenant compte de cette régression exponentielle, on peut constater que le coefficient d'atténuation de la vitesse est similaire pour les différentes conditions.

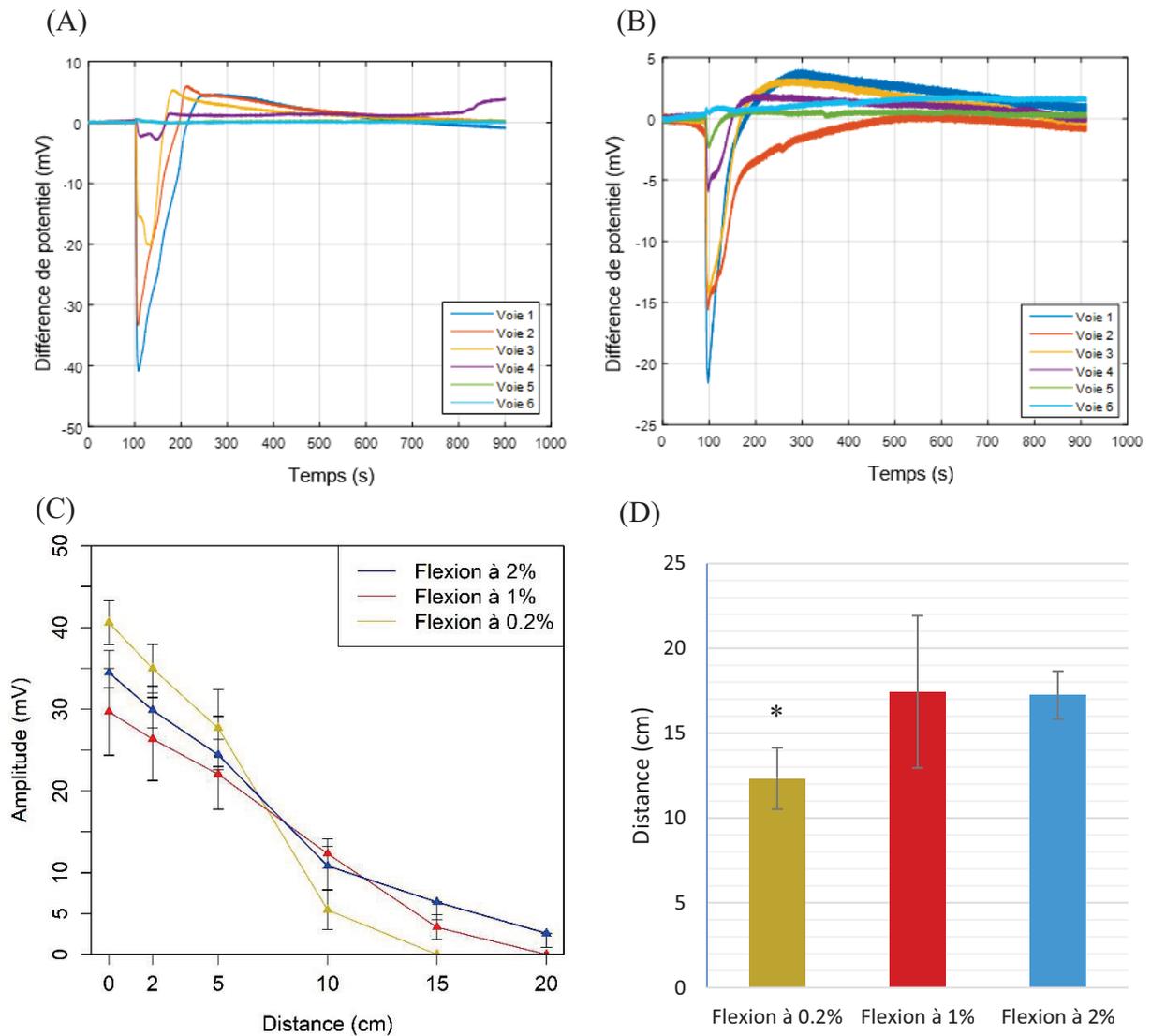


Figure 37 : Effet de la variation d'intensité des déformations de la tige sur le potentiel graduel. (A et B) Exemples d'enregistrements à 6 voies du potentiel graduel en réponse à une flexion à 0,2% (A) et une flexion à 1% (B). (C) Valeurs moyennes \pm ES de l'amplitude du potentiel graduel en fonction de la distance pour des flexions à 2% (N= 40), des flexions à 1% (n= 5), et des flexions à 0,2% (N= 5), (tests de Kruskal et Wallis et tests de Dunn $p < 0,05$). (D) Distance maximale théorique du PG induit par les différents régimes de flexion de tige de peuplier, calculée à partir d'une régression linéaire par morceaux, '*' indique une différence significative par rapport à la flexion à 2% (IC à 95%, Cf. Mat&Met Chapitre 1).

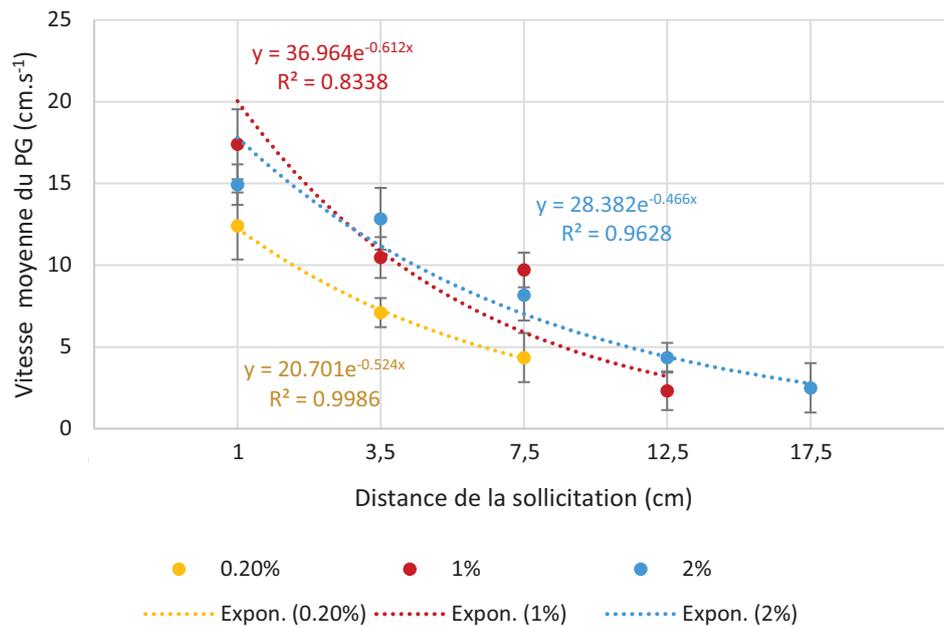


Figure 38 : Evolution de la vitesse moyenne de propagation du PG suite à différentes modalités de flexion. La vitesse moyenne du PG a été mesurée suite à des flexions de tige à intensité de déformation à 2% (N=40), 1% (N=5) et 0,2% (N=5).

C. Impact de la vitesse de flexion sur le potentiel graduel

Appliquer une flexion suffisamment lente pourrait modifier à la fois l'amplitude et la distance de propagation de l'onde de pression hydraulique déclenchée par la déformation des tissus. Dans ce but, l'installation d'un bras motorisé a permis d'automatiser la flexion et d'en contrôler la vitesse. Pour étudier l'effet de la vitesse de flexion sur la réponse électrique, des flexions apicales à 2% ont été réalisées selon 3 modalités de vitesse de flexion : *rapide* ($\approx 2.5 \text{ cm.s}^{-1}$), correspondant à la flexion « standard », soit un aller-retour en environ 2 secondes, *moyenne* ($\approx 0.55 \text{ cm.s}^{-1}$), et *lente* ($\approx 0.18 \text{ cm.s}^{-1}$).

Pour chacune des modalités de vitesse de flexion, un PG est induit par la flexion de la tige. L'amplitude moyenne du PG aux abords de la zone fléchie (0 à 5 cm) est légèrement réduite lors de la flexion à vitesse moyenne en comparaison à la flexion standard (rapide). Cependant, la distance maximale théorique reste similaire à 16,1 cm ($\pm 4,5$) contre 17,2 cm ($\pm 1,2$) après des flexions rapides (Figure 39). Les flexions réalisées à faible vitesse induisent un PG dont l'amplitude est similaire à la flexion rapide sur les 5 premiers centimètres, mais s'écroule à 10 cm pour une distance maximale théorique significativement plus faible à 11,6 cm ($\pm 2,1$).

Si la vitesse de propagation du PG est similaire entre 0 et 2 cm après la zone fléchie pour les trois régimes de flexion, elle est significativement plus faible entre les centimètres [2 ;5] et [5 ;10] lors des flexions à 0,2% et 1% par rapport à la flexion standard (Figure 40). Cette atténuation de la vitesse de propagation du PG suit une régression exponentielle, avec un R^2 de plus en plus proche de 1 avec la diminution de la vitesse de déformation (Figure 40).

Cette expérience montre que l'amplitude moyenne du PG à proximité de la zone fléchie est peu ou pas impactée par différentes modalités de vitesse de flexion. Au contraire, la distance maximale théorique de propagation du PG est significativement réduite lors des flexions à faible vitesse. De plus, la vitesse de propagation du PG est elle aussi réduite par des flexions à vitesse moyennes ou faibles par rapport aux flexions rapides.

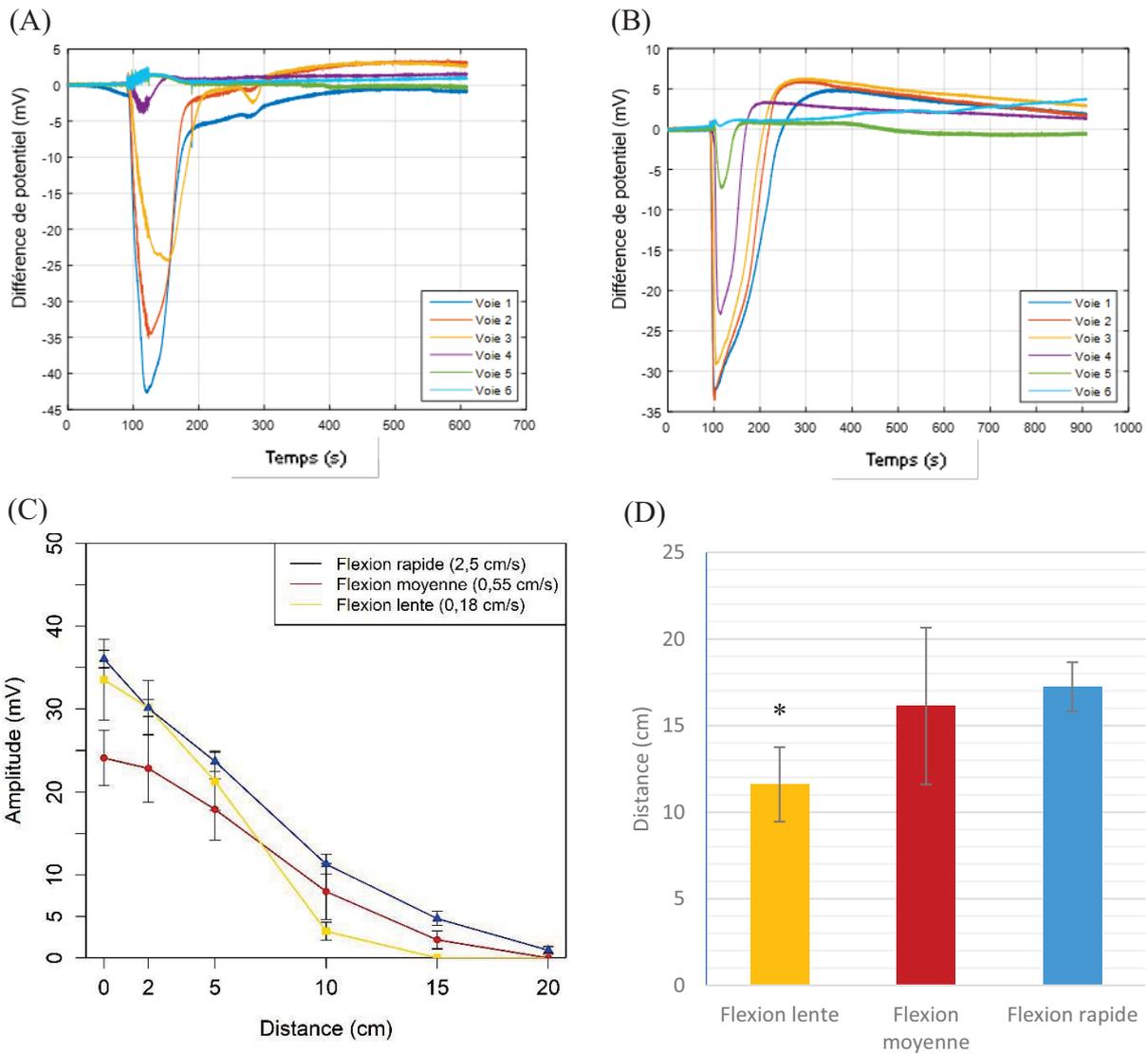


Figure 39 : Effet de différents régimes de vitesse de flexion de tige de peuplier sur le potentiel graduel. (A et B) Exemples d'enregistrements à 6 voies du potentiel graduel en réponse à une flexion lente (A) et une flexion moyenne (B). (C) Valeurs moyennes \pm ES de l'amplitude du potentiel graduel en fonction de la distance pour des flexions à vitesse rapide (N= 40), à vitesse moyenne (N= 9), et à vitesse lente (N= 5) (tests de Kruskal et Wallis et tests de Dunn $p < 0,05$). (D) Distance maximale théorique du PG induit par les différents régimes de vitesse de flexion de tige de peuplier, calculée à partir d'une régression linéaire par morceaux, "*" indique une différence significative (IC à 95%, Cf. Mat&Met Chapitre 1).

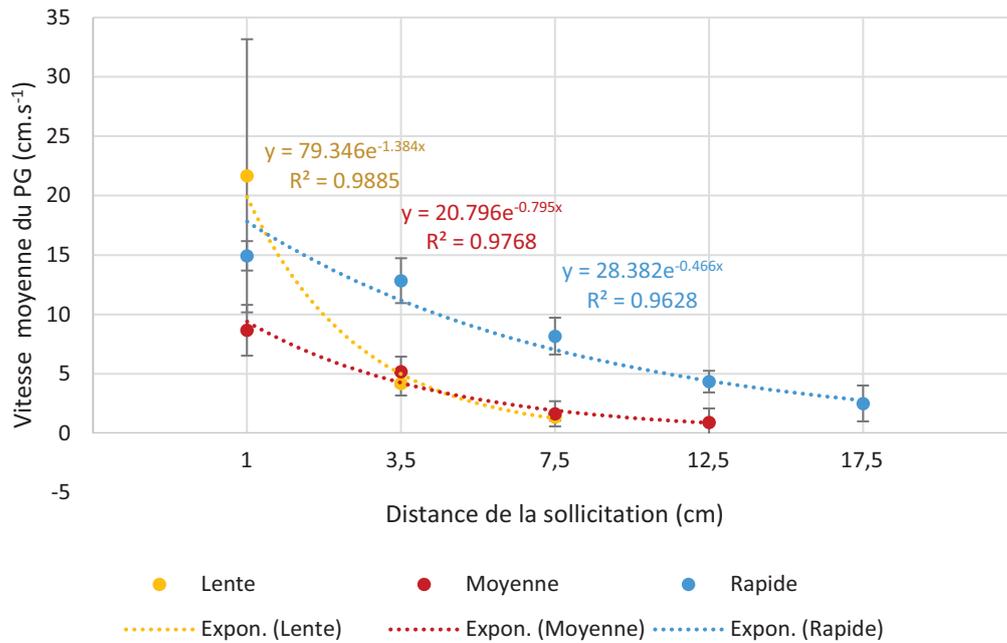


Figure 40 : Evolution de la vitesse moyenne de propagation du PG suite à différentes modalités de vitesse de flexion. La vitesse moyenne de propagation du PG a été mesurée suite à des flexions à intensité de déformation constante (2%) et à des vitesses de flexion rapide (N=40), moyenne (N=9), et lente (N=5).

D. Impact de la longueur de tige fléchie sur le potentiel graduel

Appliquer une flexion en sollicitant un plus grand volume d'eau dans la tige pourrait modifier l'amplitude et la distance de propagation de l'onde de pression hydraulique déclenchée par la déformation des tissus. Dans cette optique, des gabarits de différentes tailles ont été produits, permettant de fléchir la tige sur une longueur de 6 et 21 cm. La longueur de flexion standard était jusqu'à présent de 12 cm.

Pour chacune des modalités de longueur de tige fléchie, l'intensité de déformation et la vitesse de flexion appliquées restent inchangées à 2% à vitesse rapide. Pour chacune des modalités de flexion, un PG est induit lors de la sollicitation. L'évolution de l'amplitude en fonction de la distance parcourue par le PG des flexions à 6 cm et 21 cm est similaire à la flexion standard (Figure 41A). En revanche, la distance maximale théorique est supérieure lors d'une flexion de tige de 21 cm ($22,6 \text{ cm} \pm 3,7$) à celle calculée pour des longueurs de tiges fléchies de 6 et 12 cm (respectivement $16,4 \text{ cm} \pm 2,3$ et $17,2 \text{ cm} \pm 1,2$) (Figure 41B).

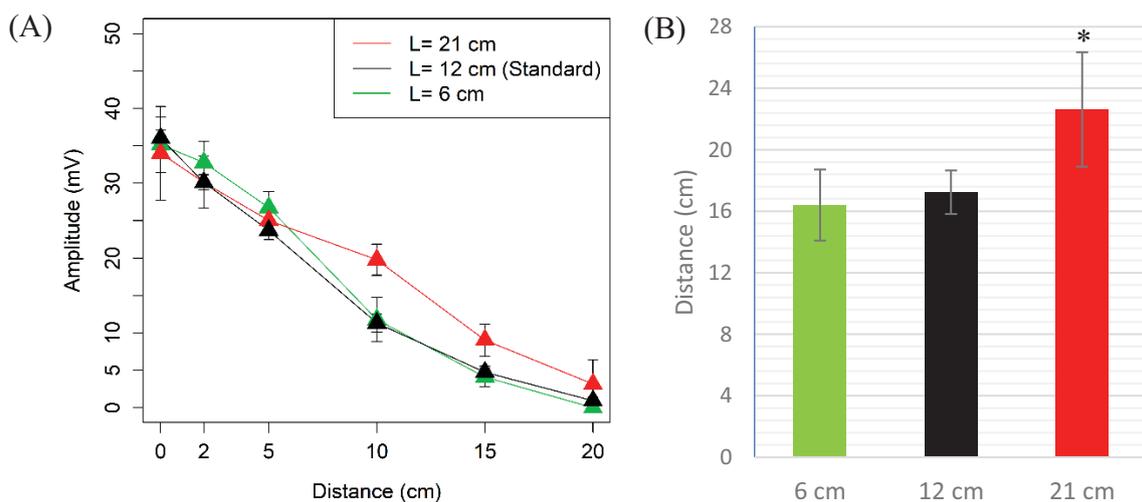


Figure 41 : Effet de la longueur de tige fléchie de peuplier sur le potentiel graduel. (A) Valeurs moyennes \pm ES de l'amplitude du potentiel graduel en fonction de la distance pour des flexions à 12 cm (N= 40), des flexions à 6 cm (N= 5), et des flexions à 21 cm (N= 5), (tests de Kruskal et Wallis et tests de Dunn $p < 0,05$). (B) Distance maximale théorique du PG induit par les différents régimes de vitesse de flexion de tige de peuplier, calculée à partir d'une régression linéaire par morceaux, '*' indique une différence significative (IC à 95%, Cf. Mat&Met Chapitre 1).

E. Mesure électrophysiologique suite à la mise sous pression du système racinaire

Une autre manière de tester l'hypothèse du couplage hydro-électrique est de déclencher une onde de pression dans le système vasculaire en absence de déformation de la tige. Dans ce but, le système racinaire et 15 cm de tige sont placées dans une chambre à pression fermée hermétiquement. Une première électrode de mesure e1 est placée au plus proche du joint d'étanchéité. Les 5 électrodes suivantes sont placées respectivement à 5, 10, 15, 22 et 28 cm de e1 (Figure 42A).

La mise sous pression du système racinaire et d'une section de tige (15 cm) induit une hyperpolarisation simultanée (Figure 42B). L'amplitude moyenne de cette hyperpolarisation est quasiment nulle en e1 ($0,8 \text{ mV} \pm 0,3$). Elle augmente presque linéairement (Figure 42C) pour atteindre son maximum à 13,4 mV ($\pm 1,9$) vers 22 cm, et reste constante à 30 cm ($13,1 \text{ mV} \pm 2,6$). De plus, une vague de dépolarisation touche instantanément e1 avec une amplitude moyenne (Figure 42D) de 28,4 mV ($\pm 2,9$). Elle consiste en une dépolarisation rapide, suivi d'une repolarisation elle aussi rapide, le phénomène s'étalant sur environ 40 secondes (Figure 42). Cette dépolarisation se propage dans la tige à une vitesse exponentiellement décroissante ($R^2 = 0,99$). En effet, la vitesse de propagation est en moyenne de $15,3 \text{ cm.s}^{-1} (\pm 4,1)$ entre 0 et 5 cm à partir de la sortie de la chambre à pression, puis elle diminue pour atteindre $1,2 \text{ cm.s}^{-1} (\pm 0,9)$ entre 15 et 22 cm (Figure 43). L'amplitude moyenne de la dépolarisation s'atténue quasiment linéairement avec la distance pour être presque nulle à 22 cm, n'atteignant jamais 30 cm. La distance maximale théorique de cette réponse (Figure 44) est calculée par fonction linéaire en morceaux, elle est estimée à $24,7 \text{ cm} (\pm 3,7)$.

De plus, dans les conditions de mise sous pression du système racinaire, aucune exsudation n'a été observée au niveau des feuilles.

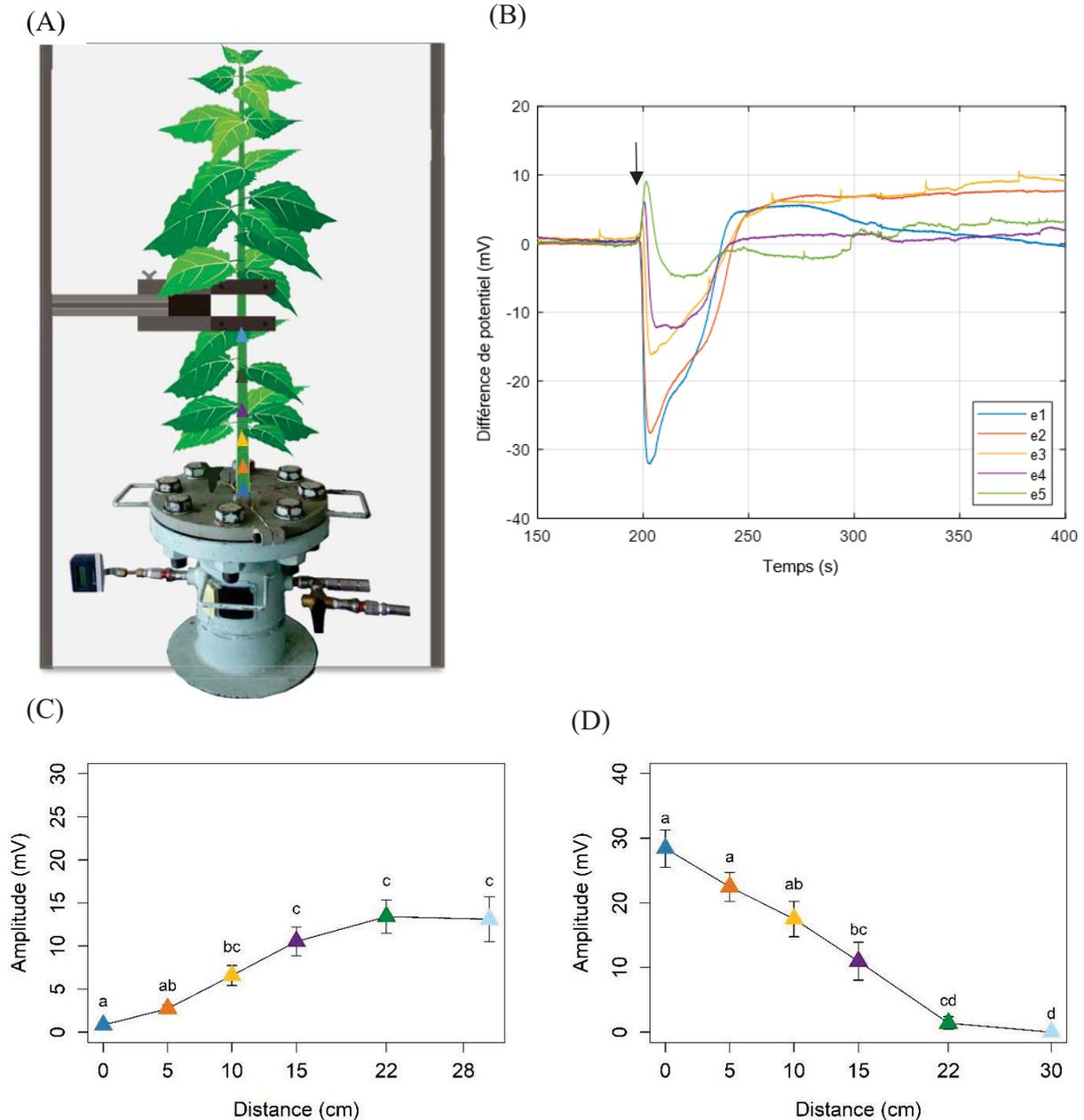


Figure 42 : Induction d'une onde de dépolarisation à travers la tige de peuplier par la mise sous pression du système racinaire. (A) Dispositif expérimental de mise sous pression des racines du peuplier, et positionnement des électrodes de mesures le long de la tige. (B) Exemple d'enregistrement à 5 électrodes de mesures de l'onde de dépolarisation induite par la mise sous pression du système racinaire indiquée par la flèche noire (à 1 bar en 10 secondes). (C) Valeurs moyennes \pm SE de l'amplitude de l'hyperpolarisation précédent le potentiel graduel en fonction de la distance, induite par la mise sous pression du système racinaire du peuplier (N=10), (tests de Kruskal et Wallis et tests de Dunn $p < 0,05$). (D) Valeurs moyennes \pm SE de l'amplitude de l'onde de dépolarisation en fonction de la distance, induite par la mise sous pression du système racinaire du peuplier (N=10), (tests de Kruskal et Wallis et tests de Dunn $p < 0,05$).

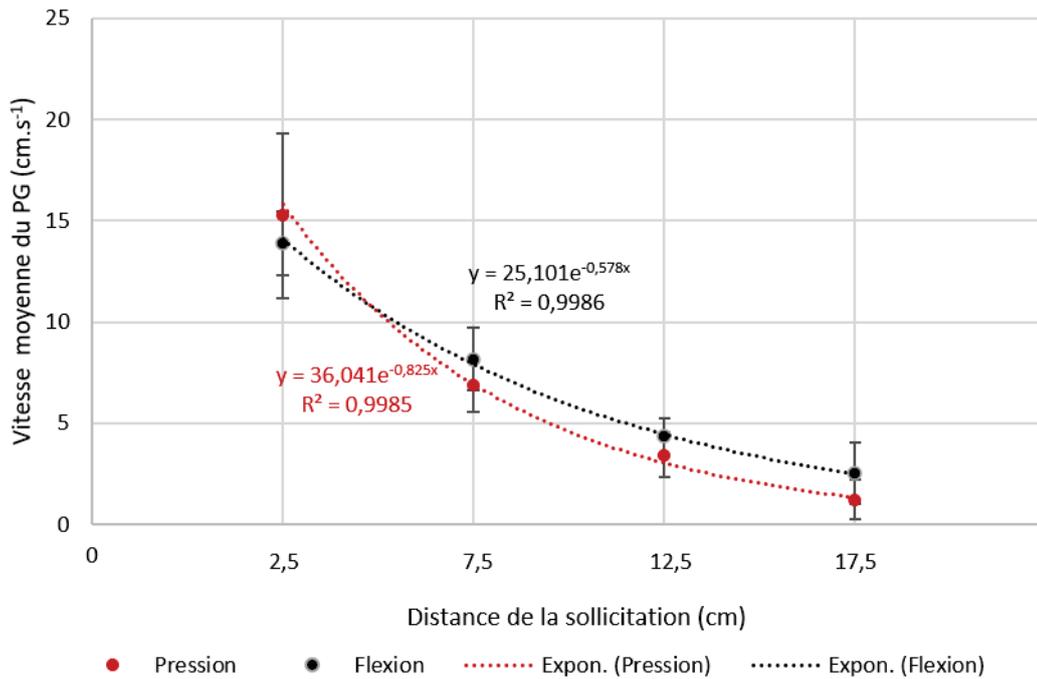


Figure 43 : Evolution de la vitesse moyenne du PG induit par (rouge) la mise sous pression du système racinaire et de 15 cm de tige du peuplier à environ 1 bar (N=10), (noir) la flexion apicale de la tige de peuplier selon les conditions standards (N=40).

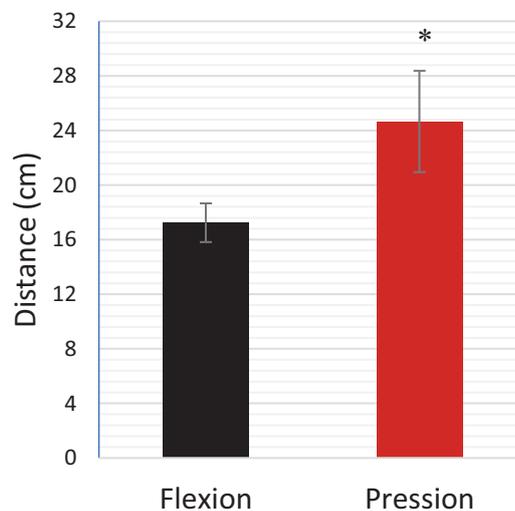


Figure 44 : Distance maximale théorique de propagation de l'onde de dépolarisation dans la tige de peuplier suite à la mise sous pression du système racinaire. '*' désigne une différence significative par rapport à la flexion (IC à 95%, Cf. Mat&Met Chapitre 1). (Pression, N=10 ; Flexion, N=40).

IV. Discussion

A. Propagation du PG – l’hypothèse du couplage hydro-électrique

Lors du chapitre 1, deux hypothèses de propagation du PG ont été proposées. Parmi elles, l’hypothèse du couplage hydro-électrique qui propose que l’onde de pression hydraulique générée par la flexion de la tige soit le vecteur du PG. La surpression générée dans les vaisseaux du xylème serait perçue par les cellules du parenchyme voisin par l’intermédiaire de canaux mécanosensibles, et serait responsable de la dépolarisation. Pour rendre compte de l’atténuation de l’amplitude du PG avec la distance, on suppose que l’onde de pression hydraulique présente elle aussi une atténuation de son amplitude. L’atténuation de la surpression se traduirait par une diminution du nombre de canaux mécanosensibles activés. L’amplitude de la dépolarisation du PG serait donc dépendante du nombre de canaux mécanosensibles activés. Ainsi, l’amplitude du PG serait proportionnelle à celle de l’onde de pression hydraulique.

Afin d’étayer l’hypothèse du couplage hydro-électrique, au cours de ce chapitre les caractéristiques du PG induit selon différentes modalités de flexion de tige de peuplier ont été étudiées pour les comparer à celles connues de l’onde de pression hydraulique.

1. Flexion et déflexion induisent un potentiel ‘graduel’

Une première expérience a consisté à caractériser la réponse électrique en décomposant la flexion en deux phases : la flexion de la tige contre le gabarit maintenu, puis après 4h, le retour à la position initiale de la tige. Cette expérience a mis en évidence qu’un PG est induit à chacune de ces phases. Les deux PG induits présentent des caractéristiques identiques, c’est-à-dire une amplitude moyenne d’environ 30 mV à proximité de la zone fléchie qui s’atténue linéairement avec la distance, une vitesse de propagation de l’ordre d’une vingtaine de centimètres par seconde qui s’atténue exponentiellement avec la distance, et une distance maximale théorique de propagation d’environ 17 cm. Ces caractéristiques sont similaires à celles du PG induit par une flexion transitoire. Ces résultats suggèrent que la flexion transitoire de tige constitue une succession rapide de deux sollicitations mécaniques n’induisant qu’une seule réponse électrique et non une addition, en termes d’amplitude, de deux réponses. Plus largement, ces résultats sont en adéquation avec les travaux de Rosana Lopez (2014) sur l’onde de pression hydraulique mesurée en réponse à une flexion de tige de scion de peuplier âgé de 2 ans. Dans ces expériences, les auteurs avaient décomposé la flexion en deux temps : la flexion de la tige et son retour en position initiale après 30 secondes de maintien. Les résultats montrent que chacune de ces phases induit une onde de pression hydraulique, l’une de signe opposé à l’autre (Lopez *et al.*, 2014).

2. La mise sous pression du système racinaire induit un potentiel 'graduel'

Afin de mimer la propagation d'une onde de pression hydraulique, nous avons mesuré l'effet de la mise sous pression du système racinaire et d'une section de 15 cm de tige sur la réponse électrique le long de la tige. La mise sous pression du système racinaire et d'une partie de la tige induit une onde de dépolarisation présentant des caractéristiques similaires à celles du PG induit par la flexion apicale standard en termes d'amplitude moyenne et de vitesse de propagation. En revanche, la distance maximale théorique de l'onde de dépolarisation induit par la mise sous pression est significativement plus importante par rapport au PG avec une valeur maximale estimée à 24,7 cm ($\pm 3,7$) contre 17,2 cm ($\pm 1,4$). Ainsi, cette expérience suggère qu'un PG peut être généré par la mise en pression du système racinaire. En effet, l'amplitude moyenne à proximité de la sollicitation est d'environ 30 mV puis elle s'atténue linéairement sur plus de 22 cm. La vitesse de propagation de l'onde de dépolarisation présente un ordre de grandeur similaire à celle du PG, à environ 15 cm.s⁻¹ à proximité de la sollicitation. Cette vitesse de propagation s'atténue de façon exponentielle avec un $R^2 = 0,99$, soit une valeur similaire au R^2 issu de la vitesse de propagation du PG induit par la flexion (Figure 43). Enfin, la distance maximale théorique de l'onde de dépolarisation induit par la mise sous pression est significativement plus importante par rapport au PG avec une valeur maximale estimée à 24,7 cm ($\pm 3,7$) contre 17,2 cm ($\pm 1,4$). Ainsi, cette expérience montre qu'un PG est induit suite à la mise sous pression du système racinaire.

Or, une expérience similaire a été menée avec une seule répétition dans le cadre des travaux sur la signalisation hydraulique. Sébastien Peraudeau (2011) montre que l'application d'une pression de 2 bars sur le système racinaire du scion d'un peuplier de 2 ans induit presque simultanément une variation positive de pression au sein du xylème. Dans cette expérience, le capteur de pression est situé sur la tige, à 97 cm du joint de la chambre à pression. L'amplitude de la variation de pression est alors de 0,5 bars (50 kPa). Ainsi, un même type de sollicitation est capable de déclencher à la fois une onde de pression hydraulique et un potentiel 'graduel'.

3. Relation entre amplitude et distance maximale de propagation du PG en fonction de l'intensité de la sollicitation

Les travaux de Lopez *et al.*, (2014) sur l'onde de pression hydraulique (OP) générée par la flexion montre que l'amplitude de l'OP ainsi que le volume d'eau expulsé sont positivement corrélés à l'intensité de la déformation appliquée à la flexion. De même, Peraudeau (2011) montre lors de son stage de Master 2 que l'amplitude de l'OP est aussi corrélée positivement à la vitesse de flexion. Dans l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique, il est attendu que l'amplitude du PG soit corrélée à l'amplitude de l'OP et donc que l'amplitude du PG soit

corrélée positivement à l'intensité de la flexion imposée à la tige (déformation et vitesse). En conséquence, la distance maximale de propagation devrait, elle aussi, être corrélée positivement à l'intensité de la sollicitation. Or les expériences présentées dans ce chapitre ne vérifient que que partiellement ces hypothèses de départ.

En effet, quels que soient les différents régimes de flexion appliqués (vitesse, intensité de déformation), l'amplitude du PG est similaire sur les 5 premiers centimètres après la zone fléchie. Cette absence de corrélation entre l'amplitude du PG et l'intensité de déformation contraste avec les résultats obtenus pour l'OP, et semble difficile à expliquer dans le cadre d'un couplage hydro-électrique. Ces résultats rappellent une partie de la loi du tout-ou-rien appliquée au PA. Cette loi stipule qu'un seuil d'intensité de stimulation doit être franchi pour générer une réponse, et que l'accentuation de l'intensité de la stimulation ne change pas l'amplitude de la réponse. Cependant aucun seuil n'a pu être mis en évidence dans nos travaux.

En revanche, à l'inverse du comportement de l'amplitude du PG, la distance maximale parcourue par le PG varie en fonction soit de l'intensité de la stimulation, soit de la vitesse de flexion. Ainsi, la flexion à 0,2% et la flexion lente induisent des distances théoriques maximales respectives à 12,3 et 11,6 cm quand les flexions plus rapides et intenses induisent un PG allant à 17 cm de distance (Figure 37D et Figure 39D). La distance maximale de propagation du PG semble donc dépendre de l'intensité de la sollicitation et donc, potentiellement de l'amplitude de l'OP et/ou du volume d'eau expulsé par la flexion. Cependant, ces résultats suggèrent l'existence d'un seuil d'intensité, marqué par les flexions à 1% et à vitesse moyenne, à partir duquel la distance maximale de propagation du PG n'augmente plus. Par contre, la mise sous pression du système racinaire et de 15 cm de tige induit un PG qui présente lui une distance maximale de propagation plus importante, estimée à 24 cm (Figure 44). Dans le cadre d'un couplage hydro-électrique, deux hypothèses non-exclusives peuvent expliquer cette différence de distance maximale entre le PG induit par la flexion et celui induit par la mise sous pression : (i) l'onde de pression générée par la mise sous pression présente une amplitude plus importante que celle induite par la flexion standard, (ii) le volume de tige et racine sollicité par la mise sous pression constitue un plus grand volume d'eau mobilisable et expulsé que le volume d'eau d'une flexion standard.

Pour tester si le volume de tissus sollicité joue un rôle dans la distance de propagation du PG, une expérience se proposant de faire varier la longueur de tige fléchie a donc été réalisée. Lors de la flexion standard, ce sont 12 cm de tige qui sont sollicités. Alors qu'une flexion de 6 cm de tige induit un PG similaire à la flexion standard, la flexion de la tige sur une longueur de

21 cm induit un PG dont la distance maximale de propagation est significativement plus importante que celle du PG généré par la flexion standard, il est estimé à 22,6 cm (Figure 41B).

Pris ensemble, ces résultats suggèrent que la distance maximale de propagation du PG pourraient dépendre non seulement de l'intensité de la flexion (déformation, vitesse) mais aussi du volume de tissus sollicités (qui correspondrait à un volume d'eau).

4. La vitesse de propagation du potentiel 'graduel' correspond à celle d'un signal hydraulique

Les différents types de signaux chimiques, électriques et hydrauliques ne diffèrent pas uniquement par leur nature mais aussi par leur vitesse de propagation. La vitesse moyenne de propagation du PG est de l'ordre de $15 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ à proximité de la zone sollicitée (flexion et pression). Dans la littérature (revue de Huber et Bauerle, 2016), cet ordre de grandeur correspond à la vitesse de propagation d'un signal hydraulique (Figure 45).

Par contre, la particularité du PG est une vitesse de propagation non-constante qui présente une atténuation exponentielle (Figure Pression/Flexion avec $R=0,99$). Là encore, pour faire le lien avec l'onde de pression hydraulique, il faudrait pouvoir mesurer l'amplitude de l'OP en plusieurs points de la tige, ce qui n'a pas été réalisé. Toutefois, comme suggéré dans le chapitre 1, l'énergie de cette onde de pression pourrait diffuser latéralement à travers les ponctuations des vaisseaux et au niveau des branchements des pétioles de feuilles et donc diminuer le long de la tige.

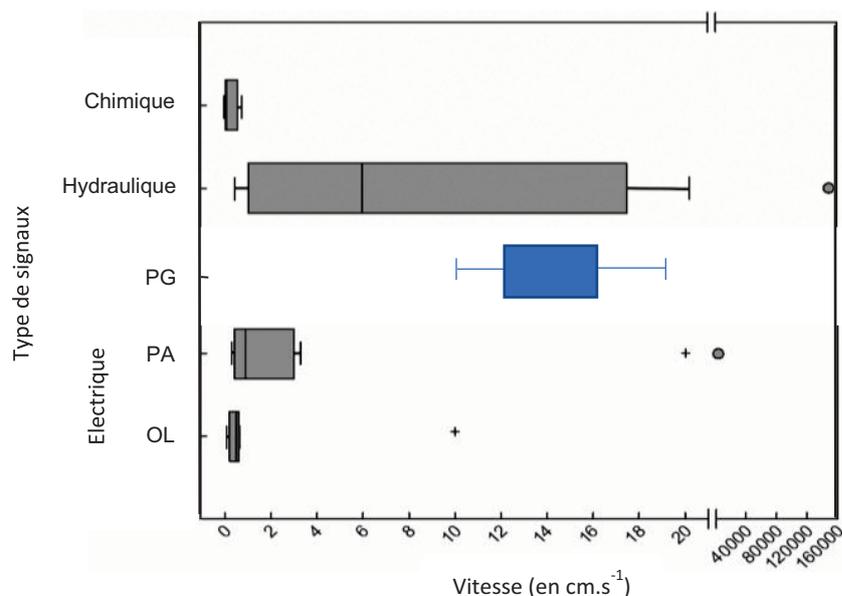


Figure 45 : Gammes de vitesse de propagation (et erreurs standards) des différents types de signaux chez les plantes, signaux chimiques, hydrauliques, le potentiel 'graduel' (PG) et électriques (potentiels d'action et onde lente). La vitesse du PG correspond à la vitesse de propagation

moyenne entre 0 et 5, calculée à partir des flexions standard apicales et basales. Les symboles plus représentent les valeurs aberrantes du box plot. Les points de données $>4000 \text{ cm s}^{-1}$ n'ont pas été inclus dans les statistiques du boxplot, mais sont représentés sur le graphique par des cercles. Notez la rupture de l'axe des abscisses afin d'accommoder la gamme de points de données. Adaptée de Huber et Bauerle 2016.

B. Conclusion

Ce chapitre visait à explorer l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique expliquant la nature du PG induit par la flexion de tige. Dans cet objectif, différentes expériences ont été réalisées. Ainsi, il a été montré qu'à l'instar de l'onde de pression hydraulique se propageant dans la tige suite à une flexion, la flexion comme la déflexion de la tige de peuplier induit un PG. De plus, les vitesses de propagation des signaux sont de même ordre de grandeur. Enfin, la mise sous pression du système racinaire et d'une partie de la tige, connue pour générer une onde de pression hydraulique, génère également un PG. Par contre, contrairement à l'onde de pression hydraulique, différentes modalités d'intensité de la flexion induisent un PG dont l'amplitude reste constante aux abords de la zone sollicitée. Seule la distance maximale de propagation du PG varie en fonction de l'intensité de la flexion et le volume de tige sollicitée. Ces résultats, pris dans leur ensemble, confortent pour certains points l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique mais montrent que cette relation ne suit pas une loi dose-réponse simple. Ces données ouvrent de nombreuses perspectives et hypothèse de travail qui seront discutées dans la discussion générale.

Alors que les deux premiers chapitres ont permis de mettre en évidence et de caractériser finement la réponse électrique générée par la flexion de la tige de peuplier, les travaux présentés dans le prochain visent à mettre en évidence une réponse moléculaire suite à une flexion de la tige et son lien possible avec la réponse électrique se propageant dans la tige. Dans ce but, une analyse transcriptionnelle par RNA seq a été réalisée à différents niveaux de la tige de peuplier après flexion après flexion de celle-ci ou après brûlure d'une feuille.

Chapitre 3 : Signalisation électrique et régulation de gènes

I. Introduction

La sollicitation mécanique d'une plante entraîne une réponse locale avec notamment une modification de la croissance secondaire (modification de l'activité cambiale), et potentiellement une réponse à distance avec une modification de la croissance primaire par des modifications dans les processus d'élongation et de division cellulaire (méristèmes caulinaires). Cette réponse à distance suggère le transfert de l'information depuis la zone sollicitée. La nature du vecteur de l'information est inconnue à ce jour, mais plusieurs hypothèses sont formulées dans la littérature. Lors des chapitres 1 et 2, une étude a mis en évidence la propagation rapide d'un potentiel graduel induit par la flexion d'une tige de peuplier. La distance maximale de propagation du PG est comprise entre 10 et 25 cm et est dépendante de l'intensité de la sollicitation. Ainsi, si le PG constitue le vecteur de l'information mécanoperçue induisant une réponse biologique, il transmet cette information sur une distance limitée. En 2014, Tixier *et al.* ont étudié l'expression de plusieurs gènes candidats dans l'apex de peuplier en réponse à une flexion appliquée sur un segment basal de la tige et à moyenne intensité (déformation à $\approx 1\%$, vitesse de flexion moyenne – lente). Aucune régulation de l'expression de ces gènes cibles n'avait été observée. Plusieurs hypothèses avaient alors été émises : soient les gènes cibles choisis ne sont pas impliqués dans la réponse biologique examinée à distance, soit le signal longue distance n'atteint pas l'apex dans ces conditions. Connaissant maintenant l'existence du potentiel graduel et sa distance de propagation, il est possible que, dans ces conditions (arbres de 45 cm, fléchis dans une partie basse de la tige à une distance de l'apex de plus de 20 cm), le PG n'ait pas atteint l'apex. Toutefois, est-il possible de démontrer que le PG déclenche une réponse biologique à distance de la zone sollicitée ?

Afin de tester cette hypothèse, une approche transcriptomique a été menée selon plusieurs modalités. Une première expérience a permis d'étudier la régulation transcriptionnelle dans la tige en réponse à une flexion apicale standard (Cf. Chapitre 1) en deux points de la tige : en A1, zone située à 5 cm de la zone sollicitée, choisie pour le fait qu'elle est traversée par un PG présentant une forte amplitude et en A2, zone située dans une région de la tige non atteinte par le PG.

Une seconde expérience a permis d'étudier la réponse transcriptionnelle à l'apex du peuplier en réponse à une flexion basale de la tige, la flexion basale permettant de prélever l'apex sans qu'il ait été déplacé lors de l'application de la flexion (contrairement à une flexion apicale). Dans ce cas, le choix a été d'appliquer la flexion à 10 cm de l'apex, distance permettant en théorie au PG d'atteindre l'apex.

Enfin, la dernière expérience a eu pour but d'étudier la réponse transcriptionnelle à distance (fragment de tige intermédiaire et apex de la tige) en réponse à la brûlure d'une feuille. Cette expérience visait, à la fois, à mettre en évidence une réponse déclenchée par la propagation d'une onde lente chez le peuplier, mais aussi de comparer les voies de signalisation déclenchées par ces deux types de signaux électriques.

II. Matériels et méthodes

A. Matériel végétal et conditions de culture

Le matériel végétal (*Populus tremula x alba*) et les conditions de cultures utilisées pour ces expériences sont identiques à ceux décrits dans le Matériel et méthodes du Chapitre 1.

B. Traitements de flexion et échantillonnage

1. Traitement en flexion apicale de la tige pour des prélèvements en-dessous de la zone fléchie

Quatorze peupliers issus de culture en hydroponie de 60 à 70 cm ont été sélectionnés pour l'expérience. Ils ont été placés par paire dans la cage de Faraday. Le système racinaire de chaque peuplier est suspendu dans des bacs de solution nutritive différents. Des électrodes de mesures sont insérées dans la tige de chaque arbre selon la modalité de la flexion apicale standard (Cf. Chapitre 1). Cinq jours après cette installation en cage de Faraday, un peuplier est fléchi, l'autre sert de témoin. Les prélèvements sont réalisés 30 minutes après la flexion de la tige, en commençant par l'arbre sollicité. Pour chaque arbre, deux prélèvements de 1,5 cm de tige sont réalisés : le prélèvement A1 à environ 4-5 cm de la zone fléchie (entre e2 et e3, à proximité de cette dernière), et le prélèvement A2 à environ 27 cm de la zone fléchie (Figure 46). Ces deux prélèvements permettent de distinguer sur la section de tige non déformée, une partie où le PG s'est propagé (A1), et une partie où il ne s'est pas propagé (A2).

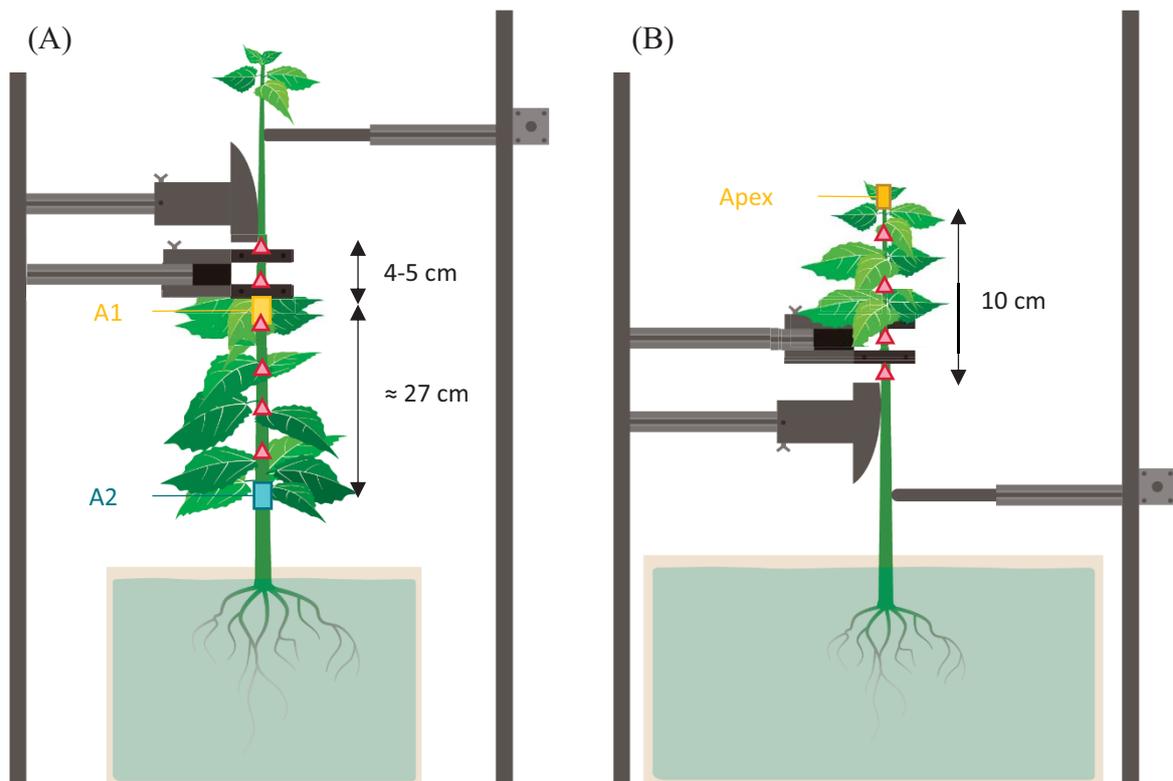


Figure 46 : Dispositifs expérimentaux pour l'étude de la réponse transcriptionnelle à distance de la zone fléchie chez le peuplier. (A) Une flexion apicale standard est appliquée. Le rectangle jaune représente le prélèvement A1, localisé à environ 4-5 cm de la zone fléchie. Le rectangle bleu représente le prélèvement A2, localisé à environ 27 cm de la zone fléchie. Les électrodes de mesures sont symbolisées en roses. (B) Une flexion basale est appliquée sur une portion jeune de tige. Le rectangle jaune symbolise le prélèvement à l'apex, 10 cm au-dessus de la zone fléchie. Les triangles roses symbolisent les électrodes de mesures. Dans les 2 cas, les prélèvements sont réalisés 30 min après la flexion.

2. Traitement en flexion basale de la tige pour un prélèvement de l'apex

Cette expérience a été réalisée à partir de 14 peupliers cultivés en hydroponie d'environ 45 cm de hauteur. Les peupliers sont placés par paire dans la cage de Faraday, chacun avec son système racinaire dans un bac de solution nutritive distinct. La flexion basale est paramétrée de manière à fléchir la tige 10 cm en-dessous de l'apex, et 4 électrodes de mesures sont insérées dans la tige (Figure 46) des arbres sollicités et des arbres témoins. Cinq jours après cette installation, le peuplier est fléchi, et l'apex est prélevé 30 minutes après.

C. Application de la brûlure et échantillonnage

Cette expérience a été réalisée à partir de 14 peupliers cultivés en hydroponie de taille comprise entre 65 et 80 cm. Ils ont été installés dans la cage de Faraday par paire sollicité/témoin. Des électrodes de mesures sont insérées dans la tige selon la Figure. Cinq jours après cette installation, la feuille située à 10 cm de l'apex est brûlée pendant 3 à 4 secondes à l'aide d'une allumette (Voir protocole brûlure chapitre 1). Après 30 minutes, deux prélèvements

sont effectués : Z1, correspondant à l'apex de l'arbre ; et Z2, correspondant à 1,5 cm de tige situé à l'insertion du pétiole de la feuille brûlée (Figure 47). La distance entre la zone brûlée et Z2 est de 15 cm environ, dont 8 cm de pétiole et environ 7 cm de limbe.

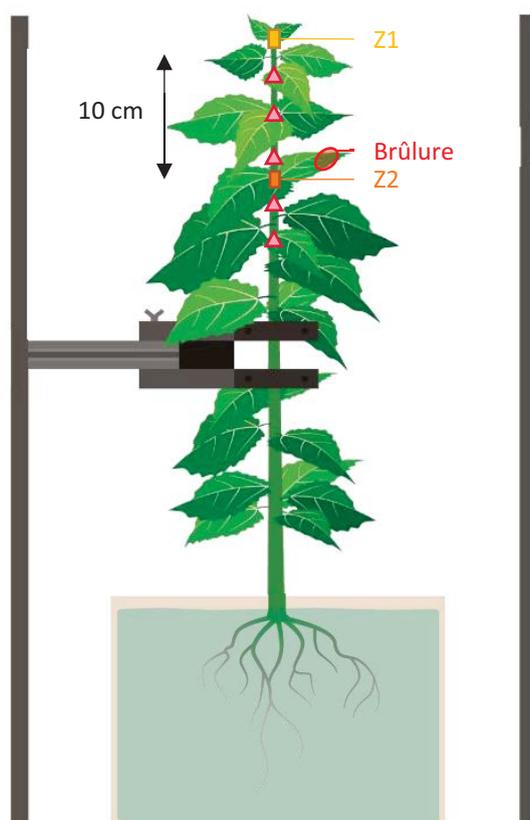


Figure 47 : Dispositif expérimental pour l'étude de la réponse transcriptionnelle suite à la brûlure d'une feuille chez le peuplier. La feuille brûlée est entourée en rouge. Les triangles roses représentent les électrodes de mesures insérées dans la tige. Le rectangle jaune représente le prélèvement Z1 à l'apex 30 minutes après la sollicitation. Le rectangle orange le prélèvement Z2 de la tige, localisé au niveau de l'insertion du pétiole de la feuille brûlée, 10 cm en-dessous de l'apex (Z1).

B. Extraction d'ARN et séquençage

Les ARN totaux ont été extraits à partir d'environ 150 mg de poudre des différents échantillons obtenue par broyage dans l'azote liquide, à l'aide d'un tampon d'extraction au bromure d'hexadécyl-triméthyl-ammonium, comme décrit par Chang *et al.*, (1993), puis traités avec la DNase RQ1 sans RNase (Promega). L'ARN a été quantifié par spectrophotométrie et vérifié par électrophorèse sur gel d'agarose. Pour chaque traitement, cinq échantillons provenant de cinq plantes différentes (réplicats biologiques) présentant les meilleures valeurs de qualité ont été envoyés à la plateforme GeT-PlaGe de GenoToul à Toulouse. Le séquençage de l'ARN a été effectué selon la procédure standard d'Illumina HiSeq 2500 pour la préparation des bibliothèques et le séquençage multiplex. Les ARN entiers ont été rétrotranscrits, fragmentés de façon aléatoire, puis insérés dans des bibliothèques et séquencés à l'aide d'Illumina NovaSe. Les

lectures sont réalisées en 2 x 150 pb avec la chimie des flowcells S4 (en moyenne 70 millions de lectures par échantillon).

C. Analyse des données RNA seq

1. Nettoyage des lectures courtes brutes

Pour chaque lecture courte (short read), toutes les séquences ont été filtrées à l'aide d'une procédure de traitement des données à haut débit mise en œuvre sur le cluster de calcul parallèle Genotoul (INRA Toulouse, France). En bref, les lectures courtes ont été filtrées selon les critères suivants : les vecteurs/primers ont été supprimés à l'aide du programme TagCleaner 0.16 (Schmieder *et al.*, 2010); les nucléotides anonymes (N) ont été éliminés, en ne conservant que les informations de la plus longue séquence sans N ; les poly-A ont été supprimés des extrémités des lectures courtes; les lectures courtes de moins de 60 pb ont été éliminées (< 1 %); les lectures courtes de faible complexité, basées sur une compressibilité de Lempel-Ziv-Welch (Welch, 1984) supérieure à 30 %, ont été filtrées; les lectures courtes provenant prétendument de séquences contaminantes (SeqTrimNext ; Falgueras *et al.*, 2010) ont été éliminées, et enfin, les lectures courtes ont été réappariées pour la cartographie ultérieure.

La cartographie sur les 73013 transcrits de référence du transcriptome de *Populus trichocarpa* (Tuskan *et al.*, 2004) a été réalisée à l'aide du programme BWA 0.7.12 (Li et Durbin, 2010), paramétré avec une divergence maximale de 1 %.

2. Analyse de l'expression différentielle des gènes

Les résultats des comptages cartographiques par transcrit et par échantillon ont été testés pour la détection des DEGs (Gènes différentiellement exprimés) à l'aide du programme DESeq2 (Love *et al.*, 2014), version 1.10.1 dans l'environnement R (R core Team 2016, version 3.3). Le modèle statistique a pris en compte le traitement (fléchi, témoin) et le passage d'un PG et/ou d'une onde lente. Une transformation stabilisatrice de la variance (VST) a été appliquée aux comptes de cartographie pour normaliser leur distribution. Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée à l'aide du programme FactoMineR (Lê *et al.*, 2008 ; Josse et Husson, 2016 ; version 1.32) sur tous les échantillons et tous les transcrits en utilisant les comptes VST. La liste de DEGs générée par DESeq2 a été contrôlée à un taux de faux-positif (FDR ; (Benjamini et Hochberg, 1995), pour limiter la probabilité à un gène faussement positif au maximum par liste de gènes régulés à la hausse ou à la baisse. Ainsi dans le cas du traitement brûlure, de la flexion apicale en A2, et de la flexion basale, le nombre de faux-positif dans la liste de DEG est limité à 1, équivalent à un FDR inférieur à 0,05%. Dans le cas de la flexion

apicale en A1, le nombre de faux-positifs dans la liste de DEG est de 20 ; équivalent à un FDR de 0,39%.

3. Analyse en gène ontologie

L'enrichissement en termes GO est réalisé en utilisant l'outil en ligne AgriGO (<http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/>). Une analyse PAGE (Parametric Analysis of Gene Set Enrichment) a été réalisée en utilisant l'enrichissement des termes GO avec les trois ontologies différentes disponibles (Processus biologique (BP) ; Fonction moléculaire (MF) ; Composant cellulaire (CC)) selon la méthode d'ajustement multi-test de Bonferroni (5%).

D. Mesure mécanique : module de Young de la tige et de l'apex du peuplier

Le module de Young a été mesuré sur des segments de tige issus de peuplier cultivés en hydroponie. Des segments de 20 cm de long pour la tige, 7 cm de long à proximité de l'apex, et 5 cm à l'apex, ont subi une flexion 3 points. Le dispositif utilisé pour cette expérimentation est une presse mécanique de laboratoire INSTRON 5565 munie d'une cellule de force de capacité 1kN. Les essais de flexion se déroulent en trois temps : i) la mise en contact des appuis sur la tige ii) l'application de trois cycles préliminaires de charge-décharge dans le domaine élastique, iii) une montée en charge jusqu'à la rupture.

Le logiciel associé à l'INSTRON 5565 enregistre le déplacement de la traverse et la force appliquée à l'échantillon. Ces données sont ensuite traitées par un code Matlab développé par Benjamin Niez (à ce moment-là doctorant au laboratoire). En ajustant la partie linéaire de la courbe avec une fonction linéaire, le module de Young est mesuré.

III. Réponses transcriptionnelles de la tige en A1 et A2 induite par la flexion

A. Analyse générale

1. Analyse de la réponse électrophysiologique en A1 et A2

Lors de l'étude de la réponse transcriptionnelle en réponse à une flexion apicale de la tige de peuplier, nous avons appliqué une flexion apicale standard identique à celle décrite dans le chapitre 1. Afin de travailler dans les mêmes conditions lors des 5 répétitions biologiques menées successivement, les flexions et mesures électrophysiologiques ont été programmées 5 jours après l'installation dans la cage de Faraday de chaque peuplier. Les données d'électrophysiologie confirment qu'un PG est induit avec des caractéristiques d'amplitude et de distance de propagation similaires à ce qui a pu être observé au chapitre 1. Les échantillons A1 ont été prélevés dans une section de tige comprise entre e2 et e3, 30 minutes après le passage

d'un PG d'une amplitude d'environ 25 mV (Figure 48). Comme attendu, aucun PG n'a atteint la zone où ont été prélevés les échantillons A2 dans la section de tige distante de 31 cm de la zone sollicitée (Figure 48).

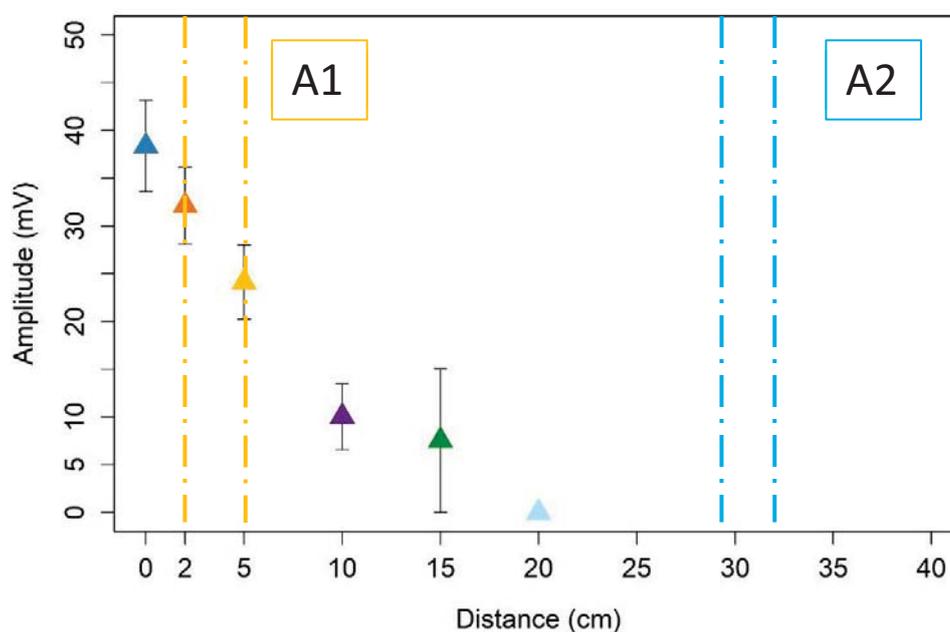


Figure 48 : Evolution de l'amplitude du PG induit par la flexion apicale de la tige de peuplier lors de l'expérience RNA seq. A1 correspond à la zone d'échantillonnage à travers laquelle le PG s'est propagé. A2 correspond à la zone d'échantillonnage qui n'est pas atteinte par le PG.

2. Analyse générale de la réponse transcriptionnelle en A1 et A2

Trente minutes après une flexion apicale de la tige de peuplier, de nombreux gènes sont régulés en A1. En effet, ce sont 5066 transcrits qui sont différentiellement exprimés par rapport aux témoins, soit 6.9% du transcriptome du peuplier (*Populus trichocarpa* V3.0). Cela correspond à 3136 gènes différentiellement exprimés (DEG), soit 7.6% du génome. Parmi les 3136 DEGs, 1621 sont régulés positivement et 1515 sont régulés négativement (Figure 49). Le nombre de faux positifs admis dans la liste de transcrits est de 20 (calculé selon la méthode Dseq2), le taux de faux positif FDR est donc de 0,39 %.

En revanche, seulement 21 transcrits correspondant à 20 gènes sont régulés dans la zone (A2) en réponse à la flexion apicale, soit 0,05% du génome (Figure 49) et 0,02% du transcriptome (FDR = 0,04%, pour 1 faux positif sur les 21 transcrits). Parmi ces 20 gènes, 11 sont surexprimés par rapport au peupliers non fléchis, et 9 sont réprimés. Ces résultats montrent que le transcriptome de peuplier est très peu régulé dans une zone où le potentiel graduel ne s'est pas propagé.

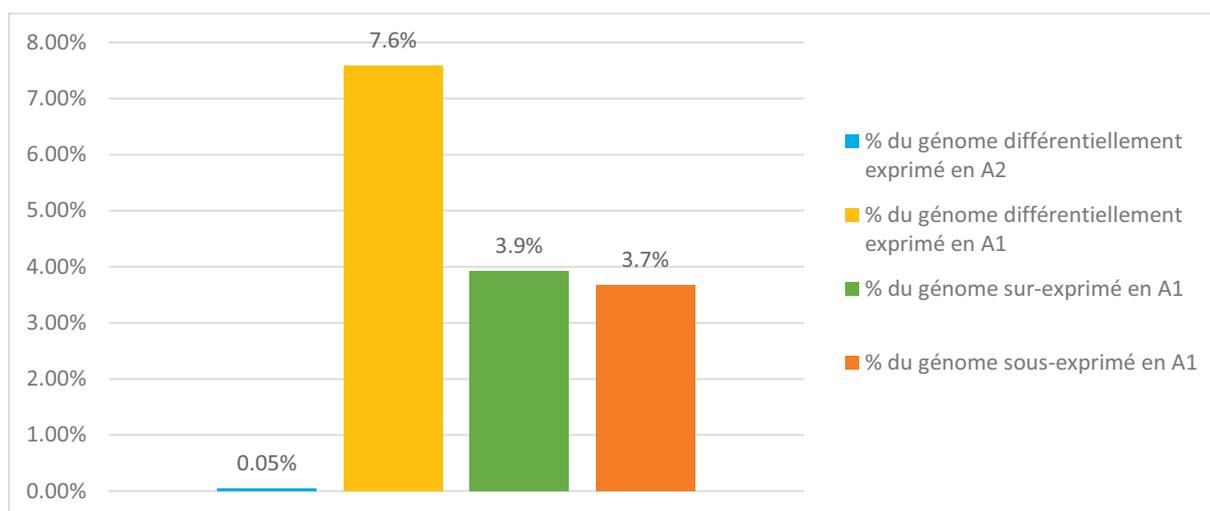


Figure 49 : Pourcentage du génome régulé 30 minutes après la flexion de la tige de peuplier en A1 et en A2. En A1, le pourcentage de gènes surexprimés est indiqué en vert, et le pourcentage de gènes réprimés est indiqué en orange.

B. Enrichissement GO des gènes régulés par la flexion en A1

Afin de clarifier le rôle des gènes modulés à distance en réponse à la flexion de la tige en A1, zone où le PG s'est propagé, une analyse PAGE (Parametric Analysis of Gene Set Enrichment) a été réalisée en utilisant l'enrichissement des termes GO avec les trois ontologies différentes disponibles (Processus biologique (BP) ; Fonction moléculaire (MF) ; Composant cellulaire (CC)) et calculée avec AgriGO. Suivant la méthode d'ajustement multi-test de Bonferroni (5%), 19 termes GO significatifs sont relevés (Tableau 3). Les quatre premiers termes GO, présentant les Z-score les plus élevés, se rassemblent dans une même thématique de la mort cellulaire, et recouvrent dans l'ensemble une quarantaine de gènes. Les gènes liés au cytosquelette sont eux représentés parmi plusieurs termes GO (les numéros : 5 à 7, 11, 18 et 19) présentant un Z-score les plus négatifs. Les termes GO rassemblant le plus de gènes sont les termes concernant des facteurs de transcription : « nucleic acid binding » avec 290 gènes, et « DNA binding » avec 188 gènes. Parmi les termes GO présentant le taux de significativité les plus importants, le terme « Copper ion binding » est en tête (FDR à $7,4^{E-11}$), recouvrant 30 gènes et correspondant aussi au groupe le plus réprimé avec un Z-score à -7,2. C'est à partir de ce dernier terme GO que nous allons débiter une analyse plus détaillée de la liste de DEGs.

Tableau 3 : Enrichissements en termes GO pour la liste de transcrits de peupliers exprimés différentiellement en A1.

No	GO Term	Number *	Description	Z-score	Mean	FDR **
1	GO:0012501	41	programmed cell death	4	0.7	0.012
2	GO:0006915	41	apoptosis	4	0.7	0.012
3	GO:0016265	42	death	3.9	0.67	0.02
4	GO:0008219	42	cell death	3.9	0.67	0.02
5	GO:0051258	10	protein polymerization	-4.2	-1.8	0.0048
6	GO:0043623	10	cellular protein complex assembly	-4.2	-1.8	0.0048
7	GO:0007017	26	microtubule-based process	-5.3	-1.4	2.30E-05
8	GO:0043531	38	ADP binding	4.4	0.82	0.0015
9	GO:0003677	188	DNA binding	4.1	0.28	0.0058
10	GO:0003676	290	nucleic acid binding	3.6	0.17	0.046
11	GO:0003777	17	microtubule motor activity	-3.5	-1.2	0.05
12	GO:0016757	71	transferase activity, transferring glycosyl groups	-3.5	-0.64	0.048
13	GO:0003924	16	GTPase activity	-3.6	-1.3	0.035
14	GO:0016741	36	transferase activity, transferring one-carbon groups	-3.8	-0.91	0.021
15	GO:0008168	36	methyltransferase activity	-3.8	-0.91	0.021
16	GO:0008194	19	UDP-glycosyltransferase activity	-4.1	-1.3	0.0057
17	GO:0005507	30	copper ion binding	-7.2	-1.8	7.40E-11
18	GO:0044430	13	cytoskeletal part	-3.8	-1.4	0.0045
19	GO:0005856	16	cytoskeleton	-4.1	-1.4	0.0012

* Number : nombre de gènes avec ce terme GO.

**FDR : valeurs du test multiple de Bonferroni.

C. Régulation de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire par la flexion

L'étude du terme GO « Copper ion binding » pique mon intérêt car il correspond à la fois au terme le plus significatif et présentant le Z-score le plus négatif, c'est-à-dire qu'il couvre des gènes fortement réprimés. Parmi les gènes associés à ce terme GO, on retrouve de nombreux gènes codant pour des laccases. Il n'est donc pas étonnant qu'en parcourant les gènes les plus réprimés, plusieurs transcrits sont identifiés codant pour des laccases, des enzymes dont l'activité catalytique dépend de la liaison à des ions Cu^{2+} (cofacteur). Ces gènes codant pour les laccases ont plusieurs annotations sur le site d'Uniprot, dont « Lignin catabolic process ». Les laccases sont connues pour être impliquées dans la voie de biosynthèse de la paroi secondaire, ce qui nous amène à nous interroger sur une possible régulation de cette voie.

1. Les facteurs de transcriptions de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire

La formation de la paroi secondaire a principalement été étudiée dans les trachéides et dans les fibres du xylème primaire et secondaire. Chez le peuplier, les composants principaux de la paroi secondaire sont la cellulose (48%), l'hémicellulose (xylanes (24%) et glucomannanes (3%)) et la lignine (21%) (Zhong et Ye, 2015). Ces dernières années, des études génétiques et moléculaires, majoritairement menées sur *Arabidopsis thaliana*, ont révélé que la biosynthèse de la paroi secondaire est contrôlée par un réseau de régulation organisé en trois niveaux (Figure 50). Ces réseaux impliquent des facteurs de transcription de la famille des NACs (NAM, ATAF et CUC2) au niveau 1, et de la famille des MYBs aux niveaux 2 et 3 (Jin Zhang *et al.*, 2018). Ces NACs sont des régulateurs clés dans divers types de cellules. NST3, également appelée SND1, régule de manière redondante avec NST1 la formation de la paroi cellulaire secondaire dans les fibres (Mitsuda *et al.*, 2007), et NST1 et NST2 activent le même processus dans l'endothèque des anthères. Chez *Arabidopsis*, MYB46 et MYB83 sont eux-mêmes les cibles en aval des protéines NACs, constituant la deuxième couche de régulation du réseau, régulant de manière redondante la formation de la paroi cellulaire secondaire (Ko *et al.*, 2014; McCarthy *et al.*, 2009). MYB83 est un facteur de transcription qui agit comme un commutateur moléculaire dans le réseau transcriptionnel médié par NAC012/SND1, régulant la biosynthèse des parois secondaires. Il est directement activé par NAC012/SND1 et ses homologues proches, notamment NAC043/NST1, NAC066/NST2, NAC101/VND6 et NAC030/VND7. Une étude exhaustive des éléments cis et des études d'interaction Protéines/ADN ont permis d'identifier les cibles directes de MYB46/83. On retrouve notamment d'autres facteurs MYB correspondant au troisième niveau de régulation du réseau contrôlant la biosynthèse de la lignine mais aussi de nombreux gènes codant des enzymes impliquées directement dans la synthèse de la cellulose (cellulose synthase), et la synthèse des xylanes (S. Wang *et al.*, 2020).

Afin de déterminer si une flexion de la tige réprime de manière plus générale plusieurs acteurs de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire, les gènes codant pour des FT de la famille des NAC et des MYB, orthologues de ceux identifiés chez *Arabidopsis*, ont été cherchés dans la liste des DEGs et sont symbolisés sur la Figure 50.

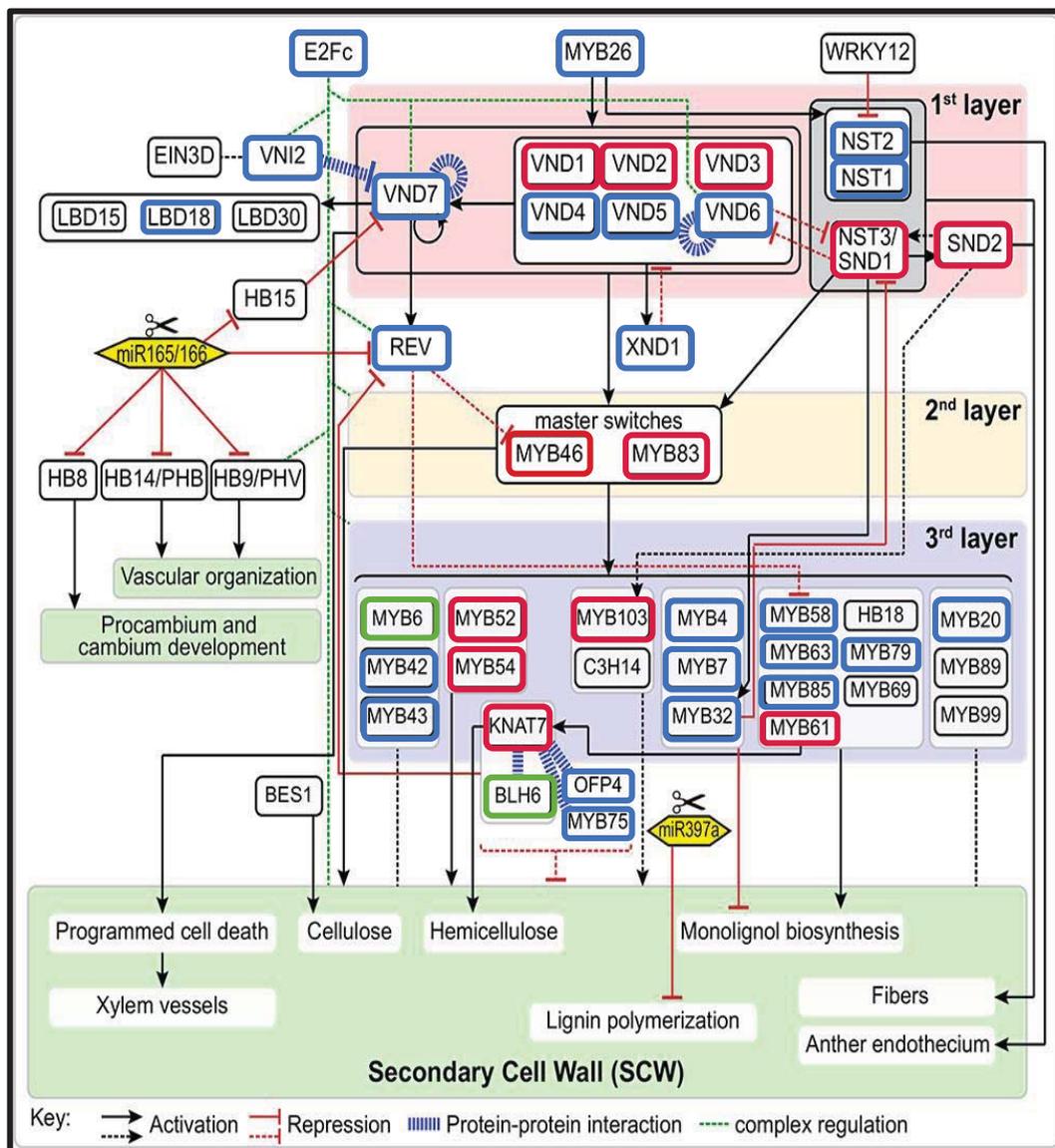


Figure 50 : Représentation schématique du réseau de régulation de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire (D'après Zhang *et al.*, 2018). Les facteurs de transcription dont les gènes sont réprimés en réponse à la flexion sont encadrés en rouge. En bleu sont encadrés les facteurs de transcriptions dont les gènes ne sont pas régulés par la flexion. En noir sont encadrés les facteurs de transcriptions dont aucun gène orthologue n'a été trouvé chez le peuplier. En vert sont encadrés les facteurs de transcriptions dont les gènes sont surexprimés en réponse à la flexion.

SND1 - Un élément central de la régulation de la biosynthèse de la paroi secondaire régulé négativement suite à la flexion de la tige (A1).

SND1 pour « secondary wall-associated NAC domain 1 protein » (AT1G32770) est un facteur de transcription de type NAC impliqué dans la biosynthèse des parois secondaires (Zhong *et al.*, 2006).

Il apparaît que Potri.001G448400, homologue de SND1, est régulé négativement suite à une flexion de la tige de peuplier (A1) avec un nombre de read moyen à 2301 et un Log2FC à -1.9 pour un p-value ajustée à 9.7×10^{-5} . Les deux identifiants GO associés à ce gène (GO:0003677-DNA binding ; GO:0006355-regulation of transcription, DNA-dependent) sont liés à la présence de domaines de fixation à l'ADN au niveau de la séquence prédite de la protéine. Le gène SND1 chez *Arabidopsis* présente une annotation plus complète dont l'identifiant « Biological process » 'plant-type secondary cell wall biogenesis'.

Niveau 2 du réseau de régulation – répression de MYB83 et MYB46

En ce qui concerne les facteurs de transcriptions impliqués dans le deuxième niveau de régulation, on retrouve dans nos données deux gènes homologues de MYB83 (AT3G08500), Potri.001G267300 et Potri.009G061500. Ces deux gènes sont régulés négativement suite à la flexion de la tige en A1. Ils codent respectivement pour des protéines de 327 acides aminés et 333 acides aminés présentant toutes les deux un domaine MYB. Deux homologues de MYB46 sont également identifiés dans la liste des DEGs. Les deux gènes, Potri.001G258700 et Potri.009G053900 sont réprimés en A1 suite à la flexion.

Chez *Arabidopsis*, MYB46 et MYB83 sont exprimés à la fois dans les vaisseaux et les fibres, et leur répression ou leur inhibition par ARN interférence entraîne une réduction importante de l'épaississement de la paroi secondaire dans les fibres et les vaisseaux et un phénotype concomitant de vaisseaux embolisés. Les mutations simultanées de MYB46 et MYB83 entraînent une perte de l'épaississement de la paroi secondaire dans les vaisseaux et un arrêt de la croissance de la plante au stade de plantule (McCarthy *et al.*, 2009).

2. La biosynthèse de la cellulose

La cellulose est le constituant principal de la paroi cellulaire à laquelle elle confère sa structure et ses propriétés mécaniques. La cellulose est un polysaccharide linéaire dont le motif répétitif est le cellobiose, constitué de deux molécules de glucose liées par une liaison osidique en β -1,4. La biosynthèse de la cellulose s'effectue au niveau de la membrane plasmique et est assurée par des celluloses synthases (CesAs) regroupées en complexe CSC (Cellulose Synthase Complex). Chez *Arabidopsis*, le complexe CSC, impliqué dans la biosynthèse de la cellulose pour la paroi secondaire, serait composé des protéines AtCesA4, AtCesA7 et AtCesA8 (B.

Zhang *et al.*, 2021). Chez le peuplier, deux complexes CSC sont isolés biochimiquement dans le xylème en cours de différenciation (Xi *et al.*, 2017). Dans la liste des DEGs, au moins 5 gènes codant pour des orthologues d'*AtCesA4*, 7 et 8 sont régulés négativement en réponse à la flexion. Une autre protéine est requise pour la formation de cellulose dans la paroi secondaire chez le peuplier, c'est KORRIGAN1. KORRIGAN est requise pour la formation de microfibrilles de cellulose. Impliquée dans l'assemblage de la paroi cellulaire pendant l'élongation cellulaire et la maturation de la plaque cellulaire dans la cytokinèse. Le gène *PtKOR1* (*Potri.003G15170*) est régulé négativement en A1 en réponse à la flexion.

Les Fasciclin-Like Arabinogalactan (FLAs) sont des glycoprotéines extracellulaires. Elles assument deux fonctions, un rôle structural par une organisation des polysaccharides de la paroi, et un rôle de signalisation, en interagissant dans la matrice extracellulaire et avec des RLKs (Receptor-like kinases). Récemment, une étude portant sur un mutant *fla16* d'*Arabidopsis* montre une réduction du niveau de cellulose (Liu *et al.*, 2020). FLA16 est localisée dans la membrane plasmique, ainsi qu'au niveau de la paroi secondaire. Chez le mutant *fla16*, les niveaux de transcrits des gènes *CesA4*, *A7* et *A8* sont réduits.

La recherche des gènes codant pour des FLAs chez *Populus trichocarpa* a permis d'identifier 35 gènes, divisés en quatre clades (Zang *et al.*, 2015). Dix gènes parmi eux sont régulés négativement en A1 en réponse à la flexion de la tige de peuplier (Tableau 4), dont *Potri.006G200300* nommé *PtrFLA7*, orthologue d'*AtFLA16*.

Tableau 4 : Transcrits codant pour des Fasciclins présents dans la liste des DEGs.

Transcrit	Nom de gène	Log2foldchange	Base mean	Clade	ATG proche
Potri.001G320800.1	<i>PtrFLA1</i>	-3.007828411	563.7544072	I	<i>AtFLA11</i> <i>AtFLA12</i>
Potri.010G244900.2	<i>PtrFLA11</i>	-2.547162978	792.0764397	II	<i>AtFLA15</i>
Potri.010G244900.1		-2.498315759	1780.276913		<i>AtFLA16</i>
Potri.012G127900.1	<i>PtrFLA14</i>	-3.393687643	2364.164469	I	<i>AtFLA11</i>
Potri.012G127900.2		-3.374721379	1343.060616		<i>AtFLA12</i>
Potri.014G162900.2	<i>PtrFLA21</i>	-1.503609131	545.1561401	I	<i>AtFLA7</i>
Potri.015G129400.1	<i>PtrFLA24</i>	-2.849992193	5577.781934	I	<i>AtFLA11</i>
Potri.016G088700.1	<i>PtrFLA26</i>	-2.34277074	1333.402875	I	<i>AtFLA12</i>
Potri.002G223300.1	<i>PtrFLA3</i>	-2.074744155	735.8341573	I	<i>AtFLA7</i>
Potri.006G129200.2	<i>PtrFLA6</i>	-2.61507255	966.2311883	I	<i>AtFLA11</i>
Potri.006G129200.1		-2.512881475	1528.655159		<i>AtFLA12</i>
Potri.006G200300.2	<i>PtrFLA7</i>	-0.766562895	2137.762575	II	<i>AtFLA17</i> <i>AtFLA18</i>
Potri.008G012400.3	<i>PtrFLA8</i>	-2.522505894	374.2073399	II	<i>AtFLA15</i> <i>AtFLA16</i>
Potri.008G012400.1		-2.495426802	798.0213582		
Potri.008G012400.2		-2.398661605	366.8401675		
Potri.008G012400.4		-2.330904161	388.8156074		

3. La biosynthèse des xylanes

Les xylanes sont des polymères d'hémicelluloses les plus abondants dans la paroi secondaire du bois. Les xylanes consistent en une chaîne linéaire de bêta-1-4-xylosyl (Xyl) résidus avec un fort degré de polymérisation. Les résidus Xyl peuvent être substitués par de l'acide glucuronique ou de l'arabinose sous forme pyranose. En fonction de cette substitution, ils peuvent prendre le nom de glucuronoxylane, glucuronoarabinoxylane et arabinoxylane. Les xylanes sont synthétisés dans l'appareil de Golgi et sont secrétés *via* des vésicules jusqu'à la paroi cellulaire. La biosynthèse de la chaîne en bêta-1,4-Xyl est réalisée par un complexe xylane synthase composé de protéines IRX9, IRX10, et IRX14, de la famille des GT47 (Zhong *et al.*, 2019). L'addition d'un acide glucuronique à la place d'un résidu Xyl est permise par les protéines GUX1 à 3 (GLUCORONIC ACID SUBSTITUTION OF XYLAN 1 à 3), et peut être par la suite méthylé par des glucuronoxylane méthyltransférases (GXMT1-2) pour produire du

xylane (méthyl)glucuronique. La biosynthèse de la séquence tétrasaccharidique terminale réduisant le xylane, β -D-Xylp-(1→3)- α -L-Rhap-(1→2)- α -D-GalpA-(1→4)-D-Xylp (Figure 51), requiert au moins trois protéines GTs : FRA8 (fragile fiber8), IRX8 et PARVUS. Le rôle de ces protéines est aussi démontré chez le peuplier (Zhong *et al.*, 2019). L'acétylation des résidus Xyl est catalysée par des acétyltransférases XOAT (xylane O-acétyltransférases).

Des orthologues *Populus Trichocarpa* des gènes codant pour l'ensemble des enzymes impliquées dans la biosynthèse des xylanes ont été recherchés *via* le site EnsemblPlant. Ils ont ensuite été recherchés sur la liste des DEGS, et présentent tous une régulation négative en A1 suite à la flexion de la tige de peuplier (Figure 51).

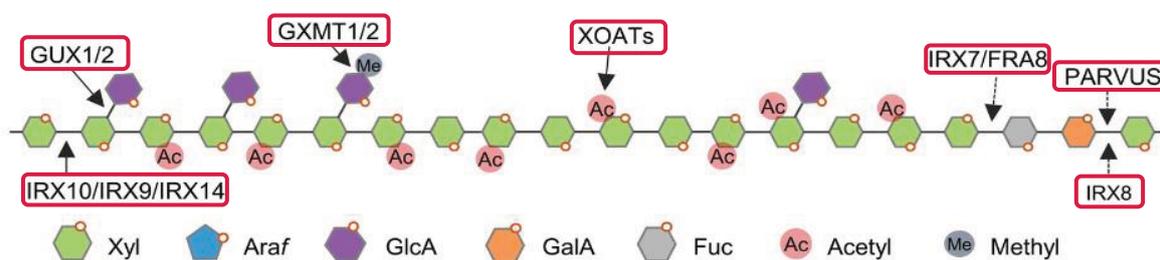


Figure 51 : Représentation de la biosynthèse des xylanes (hémicellulose) chez une dicotylédone. D'après Zhang *et al.*, (2021). Les gènes codant pour les enzymes encadrées en rouge sont identifiés et régulés négativement en A1 suite à la flexion de la tige de peuplier. IRX9, IRX10, IRX14 sont des xylosyltransférases et forment un complexe xylane synthase. Les GUX1-2 sont des glucuronyltransférases. Les GXMT sont des glucuronoxylane méthyltransférases. Les XOATs sont des acétyltransférases. FRA8, PARCUS et IRX8 sont impliquées dans la synthèse de la séquence terminale des xylanes.

4. La biosynthèse de la lignine

La biosynthèse de la lignine constitue un réseau complexe divisé en trois parties : i) la biosynthèse des monomères de la lignine, ii) le transport, iii) la polymérisation. Les monomères de la lignine sont produits dans le cytoplasme *via* les voies métaboliques de la phénylalanine et de la tyrosine, et sont transportés jusqu'à l'apoplasme où ils sont polymérisés par les peroxydases et les laccases dans la paroi secondaire (Figure 52). Quatorze enzymes ont été identifiées dans cette voie de biosynthèse (Figure 52). Les gènes codant pour 8 de ces enzymes ont été identifiés dans la liste des DEGs et sont réprimés en A1 suite à la flexion de la tige. Un gène codant pour une peroxydase (POD) est lui sur-exprimé suite à la flexion.

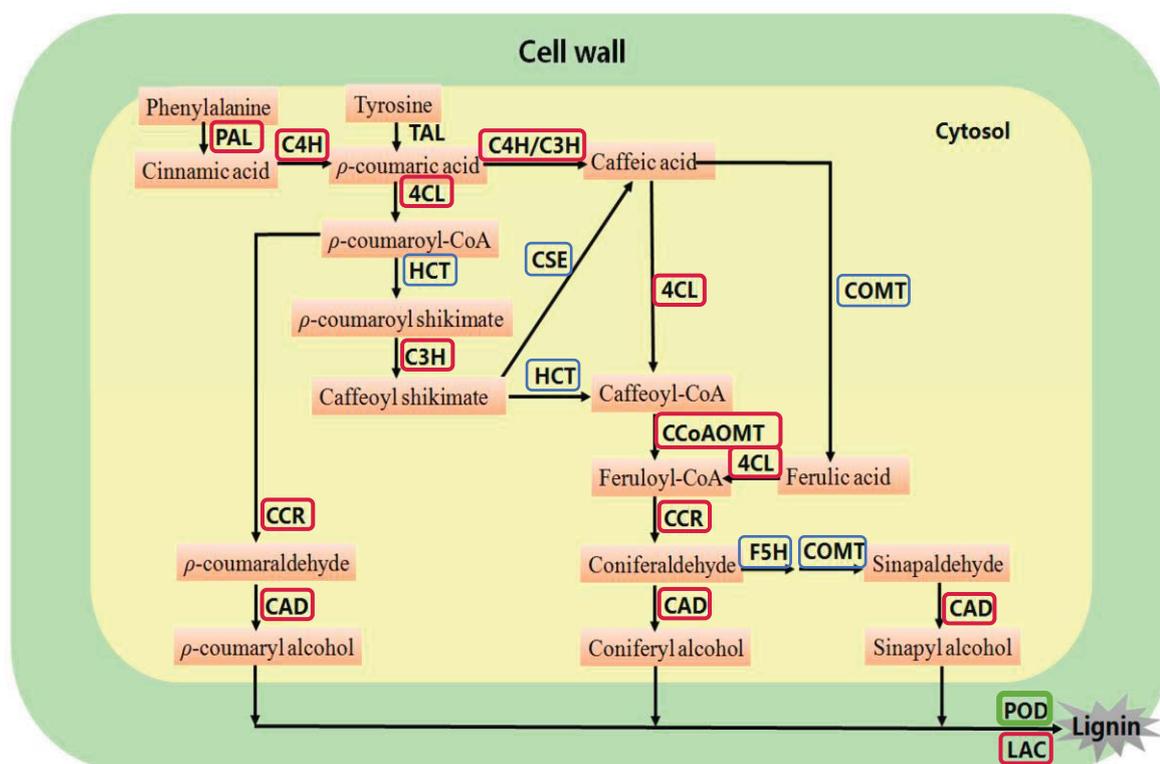


Figure 52 : La voie de biosynthèse de la lignine chez le peuplier et sa régulation en réponse à la flexion (en A1). D'après Zhang *et al.*, (2018). Les enzymes dont les gènes sont régulés négativement en réponse à la flexion sont encadrées en rouge. En vert sont encadrées les peroxydases (POD) pour la surexpression de l'une d'elle en réponse à la flexion. En bleu sont encadrées les enzymes dont les gènes ne sont pas régulés par la flexion. PAL, phenylalanine ammonia-lyase; TAL, tyrosine ammonia-lyase; C4H, cinnamate 4-hydroxylase; 4CL, 4-coumarate: CoA ligase; CCR, cinnamoyl-CoA reductase; HCT, hydroxycinnamoyl-CoA shikimate/Quinatehydroxycinnamoyltransferase; C3H, p-coumarate 3-hydroxylase; CCoAOMT, caffeoyl-CoA O-methyltransferase; F5H, ferulate 5-hydroxylase; CSE, caffeoyl shikimate esterase; COMT, caffeic acid O-methyltransferase; CAD, cinnamyl alcohol dehydrogenase; LAC, laccase.

De nombreuses laccases réprimées en A1 par la flexion de tige

Chez *Populus trichocarpa*, 49 gènes codant pour des laccases ont été identifiés *in silico* (Lu *et al.*, 2013). Ces gènes *PtrLacs* sont divisés en 6 clades. Une recherche des 49 gènes *LACs* dans la liste des DEGs permet d'identifier 17 *LACs* régulés négativement en A1 suite à la flexion de la tige (Tableau 5).

Potri.010G193100 correspond à *PtrLAC27* appartenant au clade 1. Une analyse RNA seq montre que *PtrLAC27* s'exprime très majoritairement dans le xylème de jeune tige. Lu et son équipe montrent, chez des lignées sur-exprimant *Ptr-MIR397*, que 19 *PtrLACS* sont réprimés. Ces mêmes lignées présentent aussi une réduction de l'activité enzymatique des laccases ainsi qu'une réduction de la quantité de lignine (Lu *et al.*, 2013). Sur les 17 *PtrLACs* réprimés en A1 suite à la flexion de la tige, 10 font partie des 19 gènes sensibles à la répression par le MIR397 (Tableau 5 et Lu *et al.*, 2013). Lors d'un enrichissement en termes GO *via* l'outil en ligne Popgénie, une liste de micro ARN est générée, elle associe une valeur statistique à

chaque microARN de la liste. Le miRNA397 apparaît sur cette liste avec une valeur significative. Cela implique probablement que le gène codant pour le pré-miARN397 est identifié par Popgénie, mais l'information n'est pas fournie. On ne connaît donc ni son niveau d'expression, ni s'il est surexprimé ou réprimé suite à la flexion. L'hypothèse est que le gène responsable de miRNA397 est surexprimé en réponse à la flexion, expliquant la répression d'une partie des *LACs*.

Les peroxydases et la surexpression de l'orthologue d'AtPRX71

Le transcrit Potri.016G125000.1 est régulé positivement en A1 suite à une flexion de la tige avec un niveau de lecture moyen de 2786 et un Log2FC de 1.9 pour un p-value ajustée à 0.0009. Le gène *Potri.016G125000* code pour une enzyme peroxydase de 324 acides aminés (UniProtKB - U7E040). Plusieurs fonctions possibles lui sont associées dont la dégradation de la lignine.

Un blastP contre la base de données *Arabidopsis thaliana* TAIR10 permet d'identifier l'orthologue *AtPER71*. *AtPRX71* code pour une peroxydase de classe III. L'analyse des mutants perte de fonction *atprx71* et des plantes sur-exprimant *AtPRX71*, indique que ce gène influence négativement la croissance d'*Arabidopsis* à différents stades du développement (Raggi *et al.*, 2015). Sara Raggi et son équipe proposent qu'*AtPRX71* contribue à renforcer les parois cellulaires limitant ainsi l'expansion cellulaire au cours de la croissance normale et en réponse aux dommages causés aux parois cellulaires.

AtPRX71 est localisés aux coins des cellules des fibres durant le développement de la tige quand d'autres peroxydases et laccases sont localisées dans la paroi cellulaire secondaire des fibres et des vaisseaux du xylème (N. Hoffmann *et al.*, 2020). *AtPRX71* est aussi trouvé dans des tissus non-lignifiés (Nathalie Hoffmann *et al.*, 2020).

Tableau 5 : Listes des transcrits régulés négativement suite à la flexion codant pour des protéines laccases.

Gènes	Synonymes du gènes	Pt-MIR397a comme répresseur connu	Log2FC	Base mean	Clade	Synonymes ATG
Potri.001G054600	<i>PtrLAC1</i>	Oui	-2,5	124,1	II	<i>AtLAC17</i>
Potri.001G184300	<i>PtrLAC2</i>	Oui	-3,0	87,6		
Potri.001G248700	<i>PtrLAC4</i>	Non	-2,0	1081,1	I	<i>AtLAC4</i> <i>AtLAC10</i>
Potri.006G087500	<i>PtrLAC12</i>	Non	-3,0	292,2	II	<i>AtLAC2</i>
Potri.006G096900	<i>PtrLAC14</i>	Oui	-2,5	1042,8	I	<i>AtLAC4</i> <i>AtLAC10</i>
Potri.006G097000	<i>PtrLAC15</i>	Oui	-2,0	368,5		
Potri.008G073800	<i>PtrLAC19</i>	Non	-1,3	480,5	V	<i>AtLAC5</i>
Potri.009G034500	<i>PtrLAC20</i>	Oui	-2,1	799,7	II	<i>AtLAC17</i>
Potri.009G156600	<i>PtrLAC23</i>	Non	-2,6	74,6		
Potri.009G156800	<i>PtrLAC24</i>	Oui	-2,5	188,4		
Potri.010G193100	<i>PtrLAC27</i>	Non	-3,6	684,9	I	<i>AtLAC16</i>
Potri.010G193100			-3,5	1058,9		
Potri.011G120200	<i>PtrLAC29</i>	Non	-3,1	380,0	II	<i>AtLAC17</i>
Potri.011G120300	<i>PtrLAC30</i>	Oui	-3,1	1245,2		
Potri.013G152700	<i>PtrLAC32</i>	Non	-1,5	297,3	V	<i>AtLAC3</i> <i>AtLAC13</i>
Potri.013G152700			-1,5	166,3		
Potri.016G112000	<i>PtrLAC40</i>	Oui	-2,6	2992,0	I	<i>AtLAC4</i> <i>AtLAC10</i>
Potri.016G112000			-2,5	2162,5		
Potri.016G112100	<i>PtrLAC41</i>	Oui	-2,7	136,9		
Potri.006G097100	<i>PtrLAC49</i>	Oui	-2,8	807,0		

Tableau 6 : Liste des termes GO relatifs aux voies de biosynthèse de la paroi secondaire obtenu à l'issu d'une analyse PAGE depuis une liste de DEGs transformée par des homologues *Arabidopsis*.

No	GO Term	Nb	Description	Z-score	FDR
1	GO:0010087	12	phloem or xylem histogenesis	-4	2,E-03
2	GO:0016051	123	carbohydrate biosynthetic process	-4,1	1,E-03
3	GO:0034637	107	cellular carbohydrate biosynthetic process	-4,4	3,E-04
4	GO:0005976	92	polysaccharide metabolic process	-4,5	2,E-04
5	GO:0044264	81	cellular polysaccharide metabolic process	-4,7	1,E-04
6	GO:0010089	10	xylem development	-4,8	8,E-05
7	GO:0000271	83	polysaccharide biosynthetic process	-4,8	6,E-05
8	GO:0033692	71	cellular polysaccharide biosynthetic process	-5	2,E-05
9	GO:0009808	15	lignin metabolic process	-5,1	1,E-05
10	GO:0044085	125	cellular component biogenesis	-5,6	9,E-07
11	GO:0071554	105	cell wall organization or biogenesis	-5,9	2,E-07
12	GO:0071669	48	plant-type cell wall organization or biogenesis	-6,1	6,E-08
13	GO:0010383	40	cell wall polysaccharide metabolic process	-6,6	2,E-09
14	GO:0010382	39	cellular cell wall macromolecule metabolic process	-6,6	2,E-09
15	GO:0044036	45	cell wall macromolecule metabolic process	-6,6	2,E-09
16	GO:0070592	38	cell wall polysaccharide biosynthetic process	-6,7	2,E-09
17	GO:0070589	38	cellular component macromolecule biosynthetic process	-6,7	2,E-09
18	GO:0044038	38	cell wall macromolecule biosynthetic process	-6,7	2,E-09
19	GO:0070882	59	cellular cell wall organization or biogenesis	-6,8	1,E-09
20	GO:0010410	38	hemicellulose metabolic process	-6,8	1,E-09
21	GO:0045492	37	xylan biosynthetic process	-6,8	1,E-09
22	GO:0045491	37	xylan metabolic process	-6,8	1,E-09
23	GO:0010413	37	glucuronoxylan metabolic process	-6,8	1,E-09
24	GO:0042546	56	cell wall biogenesis	-7,3	8,E-11
25	GO:0009832	31	plant-type cell wall biogenesis	-7,5	3,E-11
26	GO:0009834	17	secondary cell wall biogenesis	-7,5	3,E-11

5. Conclusion

Cette analyse de la régulation de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire montre qu'au moins 15 gènes codant pour des facteurs de transcription impliqués dans la régulation de la voie, sont réprimés. Ce sont 17 gènes réprimés qui sont identifiés dans la voie de biosynthèse de la cellulose, 18 gènes dans la voie de biosynthèse des xylanes, et 31 gènes dans la voie de biosynthèse de la lignine. Ces résultats suggèrent une inhibition de la formation de la paroi secondaire à distance de la zone sollicitée. Ces résultats pourraient être en lien avec l'arrêt de croissance secondaire d'une durée de 4 heures observé lors du suivi en cinétique de la croissance secondaire du peuplier dans la zone fléchie par Coutand *et al.*, (2009).

Il est étonnant que les termes GO de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire n'apparaissent pas dans la liste d'enrichissement GO de la liste des DEGs. Cela pourrait s'expliquer par une annotation GO faible des gènes du peuplier. Pour vérifier cette hypothèse, une nouvelle liste de DEGs est créée à partir de la précédente, en remplaçant les gènes de peuplier par leur homologues ATG d'*Arabidopsis* via Popgénie. Une nouvelle analyse PAGE (Parametric Analysis of Gene Set Enrichment) a été réalisée sur le site AgriGO à partir de cette nouvelle liste. La liste d'enrichissement en termes GO ainsi obtenue est composée de 131 termes GO significatifs (méthode par défaut – Hochberg). Parmi eux, 25 termes GO concernent la biosynthèse de la paroi secondaire des cellules du xylème (Tableau 6). Ces 26 termes GO présentent des Z-Score les plus négatifs (voies réprimés) et sont les plus significatives (FDR). Cette analyse confirme la précédente, montrant que la voie de biosynthèse de la paroi secondaire est réprimée en A1 en réponse à la flexion de la tige.

D. Les voies de signalisation hormonales

Comme le montre le tableau 18 (Annexes, *Annotation GO Arabidopsis*), la recherche d'enrichissement en annotations biologiques réalisée à partir des gènes homologues chez *Arabidopsis* permet de visualiser également l'implication de plusieurs processus liés aux phytohormones. Ces enrichissements en termes GO suggèrent une induction des voies de signalisation des hormones telles que l'éthylène, l'ABA, SA et JA et une répression de la voie de signalisation des brassinostéroïdes. Lorsqu'on transpose ces annotations chez le peuplier, plusieurs gènes d'*Arabidopsis* correspondent à 2 voire 3 gènes homologues chez le peuplier, ce qui est attendu puisqu'un événement de duplication du génome entier du peuplier a été mis en évidence (Tuskan *et al.*, 2006).

1. Répression de la voie de signalisation des Brassinostéroïdes

L'analyse de l'ensemble de ces gènes et leur transposition sur le génome de peuplier révèle que l'annotation « BR biosynthetic process » correspond à 13 gènes de peuplier, 11 d'entre-eux étant réprimés dans le contexte de la flexion (Tableau 20, Annexes). Ces gènes sont de manière générale faiblement exprimés dans la tige de peuplier dans nos conditions (mean < 1000 pour 8 gènes). En revanche, certains présentent des niveaux de répression très forts : c'est le cas notamment de plusieurs gènes codant pour des beta-tubulines. Chez les plantes, les microtubules corticaux (MTs) jouent des rôles essentiels dans l'expansion cellulaire, la biogenèse de la paroi cellulaire et le comportement stomatique *via* leur influence sur le dépôt des microfibrilles de cellulose (MF). De même, les gènes codant pour les protéines FLA7, DWF1 et ROT3, impliquées respectivement dans la synthèse de la paroi cellulaire et dans la biosynthèse des brassinostéroïdes, sont également fortement réprimés (Zhao et Li, 2012).

2. Un réseau de gènes commun aux voies de signalisation de l'ABA, JA, ET et SA

La transposition des annotations GO d'*Arabidopsis* aux gènes de peuplier montre que 176 gènes sont annotés comme étant régulés par les hormones ABA, ET, SA et JA (129 surexprimés et 47 sous-exprimés suite à la flexion). Cependant, certains gènes portent plusieurs annotations en lien avec ces différentes hormones (Figure 53). Ainsi, 12 gènes sont annotés comme étant impliqués dans les voies de réponse à la fois de l'éthylène, l'ABA, SA et JA. De manière surprenante, parmi les 10 gènes surexprimés communs à ces hormones, 4 des gènes induits sont impliqués dans la voie de signalisation des Gibbérellines comprenant 3 gènes codant pour récepteurs GID1B et GID1C et un gène codant pour la protéine SLY impliquée dans la dégradation du répresseur DELLA (Tableau 19, Annexes). Par ailleurs, parmi ces gènes induits, on retrouve également (i) le facteur de transcription WRKY40, connu comme étant impliqué dans un module de régulation transcriptionnel négatif des réponses à l'ABA et de différents

stress chez les plantes, (ii) *AtS6K2*, codant une ribosomal S6 kinase, qui en interaction avec ABI5, régulerait positivement les réponses à l'ABA pendant la croissance des plantules chez *Arabidopsis* (Li *et al.*, 2021), (iii) le gène, codant une protéine à domaine WWE et capable d'interagir avec de nombreuses autres protéines impliquées dans différents types de stress et pouvant avoir un rôle dans la régulation des ROS (Shapiguzov *et al.*, 2019). Enfin, parmi les 2 gènes réprimés, bien que présentant un niveau d'expression faible, le gène *ABCG40*, codant pour un transporteur d'influx d'ABA (Borghi *et al.*, 2015), présente une forte répression (-2.74) à distance suite à la flexion.

Induction de la voie de signalisation de l'ABA

Comme décrit dans le diagramme de Venn, 90 gènes sont annotés en lien avec les réponses à l'ABA ou sa voie de signalisation. Parmi eux, 46 gènes semblent plus spécifiquement associés à cette hormone, 29 étant régulés positivement suite à la flexion. Parmi les gènes les plus fortement surexprimés ($\text{Log}_2\text{FC} > 2$), on retrouve des gènes homologues aux facteurs de transcription *ABR1* (Pandey *et al.*, 2005) et *MYB9*, au gène *PIP2-1* codant une aquaporine plasmalemmique mais aussi aux gènes *ERD7* et *GASAI*. Chez *Arabidopsis*, *GASAI* code une protéine de petite taille, impliquée dans les interactions hormonales et l'homéostasie redox (Nahirñak *et al.*, 2012). *ERD7* a été découverte depuis plusieurs années pour son implication dans les réponses à la sécheresse et des études récentes suggèrent qu'elle aurait un rôle important dans des modifications de la composition des lipides membranaires induisant une réduction de la fluidité membranaire (Barajas-Lopez *et al.*, 2021). Par ailleurs, des gènes codant des facteurs de transcription classiquement impliqués en réponse à l'ABA sont également induits tels que *AREB3* et *bZIP63* qui codent deux facteurs de transcription de type bZIP. Le gène codant le récepteur à l'ABA de type *RCAR3*, fortement exprimé dans les conditions testées, est également légèrement induit (Log_2FC 0.49).

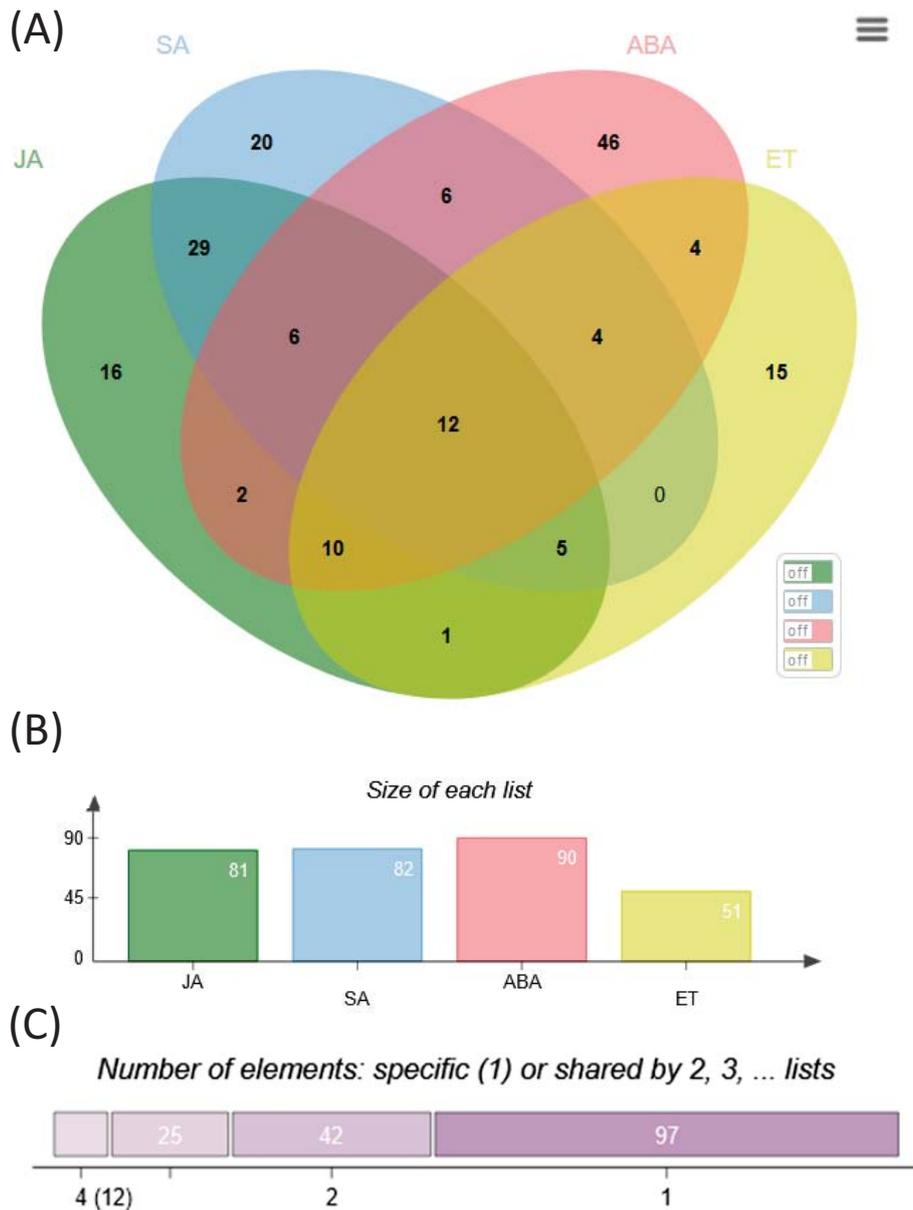


Figure 53 : Analyse globale des gènes différentiellement régulés à distance après flexion d'une tige chez le peuplier et présentant des annotations GO liées aux voies de signalisation hormonales ABA, SA, JA et ET. (A) Le diagramme de Venn montre la distribution et les chevauchements des DEGs entre ces différentes hormones. L'histogramme montre le nombre de gènes associés à chaque hormone (B) et le schéma (C) décrit le nombre de gènes présentant des annotations spécifiques ou communes à plusieurs hormones.

En revanche, l'expression du gène *Potri.018G090300*, homologue du gène *AHA1* codant la pompe à protons ATP-dépendante majeure de la membrane plasmique, apparaît fortement réprimé (Log2FC -1.92). Cette répression pourrait avoir un rôle important dans la régulation du potentiel transmembranaire chez le peuplier puisque'une régulation négative par l'ABA de cette pompe pendant la sécheresse est une étape essentielle de la dépolarisation de la membrane pour initier la fermeture des stomates (Merlot *et al.*, 2007). Dans ce contexte, la régulation transcriptionnelle des gènes *SKOR* codant des canaux potassiques sortants pourrait également jouer un rôle. Cependant, les deux gènes de peuplier (*Potri.004G083300* et *Potri.012G043000*) homologues au gène *AT3G02850* d'*Arabidopsis*, ont des profils d'expression opposés suite à la flexion. Une analyse plus approfondie de l'expression de ces gènes est donc nécessaire. A noter enfin, la régulation négative (plus faible) du gène *Potri.004G188800* homologue de *HD2C*, codant une Histone désacétylase, suggérant que certaines régulations transcriptionnelles liées aux sollicitations mécaniques chez le peuplier impliquent des modifications d'histone, comme cela a été démontré chez *Arabidopsis* (Cazonelli *et al.*, 2014; Rymen *et al.*, 2019).

Induction de la voie de signalisation de JA

Comme le montre la Figure 53, parmi l'ensemble de ces gènes régulés par JA ou impliqués dans la voie de signalisation JA, plusieurs d'entre-eux sont également régulés par l'ABA, l'ET et SA. Seuls 16 gènes de peuplier (correspondant à 13 gènes d'*Arabidopsis*) semblent être spécifiques de JA : 11 gènes sont induits et 5 sont réprimés à distance suite à la flexion. Dans cette liste, apparaît parmi les gènes les plus surexprimés, un gène homologue de *ERF1*, facteur de transcription connu pour son rôle clé dans la régulation des voies de signalisation des hormones (dont l'éthylène) et du stress chez les plantes (Chen *et al.*, 2013; Müller et Munné-Bosch, 2015). De plus, de nombreux gènes connus dans la voie de signalisation ou dans le métabolisme des JAs sont régulés (Ruan *et al.*, 2019) : les homologues des gènes *JAR1* (synthèse de JA-ILE), *CYB94B1* (oxydation de JA-Ile) et *JAZ3* (induit par JA mais répresseur de la voie de signalisation) sont induits alors que le gène *JAZ12* (répresseur de la voie de signalisation) est faiblement réprimé. Une fouille de nos données montre également une induction (log2FC entre 0,4 et 1,56) des gènes *Potri.008G151500*, *Potri.010G089500*, *Potri.014G018200*, *Potri.014G177200*, dont les séquences protéiques prédites présentent de fortes homologues avec les protéines LOX, enzymes de la voie de biosynthèse des JAs. Le gène *Potri.004G212100*, codant pour une enzyme de type OPR3 est également fortement induit par la flexion, mais son expression de base demeure plus faible (mean 46).

Enfin, on retrouve aussi des gènes codant des protéines impliquées dans le complexe SCF d'ubiquitination (Cullin, UPL5) régulant la dégradation des répresseurs JAZs. Plusieurs facteurs de transcription homologues à ceux connus comme étant régulés par la voie de signalisation des jasmonates chez *Arabidopsis* sont surexprimés : *ATAF1*, *ANAC072*, *WRKY40* et *WRKY70*. En ce qui concerne les facteurs de transcription de type MYB, l'homologue du gène *MYB3* s'exprime fortement et est légèrement induit alors que les homologues des gènes *MYB16*, *MYB91*, *MYB46* sont fortement réprimés. De manière surprenante, des homologues au facteur de transcription *MYC2* n'apparaissent pas dans la liste des DEGs.

Induction de la voie de signalisation de SA

En ce qui concerne la voie de signalisation liée à l'acide salicylique (Seyfferth et Tsuda, 2014), plusieurs gènes de cette voie sont activés à distance par la flexion. La régulation semble toutefois à un niveau plus faible que pour les gènes de la voie de signalisation de l'ABA ou de JA (Log2FC proche de 1). Ainsi, trois gènes de peuplier (*Potri.006G148100*, *Potri.002G056500*, *Potri.012G118500*) correspondant à des homologues des gènes *NPR1* et *NPR3*, récepteurs de l'acide salicylique, sont légèrement induits ainsi que des facteurs de transcription typiques de cette voie tels qu'un gène homologue de *TGA6*, de *WRKY1* et de *TGA1*. Parmi les gènes les plus fortement régulés ayant une annotation GO spécifique de SA, le gène *Potri.002G205400* codant pour une Ubiquitine E3 ligase (*BAH1*) impliquée dans la dégradation d'un transporteur de nitrate est surexprimé (Log2FC 1.58) alors que le gène *Potri.006G136700*, homologue impliqué dans la synthèse de saccharose (*AtSUS4*) est réprimé (Log2FC -1.24).

Induction de la voie de signalisation de ET

La flexion de la tige régule également à distance l'expression de plusieurs gènes de la voie de signalisation de l'éthylène. Plusieurs gènes de peuplier codant pour des facteurs de transcription membres de la famille ERF/AP2 sont induits (*Potri.007G138100*, *Potri.008G091300*, *Potri.003G150700*, *Potri.005G087200*) ainsi que le gène *Potri.003G032300*, codant pour un récepteur à l'éthylène et que les gènes *Potri.006G127100*, *Potri.004G197400*, *Potri.009G159200*, codant respectivement des homologues de *EIN2* et *EIN3*, acteurs majeurs de la voie de signalisation de l'éthylène (Bakshi *et al.*, 2015). De manière intéressante, parmi ces gènes annotés « Response to Ethylene », on retrouve des gènes interagissant avec d'autres voies hormonales : le gène homologue de *AUX1* (*Potri.010G191000*) codant pour un transport d'influx d'auxine est surexprimé (Log2FC +1.18) alors que le gène *Potri.002G152900* codant pour un régulateur de la voie des cytokinines de type ARR-B est réprimé (Log2FC -1.42).

3. Conclusion

En conclusion, les voies de signalisation hormonales régulées par l'acide abscissique, l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène, ainsi que les voies de signalisation des ROS, jouent un rôle clé dans l'interaction entre la signalisation du stress biotique et abiotique (Fujita *et al.*, 2006). L'ensemble des données obtenues chez le peuplier suggèrent que la flexion de la tige déclenche également un réseau complexe d'interactions entre ces différentes hormones. Par ailleurs, plusieurs gènes régulant des messagers secondaires pouvant transiter à distance comme les EAO (Espèces activées d'oxygène) sont également régulés par ces voies de signalisation hormonales. C'est le cas par exemple du gène *Potri.017G017300*, fortement surexprimé, homologue de *GRX480*, codant une protéine membre de la famille des glutaredoxines qui régule l'état redox des protéines. Enfin, plusieurs gènes régulés par ces hormones chez le peuplier sont impliqués dans la régulation d'acteurs importants de la biosynthèse de la paroi secondaire, rappelant le paragraphe précédent montrant l'importance de ce processus après la flexion.

E. Recherche avec a priori – régulation en A1 de peptides 'signals' en réponse à la flexion de la tige

A l'instar des phytohormones, les peptides sont susceptibles de jouer un rôle dans la signalisation à longue distance en réponse à différents changements environnementaux comme les stress hydrique, thermique ou salin (Takahashi *et al.*, 2019).

1. Les C-TERMINALLY ENCODED PEPTIDE (CEP)

Comme nous l'avons vu dans la synthèse bibliographique, les CEPs sont des peptides sécrétés dans les racines. Ils sont susceptibles d'être impliqués dans une signalisation à longue distance comme le montre la réponse à une privation d'azote (Cf. Synthèse bibliographique). Chez *Arabidopsis* 15 gènes codant pour des CEPs sont dénombrés (Roberts *et al.*, 2013). Chez *Populus trichocarpa*, 16 gènes codant probablement pour des CEPs ont pu être identifiés par blastP à partir des séquences acides aminés de CEP d'*Arabidopsis* (Figure 54). Parmi eux, deux gènes sont réprimés en A1 en réponse à la flexion de la tige, *Potri.007G041600* et *Potri.007G041900*, dont les gènes homologues chez *Arabidopsis* correspondent à *AtCEP6*, *9* et *2*. *AtCEP2* est connu pour être impliqué dans l'élongation racinaire. En effet, un mutant *cep2* présente de courtes racines comparées au WT (Höwing *et al.*, 2018). *AtCEP9* est impliqué dans la régulation négative du développement de racines latérales (Jeon *et al.*, 2021).

Tableau 7 : Gènes codant pour des peptides CEP régulés en A1 par la flexion de la tige. Les homologues *Arabidopsis* sont identifiés par blastP sur EnsemblPlant.

Gènes	Base mean	Log2FC	ATG	Synonymes ATG
<i>Potri.007G041600</i>	31	-3,5	<i>AT1G59835</i>	<i>CEP2</i> et <i>CEP9</i>
<i>Potri.007G041900</i>	67	-5,2	<i>AT3G50610</i>	

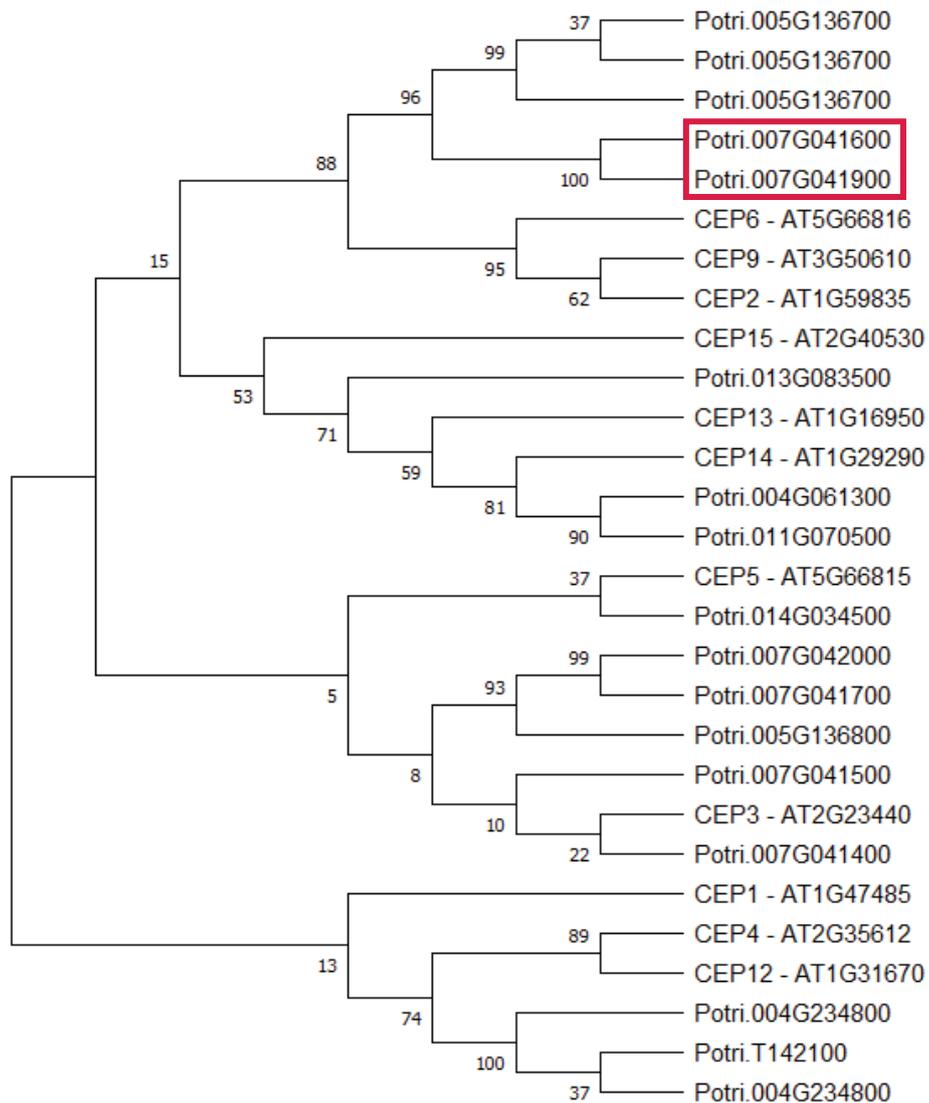


Figure 54 : Arbre phylogénétique non enraciné des gènes codant pour des CEPs chez *Arabidopsis thaliana* et *Populus trichocarpa*. 11 gènes sur 15 d'*Arabidopsis thaliana* sont représentés, 16 gènes de *Populus trichocarpa* ont été identifiés à partir de blastP des séquences acides aminés des CEPs d'*Arabidopsis thaliana*. L'arbre est construit selon la même méthode que celle employée dans Hartmann *et al.*, (2021).

2. Les CLAVATA3/EMBRYO-SURROUNDING REGION- related (CLE)

Les peptides CLE sont conservés dans le génome de presque toutes les plantes (Whitewoods, 2021). Chaque peptide CLE présente un domaine CLE hautement conservé en C-terminal. Des récents travaux de biochimie et de génétique suggèrent un rôle des CLE dans la communication entre tissus en réponse à des stress et dans des processus de développement (Fletcher, 2020). Chez *Arabidopsis thaliana*, le peptide CLE25 est notamment connu pour être synthétisé dans les racines lors d'un stress hydrique, et être transféré dans la partie aérienne pour induire la fermeture des stomates (Takahashi *et al.*, 2018). Yoshida *et al.* (2021) suggèrent que les peptides CLE pourraient retarder la croissance dans la tige et les racines pour préserver de l'énergie et s'acclimater en réponse à différents stress environnementaux. Chez *Populus trichocarpa*, 50 gènes codant pour des peptides CLE sont identifiés (Han *et al.*, 2016). Parmi eux, 4 gènes sont réprimés (*PtCLE5*, 21, 26 et 27) et 1 gène est surexprimé (*PtCLE7*) en à A1 en réponse à la flexion de la tige (Tableau 8).

Tableau 8 : Gènes *PtCLE* régulés en A1 suite à une flexion de la tige. Le nom des gènes *Populus trichocarpa* est tiré des travaux de Han *et al.*, (2016). Les homologues *Arabidopsis* ont été identifiés par un blastP sur EnsemblPlant.

Gènes	Synonymes	Base mean	Log2FC	ATG	Synonymes ATG
Potri.001G237700	<i>PtCLE5</i>	549	-1,1	AT5G59305	AtCLE46
Potri.009G029000	<i>PtCLE26</i>	212	-1,6		
Potri.008G115600	<i>PtCLE21</i>	53	-3,6	AT1G68795	AtCLE12
Potri.009G068800	<i>PtCLE27</i>	81	-2,8	AT1G70895	AtCLE17
				AT5G12235	AtCLE22
				AT2G01505	AtCLE16
Potri.001G376100	<i>PtCLE7</i>	206	2,5	AT1G73165	AtCLE1

Les travaux de Jun *et al.*, (2010) étudient la localisation d'une partie des peptides CLE durant le développement végétatif de plants d'*Arabidopsis thaliana* âgés de 11 jours. Ainsi, le peptide AtCLE1, correspondant au gène homologue de *PtCLE7* chez le peuplier, est localisé dans presque l'ensemble des tissus de la racine, incluant les tissus vasculaires. Le peptide CLE12 (gène homologue de *PtCLE21* chez le peuplier) est présent dans l'hypocotyle et dans le système vasculaire de la tige. Les peptides CLE16 et 17 (codés par des gènes homologues de *PtCLE27* du peuplier) partagent une même localisation, elle concerne l'ensemble des tissus racinaires, et l'ensemble des tissus de la tige excepté le système vasculaire. Parallèlement, l'étude de Ma *et al.* (2020) souligne l'implication des peptides CLE1-7 dans la régulation de

l'émergence de racines latérales chez *Arabidopsis*. De plus, on note que chez des mutants surexprimant les différents gènes *CLE1-7*, la longueur des racines tend à être plus importante (Strabala *et al.*, 2006). Au contraire, la surexpression des gènes codant pour *CLE12* et *CLE22* entraînent une réduction de la croissance racinaire et un arrêt du méristème apical racinaire (Jun *et al.*, 2010). En 2018, Racolta *et al.* montrent qu'un ajout exogène de peptide *CLE17* et *CLE19* sur des plantes d'*Arabidopsis* cause une inhibition de la croissance racinaire, probablement par une interaction avec la *RPK2* (receptor-like protein kinase2), *TOAD2* (toadstool2), *CRN* (coryne) et *CLV2* au niveau du méristème apical racinaire (revue par Jeon *et al.*, 2021).

L'activation de l'homologue du gène *AtCLE1* (*PtCLE7*) en réponse à la flexion pourrait suggérer une régulation positive de la croissance racinaire, dans la mesure où le peptide *PtCLE7* est bien traduit et qu'il circule depuis la tige jusqu'aux racines. La répression des gènes codant *PtCLE21* et *PtCLE27* pourrait suggérer, à l'inverse, une levée d'inhibition de croissance racinaire depuis la tige.

Il est intéressant de relever la régulation des gènes codant pour les peptides *PtCLE7* et *PtCLE21* dans la zone sollicitée suite à une flexion dans les données transcriptomiques de Pomies *et al.*, (2017). En effet, *PtCLE7* (homologue d'*AtCLE1*) n'est d'abord pas régulé 30 minutes après la flexion, puis est surexprimé 2 heures après la sollicitation. *PtCLE21* est d'abord réprimé 30 minutes après la flexion, puis il est surexprimé 2h après la flexion.

3. Les phytosulfokines (PSKs)

Les Phytosulfokines (PSK) appartiennent à un groupe de peptides végétaux sulfatés qui sont bioactifs à des concentrations nanomolaires. Dans un premier temps il a été montré que les PSKs agissent comme des facteurs de croissance dans des cultures cellulaires (Yang *et al.*, 2000). Cette fonction de facteur de croissance est démontrée plus tard *in planta* par Matsubayashi *et al.* (2006). Les auteurs observent une augmentation de l'élongation de la racine chez des mutants surexprimant *AtPSK4*. En réalité, les PSKs sont aussi impliquées dans les stress biotiques et abiotiques, ainsi que dans le processus de reproduction (Sauter, 2015).

En réponse à la flexion de tige, un gène homologue d'*AtPSK2* (*Potri.014G006900*) est surexprimé en A1. Chez *Arabidopsis thaliana*, les PSKs sont connus pour se lier à deux récepteurs kinases LRR (leucine-rich repeat) *AtPSKR1* et *AtPSKR2*. Les gènes codant pour ces deux récepteurs s'expriment à un très bas niveau dans la tige et la racine (Wu *et al.*, 2019), et sont notamment activés par le peptide *PSK2* (Sauter, 2015). Chez le peuplier, 5 homologues d'*AtPSKR1* ont pu être identifiés par blastP. Parmi eux, le gène *Potri.001G310700* se trouve régulé positivement en A1 suite à la flexion de la tige.

Les PSKs pourraient être mobiles et agir à longue distance pour induire des réponses de croissance (Wu *et al.*, 2019). L'activation d'un homologue de *AtPSK2* laisse envisager une possible signalisation peptidique vers des sites comme l'apex de la plante et/ou les racines du peuplier afin d'y stimuler la croissance.

4. Conclusion

Les peptides sont susceptibles de jouer le rôle de signal à longue distance en réponse à un stress environnemental. Nous avons pu constater à travers l'étude de l'expression de gènes appartenant à 3 familles de peptides, qu'un certain nombre se trouvait régulé en réponse à la flexion. Ces résultats suggèrent une possible implication de ces peptides dans une signalisation de croissance à un niveau local, ainsi qu'à distance au niveau des racines et de l'apex.

F. Recherche des acteurs moléculaires impliqués dans le potentiel graduel

Le potentiel graduel est une réponse électrique nouvelle qui reste donc à caractériser d'un point de vue des acteurs moléculaires qui la sous-tendent. Le PG se divise en au moins deux phases : d'abord une dépolarisation rapide, puis dans un second temps, une phase de repolarisation au potentiel de retour, la phase de repolarisation amène parfois à une légère hyperpolarisation avant de retrouver le potentiel de repos. Dans le cadre de l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique, l'initiation de la dépolarisation serait permise par des mécanorécepteurs comme des canaux mécanosensibles ou des RLKs. A l'instar du PA ou de l'OL, la dépolarisation du PG pourrait mettre en jeu une augmentation de $[Ca^{2+}]_{cyt}$, une sortie de Cl^- de la cellule, et/ou un arrêt des pompes à H^+ . De la même façon, la repolarisation pourrait se faire à travers une fuite de K^+ de la cellule, ou une reprise de l'activité des pompes à H^+ . Afin de déterminer les différents acteurs moléculaires responsables de ces transferts d'ions, des études génétiques pourraient être menées. La liste des gènes codant pour tous ces acteurs moléculaires est importante. Les données transcriptomiques issues de la flexion apicale en A1 pourraient permettre une pré-sélection de gènes candidats. En effet, Hartmann *et al.*, (2021) remarquent que les acteurs moléculaires impliqués dans la perception d'une stimulation sont souvent régulés à la suite de cette stimulation. En reprenant cette hypothèse, les gènes codant pour les acteurs moléculaires impliqués dans le mécanisme du PG pourraient être régulés après son passage. Ainsi, le niveau de régulation suite à la flexion de différents gènes codant pour des canaux mécanosensibles, des RLKs, des canaux anioniques, potassiques et calciques, et des pompes à protons a été analysé.

1. Les canaux mécanosensibles et les RLKs

En premier, il est intéressant d'explorer l'hypothèse du couplage hydro-électrique du potentiel graduel. Celle-ci propose qu'une onde de pression hydraulique est générée par la flexion de la tige et qu'elle se propage notamment par les vaisseaux du xylème. Les parois des vaisseaux subiraient une déformation à son passage et cette déformation serait susceptible d'activer des canaux mécanosensibles situés dans les membranes plasmiques des cellules vivantes voisines.

Suivant l'hypothèse qu'un acteur de la perception d'une stimulation peut être régulé à la suite de cette stimulation, une liste de gènes codant pour des canaux mécanosensibles a été établie et est comparée à la liste des DEGs. La liste de gènes codant pour des canaux mécanosensibles est composée : des deux gènes *Piezo*, de l'ensemble des gènes *OSCA*, des deux gènes *MCA*, des gènes *MSL*, et des gènes TPKs. Les deux gènes proches de *FERONIA* ont été ajoutés ainsi que 11 autres paralogues codant pour des RLKs.

Parmi l'ensemble de ces gènes, seuls deux canaux mécanosensibles apparaissent sur la liste des DEGs. L'un est régulé positivement il s'agit de *PtMCA2* (*Potri.010G184700*), deux transcrits présentent un Log2FC de 0.65 et 0.75, pour un niveau moyen respectif de 434 et 217 et une p-value ajustée respective de 0.0009 et 0.0003. Le second est *PtMCA1* (*Potri.005G110000*) dont les 5 transcrits prédits (EnsemblPlant) sont régulés négativement (Log2FC [0.95 ;1.25] ; niveau moyen [640 ;1598] et avec des p-values ajustées allant de 0.0002 à 8.6×10^{-7}).

2. Les autres canaux perméables au calcium

L'entrée de calcium dans le cytosol *via* des canaux insérés dans la membrane est considérée comme un évènement initiateur de la dépolarisation des signaux électriques. Une partie des canaux perméables au calcium a été passée en revue lors de la synthèse bibliographique. Une liste de gènes codant pour ces canaux a été testée contre la liste des DEGs.

Les Glutamate-Receptor-like (GLRs) constituent une famille multigénique de canaux ioniques divisée en 4 clades chez *Arabidopsis thaliana*. Les GLRs du clade 3 sont connus pour être impliqués dans le mécanisme qui sous-tend l'onde lente, notamment les *GLR3.1*, *GLR3.3* et *GLR3.6* (Mousavi *et al.*, 2013; Nguyen *et al.*, 2018). D'après Chen *et al.* (2016), chez *Populus trichocarpa*, les clades 1 et 2 sont confondus et sont composés de 36 gènes, le clade 3 est composé de 8 gènes et le clade 4 de 16 gènes, menant le total à 60 gènes codant des GLRs. Aucun des 60 gènes codant GLR n'est régulé en A1 suite à la flexion de la tige de peuplier.

Au moins douze gènes codant pour des canaux CNGCs ont été identifiés chez *Populus trichocarpa*, parmi eux, *Potri.018G106100* est légèrement surexprimé en A1 en réponse à la flexion avec un log2FC à 0,24. Un blastP permet d'identifier trois gènes homologues chez *Arabidopsis thaliana* : *AtCNGC5*, 6 et 9.

Le gène codant pour le canal voltage dépendant TPC1 (*AT4G03560*) a pour homologue chez le peuplier le gène *Potri.013G131100*. L'expression de ce gène n'est pas régulée en réponse à la flexion. Nous avons également étudié la régulation des gènes codant les annexines, protéines suspectées de s'intégrer à la membrane pour former des pores perméables au calcium. Sur 6 gènes testés, aucun ne montre de régulation suite à la flexion.

3. Les pompes de type P (H⁺-ATPases et Ca²⁺-ATPase)

Les pompes à protons-H⁺-ATPases

Les pompes à H⁺ jouent un rôle majeur dans l'établissement du potentiel transmembranaire (Julien, 1993). Au repos, la différence de potentiel de part et d'autre de la membrane plasmique est d'environ -160 mV. La moitié de ce potentiel de repos s'explique par l'extrusion active des protons par les pompes H⁺-ATPases. Les pompes à protons sont donc des candidats phares des mécanismes qui sous-tendent les signaux électriques chez les plantes. Elles sont suspectées être impliquées dans le mécanisme du potentiel d'action. Leur implication a été démontrée dans le mécanisme de l'onde lente par pharmacologie (Julien, 1993) et par analyse du mutant du gène codant la pompe AHA1 chez *Arabidopsis* (Kumari *et al.*, 2019). Afin de tester leur implication dans le cas du potentiel graduel, une liste des gènes codant pour des pompes à protons a été établie et est comparée à la liste des DEGs.

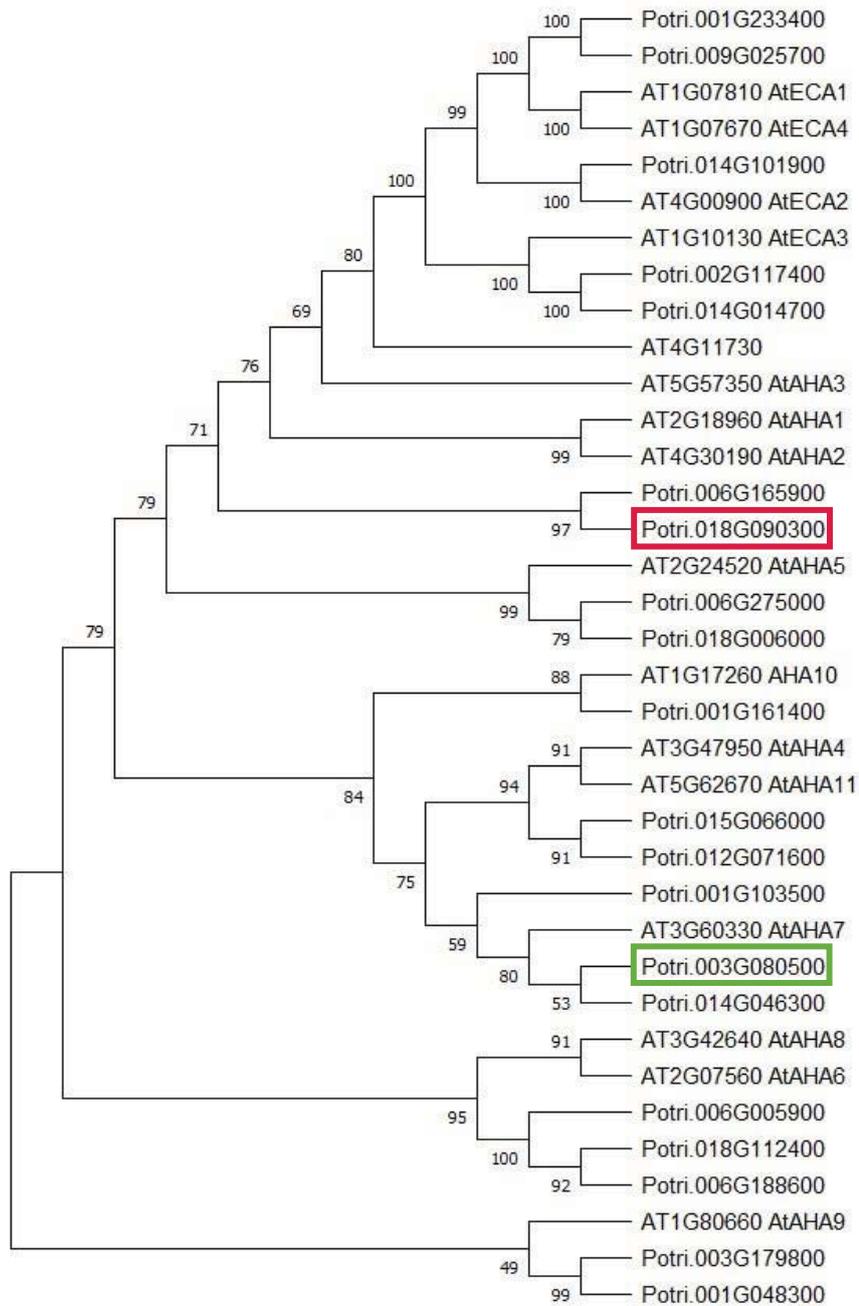


Figure 55 : Arbre phylogénétique des gènes codant pour des pompes AHAs et ECAs chez *Arabidopsis thaliana* et *Populus trichocarpa*. Chez *Arabidopsis thaliana*, 4 gènes codant des pompes ECAs et 11 gènes codant pour des pompes AHAs sont recensés. Chez *Populus trichocarpa*, ce sont 5 gènes codant pour des pompes ECAs et 15 gènes codant pour des pompes AHAs qui sont recensés. En vert est encadré le gène surexprimé en A1 en réponse à la flexion, en rouge est encadré le gène réprimé en A1 en réponse à la flexion de la tige de peuplier. L’arbre est construit selon la même méthode que celle d’Hartmann *et al.*, (2021).

Deux gènes codant pour des pompes à H⁺ sont identifiés dans la liste de DEGs. Le premier est le gène *Potri.003G080500*, homologue d'*AtAHA7* (Figure 55), qui se trouve régulé positivement avec un log2FC de 2.06, un niveau moyen de 615 pour une p-value ajustée de 0.0003. Chez *Arabidopsis*, peu d'éléments sont connus à propos d'*AtAHA7*. Son expression serait préférentiellement dans les racines, et les pompes AHA7 seraient localisées dans la membrane plasmique. Un mutant *aha7* ne présenterait pas de phénotype spécifique. En fait, la croissance des poils racinaires serait ralentie par rapport au sauvage, sans changement sur leur longueur finale (Hoffmann *et al.*, 2019).

Le second gène est *Potri.018G090300*. Il est régulé négativement avec un log2foldchange de -1.9, un niveau moyen de 13985 et une p-value ajustée de 0.001. C'est un des deux gènes chez le peuplier se rapprochant le plus des gènes *AtAHA1* et *AtAHA2* chez *Arabidopsis* (Figure 55).

Des gènes codant pour des pompes Ca²⁺-ATPases, ECA et ACA ont été testés. Aucun gène codant pour des ECAs n'est régulé par la flexion. En revanche deux gènes codant pour des ACAs sont régulés légèrement positivement, il s'agit de *Potri.014G016600* (log2FC à 0,37) et *Potri.010G250800* (log2FC à 0,53).

4. Les canaux anioniques (Cl⁻)

Chez *Populus trichocarpa*, 7 gènes codant pour des canaux de type SLAC et 19 gènes codant pour des canaux de type QUAC sont identifiés. Aucun n'est régulé en réponse à la flexion.

5. Les canaux potassiques

Les Two Pore K⁺ channels (TPKs)

La famille des TPKs est connue chez les animaux pour influencer le potentiel de repos de la membrane et, par conséquent, contrôler l'excitabilité des cellules. En outre, ils laissent passer les ions K⁺ en réponse aux variations du potentiel membranaire (ex : potentiel d'action), et sont également étroitement régulés par l'oxygène moléculaire, le GABA (acide gamma-aminobutyrique), la noradrénaline et la sérotonine (Ward *et al.*, 2009).

Chez *Arabidopsis thaliana*, 5 canaux TPK1-5 sont identifiées. La fonction de ces canaux a été confirmé par patch-clamp (Uehara *et al.*, 2020). Chez *Populus trichocarpa*, 10 gènes codant pour des TPK sont identifiés par similarité avec les gènes *AtTPKs*. Parmi ces dix gènes, deux gènes sont identifiés comme étant régulés positivement suite à la flexion de tige. Il s'agit de *Potri.005G203000* et de *Potri.014G113700*, avec respectivement un log2foldchange de 0.7 et 0.96.

Aucune publication ne traite de *Potri.005G203000* et *Potri.014G113700*. Ils ont pour homologue chez *Arabidopsis* le gène *TPK4* (AT1G02510). A la différence du canal TPK4 (mais pas des autres AtTPKs), les canaux du peuplier présenteraient un site de liaison au calcium (EF-hand 1 domaine, fiche EnsemblPlant). Etrangement, le domaine EF-hand ne semble pas requis pour que l'activité de TPK4 soit régulée à la fois par le Ca^{2+} extracellulaire (inhibition du canal à 30 mM de Ca^{2+}), ainsi que par le pH cytosolique (Becker *et al.*, 2004). TPK4 est localisé dans la membrane plasmique.

Des études détaillées de l'activité de TPK1 ont révélé que les protéines 14-3-3 (GRF6), le pH et le Ca^{2+} jouent un rôle dans la régulation des TPKs. Pendant un stress salin, la phosphorylation médiée par les protéines kinases Ca^{2+} -dépendantes comme CPK3 favoriserait l'interaction d'une protéine 14-3-3 (GRF6) avec le domaine N-terminal cytosolique de TPK1, activant ainsi le canal potassique (Latz *et al.*, 2013). Le gène codant pour la CPK3 (Ca^{2+} dependent kinase 3) est *AT4G23650*. Deux gènes homologues chez *Populus trichocarpa* sont identifiés : *Potri.001G097400* et *Potri.003G13400*. *Potri.001G097400* est réprimé en A1 suite à la flexion (avec un log2FC de -0,8). Chez *Arabidopsis*, CPK3 interagit directement, *in vivo*, avec un autre canal potassique : AKT1 (Huimin *et al.*, 2021).

Inward-rectifying K_{in} -b channels – AKT1

Les canaux AKTs sont activés par une hyperpolarisation de la membrane. Les deux gènes *Potri.018G031600* et *Potri.006G249900* codant pour des canaux AKTs sont réprimés en réponse à la flexion, ce sont des homologues *Arabidopsis* d'*AtAKT5* et *6*.

Outward-rectifying K_{out} channels – GORK et SKOR

Les canaux de type GORK et SKOR s'activent en réponse à une dépolarisation de la membrane. Chez le peuplier, deux gènes codant pour des GORK/SKOR répondent à la flexion, l'un est surexprimé et l'autre réprimé.

6. Conclusion

L'hypothèse du couplage hydro-électrique implique la perception de l'onde de pression hydraulique générée par la flexion de la tige par des mécanopercepteurs à l'échelle de la cellule. Les données transcriptomiques obtenues en A1, en réponse à la flexion de la tige de peuplier indiquent une régulation des canaux MCA 1 et 2, pouvant suggérer une implication de ces canaux. Au total, trois gènes codant pour des canaux perméables au calcium sont régulés en réponse à la flexion : MCA 1 et 2, et un gène codant pour un canal CNGC. En ce qui concerne la réponse électrique en soi, bien que la participation de canaux perméables au Cl^- semble probable, aucun gène codant pour ces canaux n'a été identifié dans la liste des DEGs. En

revanche, des gènes codant pour des canaux potassiques ont pu être relevés ainsi que deux gènes codant pour des pompes à H^+ . Une analyse plus fine de leur fonction pourrait permettre de décortiquer les acteurs moléculaires impliqués dans le PG.

IV. Réponse transcriptionnelle de l'apex suite à une flexion

A. Analyse de la réponse électrophysiologique

Une seconde expérience de flexion de tige visait à analyser la réponse transcriptionnelle au niveau de l'apex du peuplier. Pour cela, des peupliers d'une longueur d'environ 45 cm ont été utilisés. La partie supérieure de la tige (10 cm) est maintenue fixe, la partie inférieure est fléchie sur une longueur de 12 cm, à 2% de déformation et à vitesse rapide. Avec ces paramètres de flexion, il est attendu que le PG généré se propage à une distance d'environ 17 cm de la zone sollicitée, donc jusqu'à l'apex (à 10 cm). Or, comme le montre la Figure 56, le PG s'atténue avant d'atteindre l'apex. Une raison possible pour expliquer cette atténuation pourrait venir de la faible rigidité de la tige sur les 10 derniers centimètres avant l'apex. En effet, le module de Young à proximité de l'apex (5 à 15 cm) est d'une centaine de méga Pascal (Figure 57), soit 10 fois plus faible que celui de la zone sollicitée lors de la flexion apicale standard (Cf. Chapitres 1 et 2).

Or le module de Young est directement corrélé à l'amplitude que peut prendre l'onde de pression hydraulique (Louf *et al.*, 2017). La faible distance de propagation du PG lors de cette expérience pourrait donc s'expliquer dans le cadre du couplage hydro-électrique. L'onde de pression générée par la flexion d'un tissu jeune, présentant un faible module de Young, limite la propagation du PG.

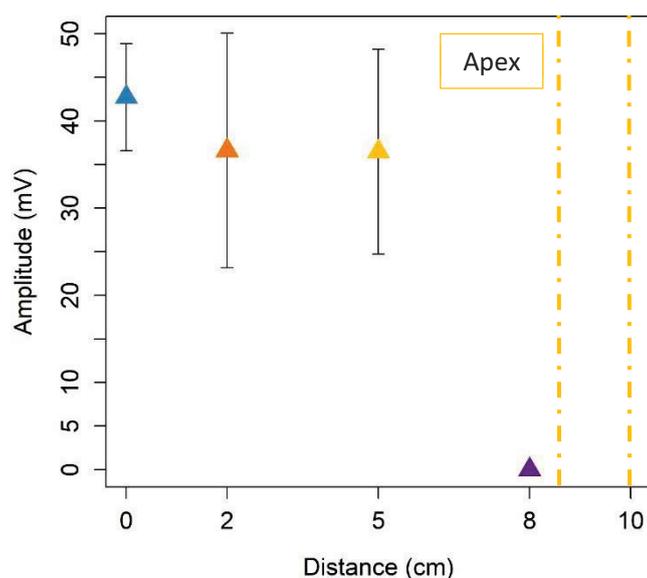


Figure 56 : Evolution du PG induit par une flexion de la tige de peuplier localisée à 10 cm de l'apex. La zone délimitée par les pointillés jaunes correspond à l'apex, échantillonné 30 minutes après la flexion de la tige pour l'analyse transcriptomique.

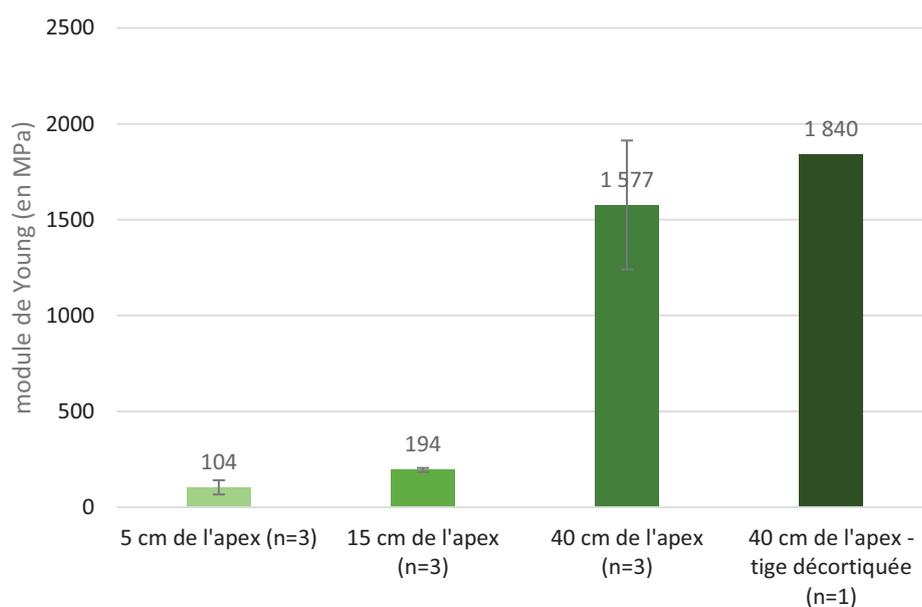


Figure 57 : Modules de Young mesurés pour différentes sections de tige de peupliers (*Populus tremula x alba*). Les peupliers sont cultivés en hydroponie et âgés de 5 mois. Le module de Young a été mesuré à 5 cm de l'apex, 15 cm de l'apex et 40 cm de l'apex (zone sollicitée lors de la flexion apicale standard) décortiqué ou non. La décortication retire les tissus de l'épiderme jusqu'à l'assise cambiale, ne laissant que le xylème et la moelle.

B. Réponse transcriptionnelle à l'apex du peuplier en réponse à une flexion

Chez plusieurs espèces, la flexion d'une tige entraîne une réponse à distance de la zone sollicitée caractérisée par un arrêt de la croissance primaire. Lors de cette seconde expérience, la réponse transcriptionnelle de l'apex a été étudiée 30 minutes après la flexion de la tige de peuplier pour identifier des gènes potentiellement impliqués dans cet arrêt de croissance. De manière intéressante, l'absence de propagation du PG jusqu'à l'apex est corrélée, avec une faible modulation de la réponse transcriptomique au niveau de l'apex.

Seuls 18 gènes s'expriment différemment, soit 0,04 % du génome. La flexion de la tige n'a donc pas induit de réponse transcriptionnelle significative au niveau de l'apex. Cela montre qu'à distance de la zone sollicitée mécaniquement et en l'absence du passage du PG, aucune réponse transcriptionnelle significative n'est mesurée à l'apex.

Cependant, l'expérience menée par Niez *et al.*, (2019) montre que des arbres fléchis quotidiennement pendant 5 mois présentent bien une hauteur 5% plus faible ($p=0,002$) que des arbres témoins. Ce résultat pourrait s'expliquer par une modification du processus d'élongation au niveau des entrenœuds encore en croissance les plus éloignés de l'apex et susceptibles d'être atteint par le PG. Chez un jeune peuplier âgé de 2 à 5 mois, la zone d'élongation est longue d'au moins 15 cm sous l'apex. Une prochaine expérience pourrait cibler la réponse transcriptionnelle dans cette zone d'élongation en réponse à une flexion, après le passage du PG. Il serait attendu une régulation des gènes impliqués dans le processus d'élongation cellulaire. L'intensité de la réponse de croissance de chaque entrenœud pourrait dépendre de l'intensité de l'amplitude du PG. Les entrenœuds les plus proches de l'apex seraient donc les moins susceptibles de présenter une perturbation de croissance.

V. Réponse transcriptionnelle en réponse à la brûlure de feuille en Z1 et en Z2

Dans cette partie nous nous proposons d'étudier la réponse transcriptionnelle dans la tige et l'apex suite à la brûlure d'une feuille de peuplier. Chez le peuplier, la brûlure déclenche un arrêt de croissance primaire et régule à distance certains gènes candidats mécanosensibles (Tixier *et al.*, 2014). Nous avons montré également que la brûlure génère une onde lente (OL), une réponse caractéristique des sollicitations entraînant une forte destruction de cellules, en cela elle peut donc s'apparenter à une sollicitation mécanique lésante comme la blessure et donc pourrait induire une régulation de gènes impliqués aussi bien dans une réponse à un stress abiotique que biotique comme préalablement montré chez d'autres espèces végétales.

A. Analyse générale

1. Réponse électrophysiologique à la brûlure

La brûlure de la feuille de peuplier induit la propagation d'une onde lente dans la tige. Le dispositif de mesure a permis de suivre la propagation de l'OL sur 8 cm en-dessous de l'insertion de la feuille brûlée, et jusqu'à 7 cm au-dessus. L'apex de l'arbre est situé à 8-10 cm du pétiole rattaché à la feuille brûlée. L'amplitude de l'OL ne présente pas de décrétement (Figure 58). Dans le sens basipète, la vitesse moyenne de propagation tend à baisser, elle est de 0,84 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ entre [-1;-4] cm et chute à 0,33 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ entre [-4 ; -8]. La vitesse moyenne de propagation de l'OL dans le sens acropète tend aussi à baisser, passant de 0,48 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ entre [1-4] cm à 0,16 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ entre [4-7] cm. La distance entre la zone brûlée sur la feuille et l'insertion du pétiole dans la tige est d'environ 15 cm. Le temps pour l'OL d'atteindre l'apex est compris entre 30 et 60 secondes.

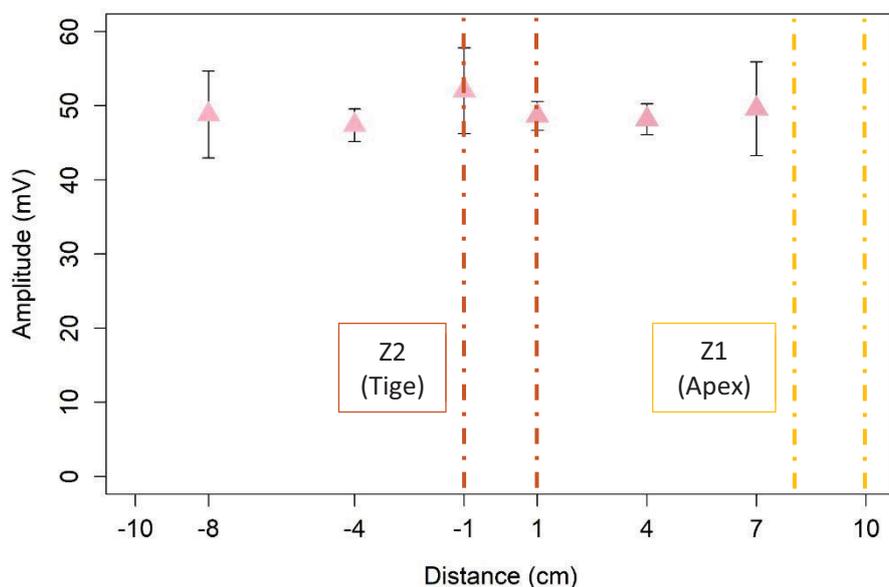


Figure 58 : Evolution de l'amplitude de l'onde lente dans la tige de peuplier en réponse à la brûlure d'une feuille. Les triangles roses représentent l'amplitude de l'OL (\pm SE) mesurée par les électrodes insérées dans la tige. Z1 et Z2 sont les sections de tige, délimitées par les lignes en pointillés, échantillonnées pour l'analyse transcriptomique en réponse à la brûlure. Z1 correspond à l'échantillonnage de l'apex, et Z2 correspond l'échantillonnage de la tige à l'insertion du pétiole de la feuille brûlée (à 0 cm).

2. Réponses transcriptionnelles à la brûlure

La réponse transcriptionnelle a été étudiée en deux points Z1 (apex) et Z2 (tige) 30 minutes après la brûlure d'une feuille de peuplier.

En Z1, ce sont 8444 transcrits qui sont différentiellement exprimés dans l'apex par rapport au contrôle, soit près de 11,5% du transcriptome. Cela correspond à 5141 gènes différentiellement exprimés (DEGs), soit 12.4% du génome. Parmi les 5141 DEGs, 2862 sont régulés positivement et 2279 sont régulés négativement (Figure 59). Le nombre de faux positif admis dans la liste des transcrits régulés différentiellement est de 1 (calculé selon la méthode Dseq2), le taux de faux positif FDR est donc de 0.012 %.

En Z2, 4383 transcrits sont différentiellement exprimés dans la tige par rapport au témoin, 30 minutes après la brûlure de la feuille, soit près de 6% du transcriptome. Cela correspond à 3101 gènes différentiellement exprimés, soit 7.5% du génome. Parmi les 3101 transcrits, 2746 sont régulés positivement et 355 sont régulés négativement (Figure 59). Le nombre de faux positif admis dans cette liste est de 1, le taux de faux positif FDR est donc de 0.023 %.

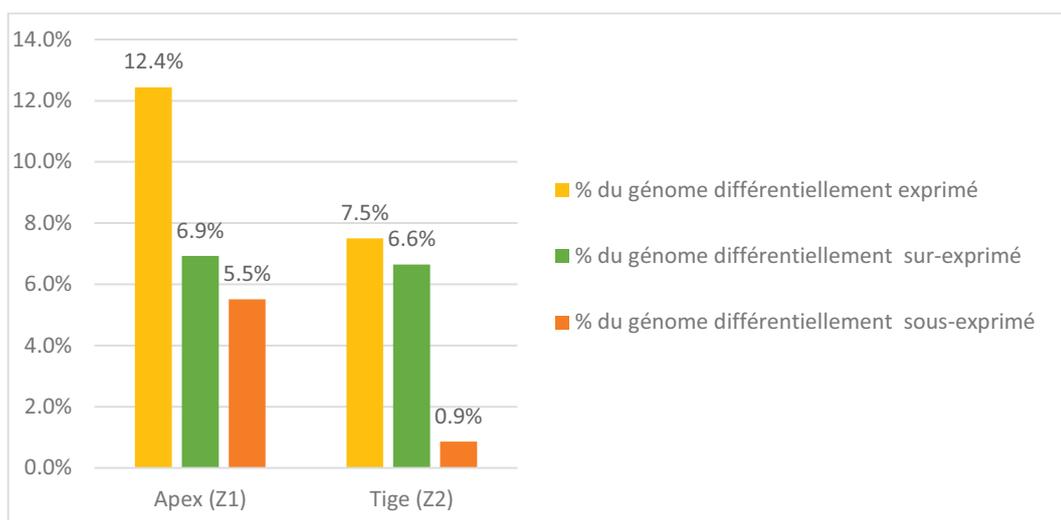


Figure 59 : Pourcentage du génome de peuplier régulé à distance 30 minutes après la brûlure d'une feuille. Le pourcentage de gènes régulés dans l'apex (Z1) ou dans la tige (Z2) est représenté par les histogrammes jaunes. Parmi ces gènes, le pourcentage des gènes surexprimés est indiqué en vert, et le pourcentage de gènes réprimés est indiqué en orange.

Le nombre de gènes régulés dans la tige est presque 2 fois plus faible que dans l'apex (Figure 59). La réponse dans la tige est asymétrique avec 88 % des gènes régulés qui sont surexprimés, tandis qu'à l'apex la réponse est équilibrée avec 55% des gènes régulés qui sont surexprimés.

B. Analyse par ontologie des gènes

Afin de clarifier le rôle des gènes modulés à l'apex (Z1) et dans la tige (Z2) en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier, deux analyses PAGE (Parametric Analysis of Gene Set Enrichment) ont été réalisées. Elles ont pour but d'identifier un enrichissement des termes GO avec les trois ontologies différentes disponibles (Processus biologique (BP) ; Fonction moléculaire (MF) ; Composant cellulaire (CC)) et calculée avec AgriGO.

L'analyse sur les gènes régulés dans l'apex révèle 137 termes GO, celle de la tige en révèle 29 (Tableaux 21 et 22, Annexes). L'ensemble de ces termes sont très généraux et apportent peu d'informations à l'analyse des données. Nous avons donc choisi d'analyser les transcrits les plus régulés (Top 10) dans chacune des conditions.

C. Analyse des TOP 10 des transcrits les plus exprimés en réponse à la brûlure

1. TOP 10 des transcrits surexprimés à l'apex (Z1) et dans la tige (Z2)

Les 10 transcrits les plus surexprimés à l'apex et dans la tige suite à une brûlure de la feuille correspondent principalement à des gènes codant des facteurs de transcription (Tableaux 9 et 10), avec notamment la présence de l'homologue de *BHLH92* dans les deux listes. *BHLH92* code pour un facteur de transcription de type MYC impliqué dans la tolérance en réponse aux

stress salin et osmotique chez *Arabidopsis thaliana* (Jiang *et al.*, 2009). L'homologue du gène codant pour le facteur de transcription ERF19 est identifié dans l'apex. Les ERFs sont des facteurs de transcription lié à la voie de signalisation de l'éthylène, qui agissent souvent comme des activateurs en réponse à des stress environnementaux (Thirugnanasambantham *et al.*, 2015).

Le gène le plus surexprimé dans l'apex avec un Log2FC à 11.3 a pour homologues, chez *Arabidopsis*, les gènes codant pour les protéines VQ1 et VQ10. Ces protéines présentent un domaine VQ capable de les faire interagir avec les facteurs de transcription de la famille WRKY. Les protéines VQ semblent impliquées en réponse aux stress (Pecher *et al.*, 2014).

Le gène surexprimé n°1 dans la tige a pour homologue un gène codant pour CBF4, une protéine de la famille des facteurs de transcription de type CBF (C-repeat binding factor). Vonapartis *et al.*, (2022) montrent que CBF4 est induite par l'ABA lors de stress abiotiques (hydrique, osmotique), dont la voie de signalisation est réprimée en retour par la répression par CBF4 de XERICO (une ubiquitine ligase E3). Cette rétro-régulation de la signalisation de

Tableau 9 : Top 10 des gènes surexprimés à l'apex (Z1) en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier. Les gènes homologues d'*Arabidopsis* sont identifiés par blastP.

TOP	Gènes	Log2FC	Base mean	p-value ajustée	ATG	Synonymes ATG
1	Potri.011G095900	11.3	684	6.3E-14	AT1G17147 AT1G78410	VQ1 VQ10
2	Potri.T079600	10.3	217	7.3E-17	AT4G39830	
3	Potri.010G077000	10.2	1312	7.5E-24	AT5G43650	BHLH92
4	Potri.010G077000	10.0	1167	1.5E-23		
5	Potri.T095900	9.8	484	1.6E-21	AT2G26560	PLP2
6	Potri.T095700	9.7	237	1.7E-14		
7	Potri.013G100300	9.5	76	5.3E-11	AT1G22810	ERF19
8	Potri.010G077000	9.1	1512	1.2E-06	AT5G43650	BHLH92
9	Potri.T095600	8.9	715	1.7E-22	AT2G26560	PLP2
10	Potri.014G022000	8.7	42	5.2E-11	AT5G43068	-

Tableau 10 : Top 10 des gènes surexprimés dans la tige (Z2) en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier. Les gènes homologues d'*Arabidopsis* sont identifiés par blastP.

TOP	Gènes	Log2FC	Base mean	p-value ajustée	ATG	Synonymes ATG
1	Potri.004G187000	7.9	70	1.1E-15	AT5G51990	DREB1D/CBF4
2	Potri.002G047300	7.8	92	1.6E-14	AT3G22930	CML11
3	Potri.002G219100	7.5	24	6.5E-14	AT1G04950	TAF6
4	Potri.015G093800	7.3	1092	2.7E-36	AT1G76650	CML38
5	Potri.002G183300	7.1	12	4.0E-09	-	-
6	Potri.006G208800	7.1	12	2.5E-10	AT5G06200 AT3G11550	CASP4 CASP2
7	Potri.004G083900	6.8	310	9.4E-18	AT1G66160 AT5G37490	PUB20 PUB21
8	Potri.004G052500	6.7	41	6.0E-17	AT2G29120	GLR2.7
9	Potri.010G077000	6.6	575	1.6E-31	AT5G43650	BHLH92
10	Potri.002G067500	6.6	8	1.8E-09	-	-

l'ABA maintiendrait un équilibre entre croissance et survie dans des conditions environnementales difficiles.

D'autres gènes notables sont identifiés dans les deux tops comme l'homologue du gène codant pour la Patatin-Like Protein2 (PLP2). PLP2 pourrait jouer un rôle essentiel dans la réponse immunitaire lors d'une infection par un pathogène en favorisant la mort cellulaire (La Camera *et al.*, 2009). Dans la liste des gènes surexprimés dans la tige, deux gènes dont les homologues codent pour des calmodulines-like sont identifiées *CML11* et *CML38*. Ces calmodulines ont été décrites pour être des marqueurs de réponse à la blessure (Vian *et al.*, 1996). Enfin, notons également la régulation d'un gène *GLR* du clade 2 codant pour un canal cationique.

2. TOP 10 des transcrits réprimés à l'apex et la tige

Le top 10 des transcrits réprimés à l'apex est peu instructif (Tableau 11). En effet, les gènes sont peu ou pas annotés, ou ils n'ont aucun homologue *Arabidopsis* identifié. Par ailleurs, il est intéressant de noter que l'ensemble des gènes de ce top 10 présentent un nombre de lecture (base mean) faible, indiquant une faible expression. Notons cependant la régulation de l'homologue de *TOC132* qui code pour une translocase régulant l'entrée de pré-protéine dans le chloroplaste, et des *RPS* qui codent pour des protéines constituant les ribosomes.

Le top 10 des transcrits réprimés dans la tige est davantage instructif (Tableau 12). Les homologues de gènes *SAUR* sont fortement réprimés (*SAUR20* et *SAUR67*). Les gènes *SAUR* sont régulés par l'auxine et sont susceptibles d'être impliqués dans la croissance et le développement. *NEK6* est un gène qui code pour une protéine sérine/thréonine kinase qui pourrait être, elle aussi, impliquée dans le développement de la plante (UniProt – Q9LT35). *LQY1* code pour une protéine disulfide-isomérase probablement impliquée dans la formation d'un complexe avec HHL1 qui maintient l'activité du photosystème II (PSII) sous forte intensité lumineuse en réparant et réassemblant le complexe PSII (UniProt - Q8GSJ6). MYB15 est un facteur de transcription impliqué dans la régulation des gènes *CBF* en réponse au froid, à un stress osmotique ou hydrique. Il pourrait activer les voies de biosynthèse et de signalisation de l'ABA (UniProt - Q9LTC4).

Parmi les 10 gènes les plus réprimés de la tige, seul *Potri.004G165300* (7^{ème} position dans la liste) codant un homologue de SAUR20, est retrouvé dans la liste globale des gènes réprimés à l'apex, les autres ne sont pas régulés. Aucun des 10 gènes les plus réprimés à l'apex ne sont régulés dans la tige (ensemble de la liste DEGs) en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier.

Tableau 11 : Top 10 des gènes réprimés à l'apex (Z1) en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier. Les gènes homologues d'*Arabidopsis* sont identifiés par blastP.

TOP	Gene	Log2FC	Base mean	p-value ajustée	ATG	ATG Synonyme
1	Potri.019G096600	-6.5	7.5	4.2E-08	AT5G47530	-
2	Potri.T104800	-6.5	7.2	6.2E-07	AT2G16640	TOC132
3	Potri.006G010800	-6.1	5.7	8.0E-07	-	-
4	Potri.T113200	-5.9	7.1	9.6E-06	-	-
5	Potri.017G102400	-5.8	4.5	1.1E-05	-	-
6	Potri.011G074500	-5.7	4.1	6.4E-06	ATCG01230 ATCG00905	RPS12B RPS12C
7	Potri.001G256200	-5.6	9.1	5.5E-05	AT1G07850 AT4G23490	-
8	Potri.006G179600	-5.4	3.3	4.0E-06	AT2G23940	-
9	Potri.001G306900	-5.3	3.1	2.1E-05	-	-
10	Potri.004G000700	-5.3	3.1	1.4E-05	AT4G16340	SPK1

Tableau 12 : Top 10 des gènes réprimés dans la tige (Z2) en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier. Les gènes homologues d'*Arabidopsis* sont identifiés par blastP.

TOP	Gene	Log2FC	Base mean	p-value ajustée	ATG	ATG Synonyme
1	Potri.009G126300	-3,2	55	6,5E-06	AT5G18020	SAUR20
2	Potri.011G083800	-3,0	8	3,6E-05	AT3G20860	NEK6
3	Potri.017G043400	-2,8	51	3,4E-06	AT1G29510	SAUR67
4	Potri.019G018200	-2,7	13	1,1E-04	AT3G23250 AT2G31180	MYB15 MYB14
5	Potri.005G237800	-2,4	8	3,7E-05	AT1G75690	LQY1
6	Potri.011G004600	-2,3	23	7,5E-05	-	-
7	Potri.004G165300	-2,3	1963	4,1E-06	AT4G38840 AT5G18020	- SAUR20
8	Potri.002G037200	-2,2	36	7,3E-05	-	-
9	Potri.016G073300	-2,2	18	1,9E-06	-	-
10	Potri.009G126300	-2,2	365	6,1E-05	AT5G18020	SAUR20

D. Recherche des acteurs moléculaires impliqués dans l'onde lente

Les acteurs moléculaires qui sous-tendent le mécanisme l'onde lente, ou qui sont susceptibles de le faire, ont été décrits dans la synthèse bibliographique. Nous avons également cherché à déterminer si ces gènes sont régulés suite au passage de l'OL.

1. Régulation des GLR en réponse à la brûlure

Certains GLRs du clade 3 ont un rôle essentiel dans la propagation et l'initiation de la dépolarisation de l'OL à distance de la sollicitation chez *Arabidopsis thaliana*, ce sont les premiers acteurs auxquels nous nous intéressons. Plusieurs gènes *GLRs* sont surexprimés en réponse à la brûlure. De manière intéressante, les GLR régulés à l'apex ne sont que très partiellement les mêmes que ceux régulés dans la tige (Tableau 13). A l'apex, trois gènes du clade 3 sont surexprimés dont notamment les homologues *Arabidopsis* d'*AtGLR3.3* et d'*AtGLR3.6*. Ces deux gènes codent pour des canaux qui ont été identifiés comme indispensables à la propagation à distance de l'OL dans les feuilles d'*Arabidopsis* (Mousavi *et al.*, 2013). Dans la tige, ces gènes ne sont pas régulés. Seulement cinq gènes du clade 2 sont surexprimés. Parmi eux, les deux gènes communs à Z1 et Z2 codent pour l'homologue d'*AtGLR2.7*.

Tableau 13 : Régulation des gènes codant pour des GLRs dans l'apex et dans la tige, en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier.

Gènes	Log2FC	ATG	Synonymes ATG	Z1 – Z2
Potri.002G229900	1.3	AT2G32400	AtGLR3.7	Z1
Potri.005G102700	1.3	AT3G51480	AtGLR3.6	
Potri.005G253800	1.5	AT1G42540	AtGLR3.3	
Potri.004G052500	4.4	AT2G29120	AtGLR2.7	Z1 – Z2
Potri.004G052400	6			
Potri.018G009800	2.2	AT2G29110	AtGLR2.8	Z2
Potri.018G011500	2.2			
Potri.004G052600	3.7			

2. Régulations de canaux perméables au calcium en réponse à la brûlure

D'autres canaux perméables au calcium sont des candidats pour leur implication dans le mécanisme d'OL et la signature calcique cytosolique qui l'accompagne (Farmer *et al.*, 2020). Des gènes codant pour des CNGCs et des annexines ont été identifiés dans les deux listes de DEGs. Ils sont surexprimés à distance en réponse à la brûlure de la feuille de peuplier (Tableau 14).

Tableau 14 : Régulation des gènes codant pour des CNGCs et une annexine dans l'apex et dans la tige, en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier.

Gènes	Log2FC	ATG	Synonymes ATG	Z1 - Z2
Potri.002G170000	2,3	AT1G01340	CNGC10	Z2
Potri.014G097900	4,5	AT2G46430	CNGC3	Z1 et Z2
		AT4G01010	CNGC13	
Potri.012G038700	0,7	AT3G17690	CNGC19	Z2
Potri.012G041900	2	AT1G68090	ANN5	Z2
Potri.015G107600	5,1			Z1 et Z2
Potri.018G097600	1.3	AT2G24610	CNGC14	Z1

3. Les MSL, les canaux K⁺ et Cl⁻ ne sont pas régulés à distance suite à la brûlure

Récemment, le rôle des canaux mécanosensibles MSLs et notamment AtMSL10, dans la dépolarisation de l'OL a été montré chez *Arabidopsis* (Moe-Lange *et al.*, 2021). Cependant, aucun gène codant pour ces canaux n'a été identifié dans la liste des DEGs en Z1 et en Z2 en réponse à la brûlure.

L'implication de canaux Cl⁻ et des canaux K⁺ dans le mécanisme de l'OL est suggérée dans la littérature. Bien qu'une étude transcriptionnelle ne rende pas directement compte de l'implication de ces acteurs dans le mécanisme étudié, aucun gène codant pour ces canaux n'est régulé à distance en réponse à la brûlure.

4. Régulation de mécano-senseurs en réponse à la brûlure

D'autres mécanosenseurs sont suspectés être impliqués dans le mécanisme de l'OL (Farmer *et al.*, 2014, 2020). Certains gènes codant pour des canaux mécanosensibles de type OSCA et Piezo et des protéines membranaires de type RLK apparaissent comme régulés en réponse à la brûlure. Un total de 10 gènes codant pour des mécanopercepteurs sont surexprimés à l'apex contre seulement 3 dans la tige. Les deux gènes *Potri.016G138700* et *Potri.006G110000*, dont l'homologue chez *Arabidopsis* code pour la RLK FERONIA, sont les deux seuls gènes

surexprimés à la fois dans la tige et à l’apex, ce qui pourrait suggérer un rôle important dans la perception du signal à longue distance en réponse à une blessure. La régulation de ces gènes, codant pour des protéines elles-mêmes récepteurs potentiels du signal, suggèrent des boucles de régulation qui pourraient réguler la sensibilité des cellules à une sollicitation récurrente.

Tableau 15 : Régulation de gènes codant pour des mécanosenseurs dans l’apex et la tige en réponse à la brûlure de feuille de peuplier.

Gènes	Log2FC	Peuplier Synonyme	ATG	Synonymes ATG	Z1 – Z2	
Potri.016G138700	2.2	-	AT3G51550	FERONIA	Z1 – Z2	
Potri.006G110000	2.3	-				
Potri.017G096000	1.5	-	AT5G38990 AT5G39000	RLK	Z1	
Potri.001G133800	1.7	PtOSCA1.8	AT1G32090	OSCA1.8		
Potri.008G091200	1.2	PtOSCA2.4	AT1G69450	AtOSCA2.4		
Potri.010G164100	1.5	PtOSCA2.5				
Potri.001G358300	1.6	PtOSCA3.1	AT1G30360	OSCA3.1		
Potri.014G137200	2.3	PtPiezo1	AT2G48060	Piezo		
Potri.001G003900	2.7	-	AT1G55350	DEK1		
Potri.003G221100	2.9	-				
Potri.004G005900	1.7	PtOSCA1.1	AT4G04340	OSCA1		Z2

5. Une régulation des pompes de Type P (AHA, ECA et ACA) en réponse à la brûlure

Kumari *et al.* (2019) ont mis en évidence par une approche génétique l’implication de la pompe AHA1 dans la phase de repolarisation de l’OL. D’autres pompes à H⁺ sont attendues pour jouer un rôle dans ce mécanisme de l’OL. Ainsi, une liste de gènes codant pour des pompes de type AHA, mais aussi ECA et ACA a été dressée et comparée aux deux listes de DEGs.

Il apparaît que sur les 15 gènes codant pour des pompes à H⁺ (AHA) chez *Populus trichocarpa*, 2 gènes sont surexprimés à l’apex (Z1) en réponse à la brûlure (Tableau 16). Ces gènes ont pour homologues chez *Arabidopsis thaliana* les gènes *AtAHA5* et *AtAHA10*. Les gènes *Potri.006G165900* et *Potri.018G090300* qui sont les plus proches des gènes codant pour les pompes AHA1 et AHA2 n’apparaissent ni dans la liste de DEGs de Z1, ni dans celle de Z2. Aucun gène codant pour des AHAs n’est régulé dans la tige (Z2).

Tableau 16 : Régulation des gènes codant pour des pompes H⁺-ATPases à l’apex en réponse à une brûlure de feuille de peuplier.

Apex (Z1) Gènes	Log2FC	ATG	Synonymes ATG
Potri.001G161400	0.8	AT1G17260	<i>AtAHA10</i>
Potri.006G275000	1.1	AT2G24520	<i>AtAHA5</i>

Les pompes Ca²⁺-ATPases englobent les pompes de type IIA ou ECA et les pompes de type IIB ou ACA. Ces pompes sont responsables du transfert de Ca²⁺ vers l’extérieur de la cellule ou à l’intérieur d’organites. Ils sont susceptibles d’être impliqués dans la forme de la signature calcique cytosolique qui accompagne l’OL et qui participe à dicter la réponse cellulaire. Chez le peuplier, 5 gènes codant pour des ECAs et 23 gènes codant pour des ACAs ont été identifiés (Figure en Annexe phylogénie). Parmi eux 12 gènes codant pour des ACAs sont régulés à la fois dans l’apex (Z1) et dans la tige (Z2). Les gènes *Potri.007G055700* et *Potri.007G055500* sont parmi les plus fortement régulés en Z1 et Z2 (Log2foldchange > 4 ; Tableau 17). Ces deux gènes seraient des homologues d’*AtACA2* (AT4G37640) et *AtACA7* (AT2G22950) chez *Arabidopsis thaliana*. Il a récemment été montré qu’*AtACA2* et *AtACA7* codent pour des pompes localisées dans la membrane du réticulum endoplasmique et jouent un rôle dans la régulation du signal calcique. Plus précisément, Ishka *et al.*, (2021) montrent par imagerie la dynamique du Ca²⁺ déclenchée par la lumière bleue ou par l’éléciteur pathogène flg22 (une bactérie). Ces études révèlent que les mutants *aca1/2/7* présentent des vagues de Ca²⁺ d’une amplitude et d’une durée accrues par rapport au sauvage. Il est à noter que le gène *Potri.014G016600*, homologue le plus proche est *AtACA1*, présente un niveau de régulation légèrement moins forte (>2) en Z1 et Z2 (Tableau 17, Figure 64 (Annexes)).

Plusieurs gènes phylogénétiquement proches des gènes *AtACA12* et *AtACA13* sont surexprimés à l’apex et dans la tige (Figure 64, Annexes). Les pompes ACA12 et ACA13 sont localisées dans la membrane plasmique (García Bossi *et al.*, 2020). Le rôle de ces deux pompes reste à clarifier, elles semblent être impliquées dans la croissance végétative et la réponse immune (Yu *et al.*, 2018).

Tableau 17 : Régulations des gènes codant pour des pompes Ca²⁺-ATPases en Z1 et en Z2 en réponse à la brûlure d'une feuille de peuplier.

Gènes	Log2FC	Synonymes ATG (selon phylogénie en annexe)	Z1 - Z2
Potri.016G009500	3.65	ACA12, 13	Z1 – Z2
Potri.016G009300	3.65	ACA12, 13	
Potri.016G009400	5.25	ACA12, 13	
Potri.013G038600	5.63	ACA12, 13	
Potri.005G052700	3.58	ACA12, 13	
Potri.002G047500	2.70	ACA12	
Potri.005G215600	3.94	ACA12	
Potri.010G081100	2.20	ACA13	
Potri.008G159100	4.68	ACA13	
Potri.014G016600	3.19	ACA1	
Potri.007G055500	5.96	ACA2, ACA7	
Potri.007G055700	5.72	ACA2, ACA7	
Potri.001G233400	1.89	ECA1, ECA4	
Potri.014G101900	2.58	ECA2	
Potri.008G008100	1.45	ACA9	Z1
Potri.009G025700	1.37	ECA1, ECA4	
Potri.T103500	1.60	ACA12, 13	
Potri.013G038400	4.87	ACA12, 13	Z2
Potri.014G014700	0.60	ECA3	

E. Induction de la biosynthèse et de la signalisation des JAs en réponse à la brûlure

Chez *Arabidopsis thaliana*, une blessure génère la propagation d'une OL qui est accompagnée d'un pic de $[Ca^{2+}]_{cyt}$, suivie de l'activation de la biosynthèse des JAs.

Plusieurs gènes codant pour les enzymes impliquées dans la biosynthèse des JAs sont surexprimés à l'apex et dans la tige en réponse à la brûlure de la feuille (Figure 60). L'étape initiale de la biosynthèse des JAs est une oxygénation d'un acide α -linoléique (α -LeA). L'oxygène est inséré en C-13 par une lipoxygénase (LOX). Chez *Arabidopsis*, 6 gènes codant pour des LOXs ont été identifiés. Parmi eux 4 codent pour des 13-LOXs impliquées dans la biosynthèse de JA (*LOX2*, *LOX3*, *LOX4* et *LOX6*), tandis que 2 codent pour des 9-LOXs (*LOX1* et *LOX5*) qui ne sont pas impliquées dans la biosynthèse de JA mais dont les produits participent à une réponse de défense à la fois locale et systémique (Wasternack et Hause, 2013).

Nous avons cherché à savoir si les gènes surexprimés identifiés pour coder des LOXs en réponse à la brûlure se rapprochent (phylogénétiquement) plus des gènes homologues d'*Arabidopsis* codant pour les 13-LOXs ou les 9-LOXs (Figure 61). Dans l'apex, 3 gènes sont surexprimés, deux sont homologues de *LOX6* et *LOX3-4* et le dernier de *LOX5*. Dans la tige, 4 gènes homologues de *LOX1* sont surexprimés, et un gène homologue de *LOX3* et *LOX4* est surexprimé. La voie de biosynthèse des JAs semble donc activée aussi bien dans la tige qu'à l'apex.

Seuls les gènes codant pour les 3 (Z1) ou 4 (Z2) premières enzymes de la voie de biosynthèse sont surexprimés en réponse à la brûlure. Cela pourrait suggérer soit la production uniquement du précurseur OPDA, ou que les autres enzymes de la voie ne sont pas en quantités limitantes dans les cellules.

De nombreux gènes connus dans la voie de signalisation des JAs sont régulés en réponse à la brûlure. De nombreux homologues des gènes *MYC* sont surexprimés dans la tige et à l'apex. Les MYCs sont des facteurs de transcriptions ayant un rôle activateur de la voie de signalisation des JAs. Les homologues des gènes *JAZ*, qui sont induits par les JAs mais qui répriment la voie de signalisation des JAs, sont fortement surexprimés aussi bien dans la tige que dans l'apex en réponse à la brûlure de la feuille de peuplier (Tableau 23, Figure 65, Annexes). Cette analyse montre un équilibre entre l'expression des acteurs de type JAZs (répresseurs) et MYC (activateurs) au sein de la voie de signalisation des JAs qui suggère l'existence de boucle de rétroaction.

Le pic de calcium cytosolique accompagnant l'OL lors d'une blessure est probablement perçu par des calmodulines (CaMs). Chun Yan *et al.*, (2018) montrent qu'un complexe JJW (JAV1-JAZ8-WRKY51) réprime la voie des JAs. Lorsque la plante est blessée, l'activation des calmodulines par le calcium induit la phosphorylation de JAV1, entraînant la dégradation du complexe JJW par le protéasome et la levée de la répression des gènes de biosynthèse des JAs (**Figure 62**). Les gènes codant pour les différents acteurs du complexe JJW ainsi que des CaMs, ont été identifiés chez *Populus trichocarpa*. Ces gènes sont surexprimés à l'apex et dans la tige en réponse à la brûlure (Tableau 23, Annexes). La régulation positive de l'ensemble de ces acteurs montre la complexité du réseau d'interactions régulant la synthèse de JA.

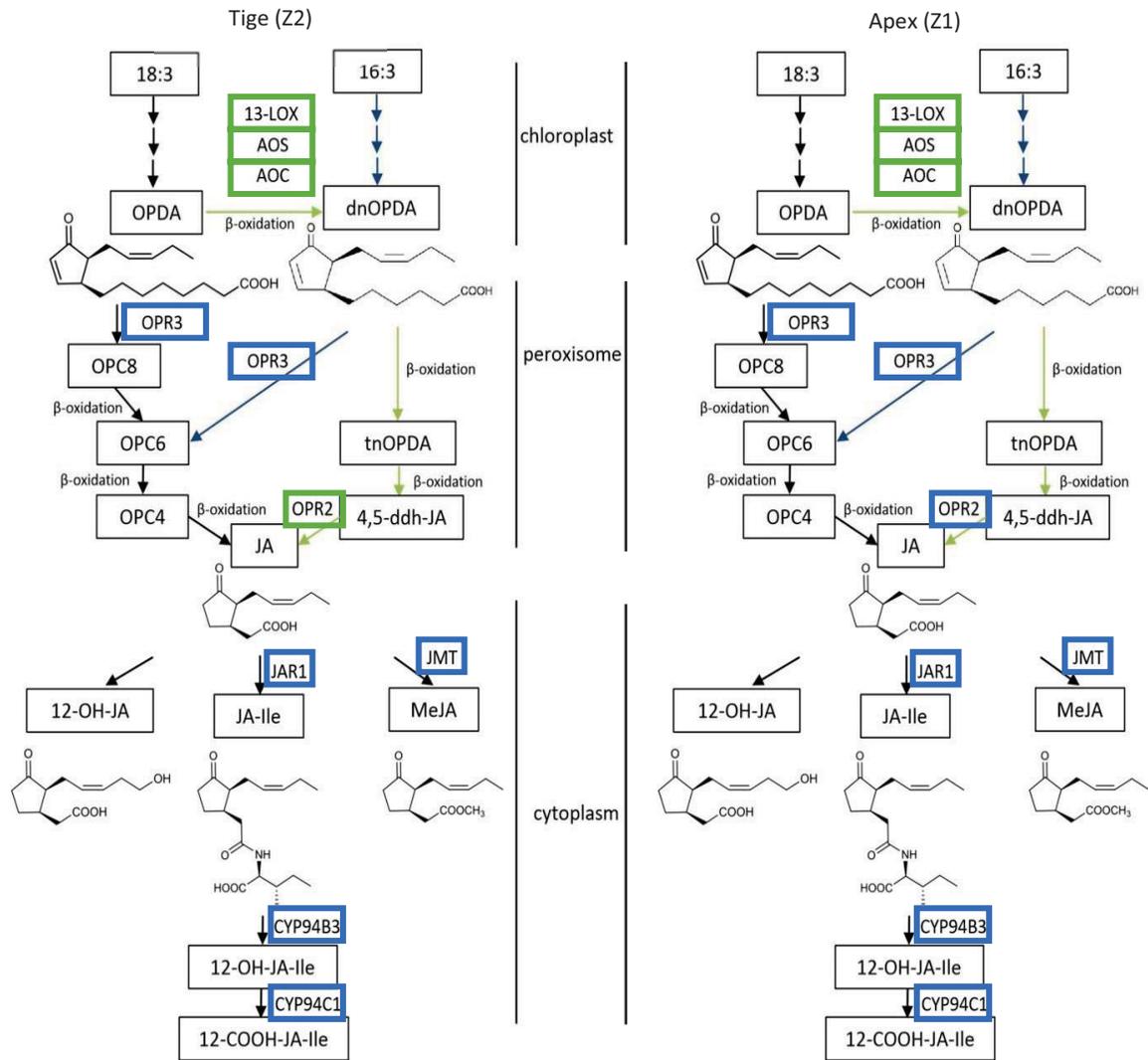


Figure 60 : Régulation des gènes codants pour des enzymes de la voie de biosynthèse des JAs dans la tige (Z2) et à l’apex (Z1) en réponse à une brûlure d’une feuille de peuplier. En vert sont encadrées les enzymes codées par des gènes surexprimés en réponse à la brûlure. En bleu sont encadrées les enzymes codées par des gènes non régulés après la brûlure. Les enzymes et les produits intermédiaires sont : LOX pour lipoxygénase, AOS pour allène oxyde synthase, AOC pour allène oxyde cyclase, OPR3 pour OPDA reductase, JAR1 pour jasmonate résistant1, JMT pour JA carboxyl methyltransférase, 18 :3 pour acide α -linoléique, 16 :3 pour acide hexadécatriénoïque, OPDA pour acide 12-oxo-phytodiénoïque, dnOPDA pour acide dinor-12-oxo-phytodiénoïque, OPC8 pour acide 8-(3-oxo-2-(pent-2-enyl)cyclopentyl)octanoïque, OPC6 pour acide 6-(3-oxo-2-(pent-2-enyl)cyclopentyl) hexanoïque, OPC4 pour acide 4-(3-oxo-2-(pent-2-enyl)cyclopentyl) butanoïque, tnOPDA pour tetranor-OPDA, 4,5-ddh-JA pour 4,5-didehydrjasmonate, JA pour acide jasmonique, JA-Ile pour jasmonoyl-L-isoleucine, et MeJA pour methyl jasmonate. Adaptée de Ruan *et al.*, 2019.

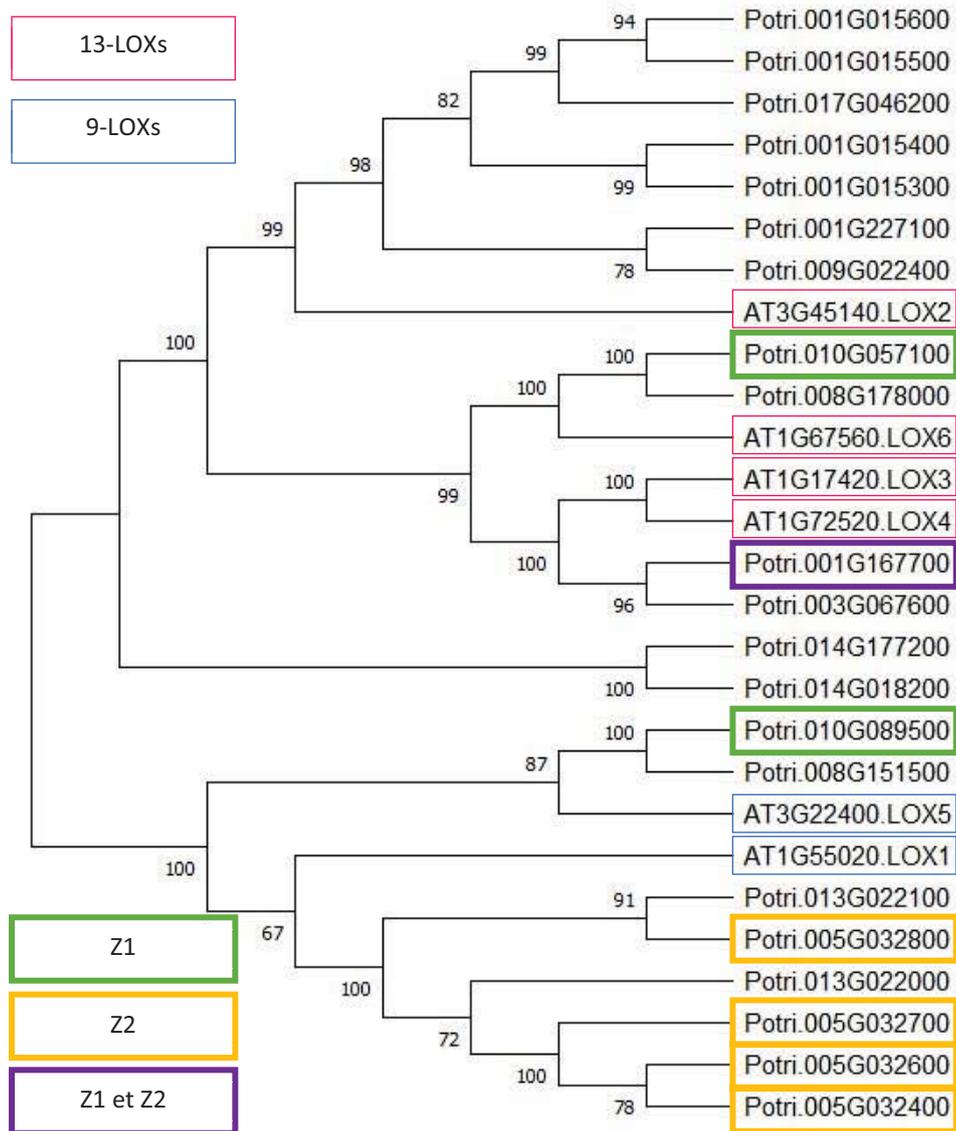


Figure 61 : Arbre phylogénétique des gènes codant pour des lipoxygénases (LOXs) chez *Populus trichocarpa* et *Arabidopsis thaliana*. Les gènes codant pour les 9-LOXs d'*Arabidopsis thaliana* sont encadrés en bleu. Les gènes codant pour les 13-LOXs d'*Arabidopsis thaliana* sont encadrés en rose framboise. En jaune sont encadrés les gènes de peuplier surexprimés en Z2 en réponse à la flexion. En vert sont encadrés les gènes surexprimés en Z1 en réponse à la brûlure. En violet est encadré le gène surexprimé à la fois à l'apex et à la tige en réponse à la brûlure de la feuille chez le peuplier. L'arbre a été construit selon la même méthode que décrite dans Hartmann *et al.*, 2021.

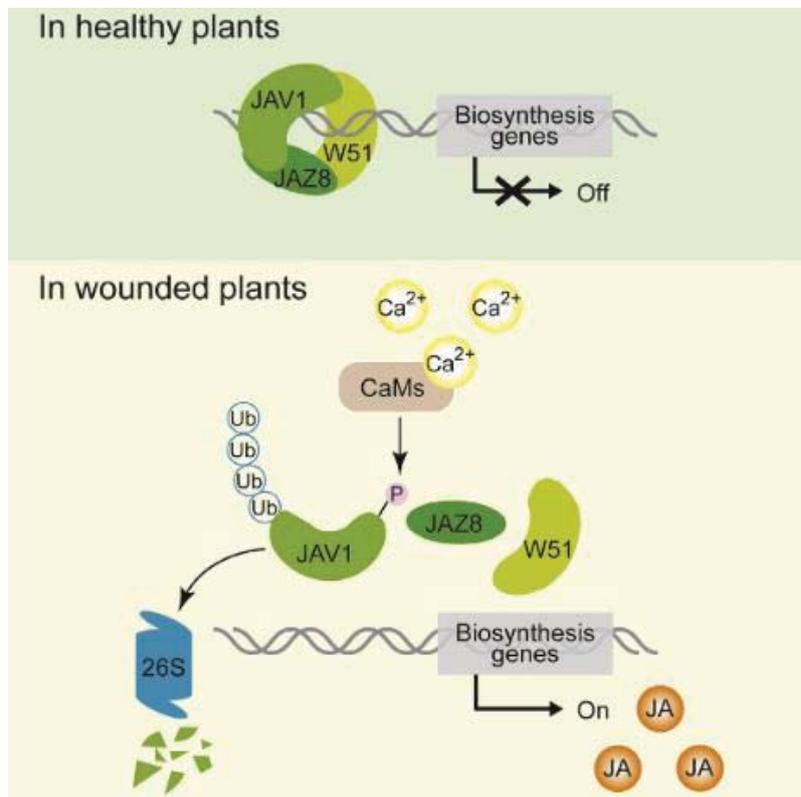


Figure 62 : Représentation schématique de la régulation des gènes de la biosynthèse des JAs par le complexe JJW. D'après Yan *et al.*, 2018. Le complexe JJW, composé de JAV1-JAZ8-WRKY51, réprime la voie de biosynthèse des JAs lorsque la plante est saine. Lors d'une blessure, une signalisation calcique déclenche la phosphorylation de JAV1 par des CaMs, entraînant la dégradation du complexe JJW et la levée de la répression des gènes de la biosynthèse des JAs.

F. Régulation de la croissance primaire en réponse à la brûlure

Des travaux précédents réalisés au laboratoire ont montré que la brûlure d'une feuille de peuplier déclenche à distance un arrêt de croissance longitudinale de la tige visible dès 24h après le traitement (Tixier *et al.*, 2014). Nous avons donc cherché parmi les gènes différentiellement régulés dans l'apex si certains d'entre-eux étaient impliqués dans le cycle cellulaire ou l'expansion cellulaire et pouvaient expliquer cet arrêt de croissance.

En ce qui concerne la régulation du cycle cellulaire, 88 gènes ont été décrits chez *Arabidopsis thaliana* (Gutierrez, 2009), permettant une connaissance précise de sa régulation notamment dans la jeune feuille (**Figure 63**). Chez le peuplier, ces acteurs sont moins décrits, mais récemment, Guan *et al.* (2021) ont réalisé une étude phylogénétique des gènes codant des cyclines D. Toutefois, dans l'apex des peupliers après une brûlure d'une feuille, aucun des gènes codant des cyclines D décrits dans cette récente étude ne sont régulés, ni les homologues des gènes d'*Arabidopsis* codant des cyclines A/B et cyclin-dépendante kinases CDKA/CDKB. En revanche, plusieurs autres gènes homologues des gènes connus d'*Arabidopsis* sont différentiellement exprimés (Tableau 25, Annexes). Parmi les gènes surexprimés suite à la brûlure, plusieurs transcrits du gène *Potri.001G031400*, homologue du gène *AT3G12280* codant la protéine *RBR1* (RetinoBlastoma-Related protein 1), sont surexprimés dans l'apex. Chez *Arabidopsis* et d'autres herbacées, cette protéine interagit avec la protéine E2F et régule négativement la transition entre les phases G1 et S du cycle cellulaire (Desvoyes et Gutierrez, 2020). Chez le tabac, la surexpression locale et transitoire de *RBR1* dans le méristème apical caulinaire (SAM) provoque un retard de croissance, l'arrêt de la division cellulaire et l'initiation de la différenciation des cellules du méristème (Wyrzykowska *et al.*, 2006). La phosphorylation de RBR1 par des kinases dépendantes des cyclines (CDK) empêche son interaction avec E2F, ce qui déclenche l'expression des gènes nécessaires au fonctionnement du cycle cellulaire. Deux transcrits de *Potri.001G088000*, codant pour une protéine cyclin-dépendante kinase de type E sont également surexprimés (Log2FC proche de 1). La fonction de cette protéine est peu connue chez les plantes (Vandepoele *et al.*, 2002), mais cette protéine présente des similarités de séquences fortes avec CDK8. Chez les mammifères, le complexe CDK8/cycline C est un composant du complexe enzymatique de l'ARN polymérase II et servirait de répresseur de transcription. Cependant, chez les plantes, des approches de mutagenèse chez *Arabidopsis* suggèrent que cette protéine aurait un rôle dans l'expansion cellulaire des feuilles et dans la différenciation cellulaire des méristèmes inflorescentiels (W. Wang et Chen, 2004). Parmi les gènes régulés négativement par la brûlure pouvant moduler le cycle cellulaire, on trouve les gènes *Potri.005G027700*, *Potri.014G194900*, *Potri.005G209800* et *Potri.002G143400* codant

pour des cycline H, cycline C et cyclines P. Chez *Arabidopsis*, la protéine CYCLIN H1 interagit avec et active les protéines CDKDs, activant ainsi plusieurs points de contrôle du cycle cellulaire (Zhou *et al.*, 2013). Les Cyclines de type P interagissent préférentiellement avec CDKA-1 *in vivo* et *in vitro*. Elles sont principalement exprimées dans les cellules en prolifération, mais aussi dans les tissus différenciés et matures (Torres Acosta *et al.*, 2004).

L'ensemble de ces régulations pourrait suggérer une régulation négative du cycle cellulaire. Cependant, la régulation négative des gènes *Potri.007G042300* et *Potri.009G103600*, codant pour des protéines de type KRP (KIP-RELATED PROTEIN) rendent cette analyse complexe. En effet, chez *Arabidopsis*, ces protéines codent des cyclines-dépendantes kinases régulant négativement la division cellulaire à travers l'inhibition des CDKA1 (Cheng *et al.*, 2013). De même, le gène *Potri.001G289200* codant pour une protéine homologue à TOR1 chez *Arabidopsis* est lui surexprimé dans l'apex des peupliers suite à la brûlure (Log2FC proche de 2). Target of Rapamycin (TOR) est une protéine de type phosphatidylinositol 3-kinase qui intègre des signaux métaboliques pour réguler la croissance et la division cellulaire chez les eucaryotes. Chez *Arabidopsis*, il a été montré que le gène *AtTOR* s'exprime notamment dans le méristème apical caulinaire et le méristème apical racinaire (Menand *et al.*, 2002). Or, un retard de croissance de la tige a été observé dans des mutants knockout *tor1* chez *Arabidopsis*. De plus, il a été récemment suggéré que *AtTOR*, activé par la lumière et l'auxine, phosphoryle E2FA et E2FB pour activer la phase S du cycle cellulaire dans le méristème apical de tige (Li *et al.*, 2017).

S'intéresser uniquement à l'activité du cycle cellulaire comme régulateur de la croissance d'un organe est cependant réducteur. En effet, comme discuté par Harashima et Schnittger (2010), la division cellulaire, la croissance et la différenciation sont intimement liées et des phénomènes de compensation entre ces mécanismes sont observés chez certains mutants. Par exemple, dans de nombreux cas où la prolifération cellulaire est activée par une surexpression des gènes stimulant le cycle cellulaire, la taille de l'organe est fortement réduite, ce qui laisse supposer un mécanisme de compensation entre division et expansion cellulaire.

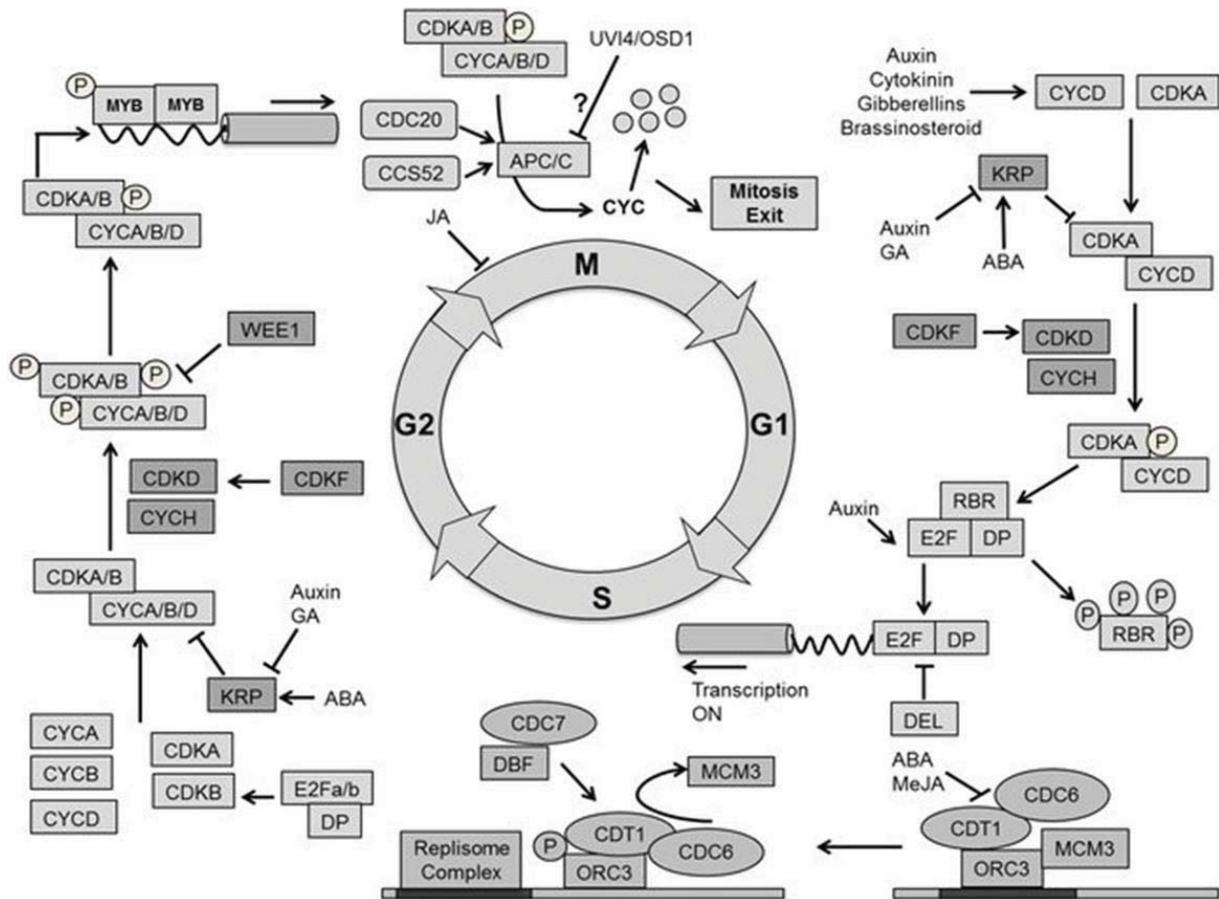


Figure 63 : Mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation du cycle cellulaire chez les plantes Les quatre phases du cycle cellulaire (G1, S, G2 et M) fonctionnent par l'activation et la désactivation successives des kinases dépendantes des cyclines (CDKs). Au cours du cycle cellulaire, ces kinases se lient aux cyclines et sont activées par phosphorylation par des kinases activatrices de CDKs (CDKD et CDKF) tandis que les KRPs inhibent les complexes. La transition de G1 à S est contrôlée par la CDKA-CYCD qui phosphoryle les protéines RBRs et libère le facteur de transcription E2F, qui active les gènes liés à la phase S. La transition G2-M est dépendante de la CDKA/B et de la CYCA/B/D. Le complexe CDK est inactivé par phosphorylation *via* WEE1. La sortie de la mitose nécessite une dégradation protéolytique des CYCs qui est médiée par le complexe promoteur d'anaphase/cyclosome (APC/C) qui se lie à CCS52 et CDC20. Les phytohormones comme l'auxine, la cytokinine, les gibbérellines (GA), les brassinostéroïdes, l'acide abscissique (ABA) et le méthyl jasmonate (MeJA) ont un impact sur la régulation du cycle cellulaire à différents moments (les flèches pointues et en forme de T indiquent une régulation positive et négative et le point d'interrogation indique une régulation inconnue, respectivement). D'après Kalve *et al.*, (2014).

Nous nous sommes donc également intéressés à des acteurs connus de la croissance au niveau de l'organe chez le peuplier et *Arabidopsis* (Tableau 26, Annexes). De manière intéressante, on retrouve dans l'apex de peuplier suite à la brûlure une forte surexpression de *PtaZFP2* (*Potri.001G235800*, Log2FC 7.38), un facteur de transcription régulé par la flexion et par la brûlure (Martin *et al.*, 2009; Tixier *et al.*, 2014). Or, des études menées au laboratoire sur des peupliers transgéniques montrent que la surexpression de ce gène chez le peuplier induit une forte réduction de la croissance longitudinale (Martin *et al.*, 2014). De même, le gène *Potri.002G064400* codant une protéine GIGANTEA (GI), protéine nucléaire spécifique des plantes, impliquée dans de nombreuses facettes du développement des plantes (notamment dans le contrôle de la floraison, élongation de l'hypocotyle, période circadienne, tolérance au sel) est également surexprimé dans nos conditions. Or, des peupliers transgéniques sous-exprimant ce gène ou surexprimant ce gène, présentent respectivement une augmentation et une réduction de la croissance longitudinale de la tige (Ding *et al.*, 2018; Ke *et al.*, 2017). Par ailleurs, connaissant l'importance de l'auxine dans l'expansion cellulaire, nous nous sommes intéressés aux gènes de peuplier homologues des gènes *SAURs*, gènes régulés notamment par l'auxine et correspondant à des acteurs majeurs de la plante pour l'adaptation de la croissance et du développement (Stortenbeker et Bemer, 2019). Chez *Arabidopsis*, plusieurs protéines *SAURs* sont impliquées dans l'activation de la pompe à protons plasmalemmique en inhibant des phosphatases de type PP2C.D (Spartz *et al.*, 2014). Parmi les 105 gènes *SAURs* décrits chez le peuplier (Hu *et al.*, 2018), 12 gènes sont régulés dans nos conditions, 9 d'entre-eux étant fortement sous-exprimés et 3 autres fortement surexprimés. Le rôle des gènes *SAURs* n'est pas connu dans la croissance chez le peuplier mais ces gènes représentent des cibles potentielles intéressantes. Enfin, les gibbérellines sont connues comme jouant un rôle important dans la croissance des tiges chez le peuplier. En effet, des peupliers transgéniques surexprimant un gène codant une GA-20 oxydase, enzyme activant la biosynthèse de GA active, présentent une augmentation de la croissance de la tige (Eriksson *et al.*, 2000). Or dans nos conditions, un gène codant pour cette enzyme est réprimé (*Potri.007G103800*) et deux gènes codant pour des GA2-oxydases (*Potri.011G134000*, *Potri.001G378400*), enzymes connues au contraire dans le catabolisme des GAs sont fortement induits dans l'apex suite à la blessure. Ces résultats suggèrent une diminution de la concentration en GA active dans la partie apicale de la tige qui pourrait impacter négativement sa croissance.

VII. Conclusion du chapitre 3

Jamais une étude transcriptomique n'avait menée en lien avec une réponse électrique chez le peuplier. Ces résultats montrent qu'une flexion de tige de peuplier induit une réponse transcriptionnelle à distance de la zone sollicitée uniquement en correspondance avec le passage d'un PG. Ces données nous ont permis de mettre en évidence des voies de signalisation différentes en réponse à deux sollicitations mécaniques distinctes, liées à chacune à une réponse électrique OL et PG. Ces données de RNA seq ayant été obtenues en fin de thèse, l'analyse mérite d'être approfondie pour mieux comprendre les mécanismes impliqués.

Conclusions et Perspectives

I. Potentiel graduel et couplage hydro-électrique

Les expériences décrites dans le premier chapitre avaient pour but d'étudier la réponse électrique à la flexion de tige de peuplier. Les résultats obtenus ont été comparés à deux types de signaux électriques déjà connus dans la littérature : i) une onde lente se propageant dans la tige, déclenchée dans notre étude par la brûlure d'une feuille, ii) un potentiel d'action putatif, mesuré ici en réponse à un choc froid. Il apparaît que la réponse électrique déclenchée par une flexion présente des caractéristiques originales qui la distinguent des autres signaux électriques. En effet, bien qu'elle ait la forme d'un PA, son amplitude n'est pas constante et sa vitesse de propagation, élevée, présente une atténuation exponentielle. Ces caractéristiques la différencient du PA et de sa propagation électrotonique, poussant à imaginer un autre mode de propagation. Ce signal généré par la flexion présente également des caractéristiques qui le distinguent clairement d'une onde lente. Nos résultats suggèrent donc l'existence d'un nouveau type de signal électrique : le potentiel graduel. Comment est-il généré et quel est son mode de propagation ?

Lopez *et al.*, 2014 ont montré chez le peuplier que la flexion induit une onde de pression hydraulique (OP) dans la tige. De cette observation est née l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique : l'onde de pression se propageant dans le xylème serait responsable de l'ouverture de canaux mécanosensibles dans les cellules voisines du parenchyme initiant le potentiel graduel.

Afin d'approfondir cette hypothèse, plusieurs expériences ont été menées et présentées dans le chapitre 2. Etant donné que l'OP présente une amplitude qui varie en fonction de l'intensité de la flexion, nous avons testé l'effet de l'intensité de la flexion sur l'amplitude du PG généré et sur sa distance maximale de propagation. Il s'est avéré que la distance de propagation et la vitesse de propagation sont deux paramètres du PG impactés par l'intensité de la flexion, mais que, contrairement à ce qui était attendu, l'amplitude à proximité de la zone sollicitée ne varie pas avec l'intensité de la flexion appliquée sur la tige. Bien que plusieurs expériences permettent une corrélation entre ces 2 signaux (flexion-déflexion, mise sous pression artificielle du système vasculaire de la plante), cette observation va à l'encontre de l'intuition formulée par l'hypothèse du couplage hydro-électrique et ne nous permet pas de conclure sur l'origine du potentiel graduel.

Plusieurs points mériteraient donc d'être clarifiés afin de définir l'origine et la nature du PG. Tout d'abord, il est important d'écarter définitivement l'alternative à l'hypothèse du couplage hydro-électrique qui est la propagation électrotonique du PA, comme discuté dans le chapitre 1. Ce qui distingue le PA du PG est l'atténuation de l'amplitude, et la vitesse de propagation. Cependant, l'affirmation selon laquelle un PA ne présente pas d'atténuation de son amplitude n'a jamais été vérifiée chez le peuplier. En effet, aucun PA se propageant sur plusieurs centimètres a été mesuré chez le peuplier. Rappelons que le PA putatif mesuré en réponse à un choc froid dans cette étude, se propage sur une distance inférieure à 2 cm et à une vitesse de $0,5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Il serait donc pertinent, dans un premier temps, d'écarter de manière plus assurée la possibilité d'une propagation électrotonique du PG en caractérisant un PA chez le peuplier sur une longue distance de tige par l'application d'une tension électrique, à l'instar de ce qui a été fait sur le tournesol (Zawadzki *et al.*, 1991). Par ailleurs, les difficultés pour faire le lien entre l'OP et le PG résident dans le fait que la caractérisation de l'OP générée par la flexion de la tige de peuplier mérite d'être approfondie. En effet, l'évolution de l'amplitude de l'OP et de sa vitesse au cours de sa propagation n'ont pas été mesurées. Il faudrait pouvoir les caractériser par la pose de plusieurs capteurs de pression le long de la tige. Cette expérience a été tentée lors de la thèse, la difficulté première semble d'éviter la génération d'embolie entre la membrane qui constitue le capteur de pression et la continuité hydraulique de la plante. En effet, du fait de la pression négative dans le système vasculaire de la plante, une bulle d'air est générée quasi systématiquement lors de la connexion du capteur à la plante. Pour éviter ce problème, Lopez *et al.* (2014) ont rendu la pression du xylème positive par un apport de solution nitrée. Une autre piste pour étudier l'hypothèse du couplage hydro-électrique pourrait être de suivre la réponse électrique de plantes en stress hydrique et/ou présentant différents niveaux d'embolie. Le niveau d'embolie pourrait être finement caractérisé au tomographe. La perturbation de la continuité hydraulique dans les vaisseaux du xylème pourrait avoir un impact sur la propagation du PG. En conclusion, ces expériences complémentaires permettraient probablement d'écarter l'hypothèse du couplage hydro-électrique ou, au contraire, de rendre possible la construction d'un modèle numérique rendant compte de la propagation de l'OP et du PG.

Dans une perspective plus lointaine mais déjà entamée ici avec l'expérience menée sur le douglas, il serait intéressant de tester la généralité de la réponse électrique induite par la flexion chez d'autres essences. Les travaux présentés dans cette thèse montrent que le PG généré en réponse à la flexion de tige de peuplier, une angiosperme, est différent de celui mesuré sur le douglas, un conifère. Ces premiers résultats suggèrent que ce type de signal électrique peut être

généralisé chez d'autres espèces, mais qu'il présente une certaine variabilité interspécifique. À travers ces variabilités il est envisageable de mieux comprendre la nature du PG comme cela a pu être discuté lors du chapitre 1 concernant l'anatomie du système vasculaire. Le choix en priorité des prochaines espèces à tester électrophysiologiquement en réponse à la flexion se porterait sur la tomate et sur le tournesol. À l'instar du peuplier, ces deux espèces appartiennent au groupe des dicotylédones, mais à la différence de celui-ci, ce sont des plantes annuelles. L'intérêt pour le tournesol s'explique par les données électrophysiologiques décrivant le PA déjà présentes dans la littérature, la comparaison entre PA et PG (s'il est généré) sera facilitée. L'intérêt pour la tomate s'explique partiellement par les données sur les signaux électriques présentes dans la littérature (Sambeek et Pickard, 1976b; Wildon *et al.*, 1992) mais surtout par la possibilité de mesurer en continu sa réponse en croissance primaire en réponse à la flexion de tige (Coutand *et al.*, 2000; Coutand et Moulia, 2000). Il serait donc intéressant d'étudier le lien possible entre la propagation du PG et l'arrêt de croissance primaire déjà caractérisé.

Toutefois, le peuplier demeure un modèle intéressant. En effet, Kern *et al.* (2005) ont montré que 7 hybrides différents de peuplier présentent une variabilité intraspécifique en réponse à la flexion d'une tige, à la fois en termes de croissance radiale (évolution des propriétés mécaniques du bois nouvellement formé dans la zone fléchie) qu'en termes de croissance longitudinale. De plus, des résultats d'analyses moléculaires présentés dans la thèse de Jeanne Roignant (2018) semblent refléter aussi cette variabilité intraspécifique. Ainsi, les gènes *CLE21* (ou *CLE12.2*) et *MAP70-5* sont surexprimés significativement à un niveau supérieur dans la zone sollicitée chez *Populus tremula x tremuloides* par rapport au niveau d'expression chez *Populus tremula x alba*, en réponse à une flexion de la tige. Étudier la variabilité intraspécifique du PG chez ces différents hybrides de peuplier en réponse à la flexion pourrait aider à comprendre la genèse, la nature du PG et son importance dans la mise en place des réponses thigmomorphogénétiques.

II. Réponses transcriptionnelles à distance de la zone fléchie

Les travaux présentés dans le chapitre 3 avaient pour objectif de mettre en évidence une réponse moléculaire à distance de la zone sollicitée par la flexion de la tige, et éventuellement d'établir un lien avec la propagation du PG. L'analyse des données RNA seq a révélé une réponse transcriptionnelle importante à distance de la zone sollicitée et cette réponse semble dépendre du passage d'un PG, puisque aucune modulation du transcriptome n'est révélée dans l'apex et en A2, zones que le PG n'a pas atteintes. Cette réponse transcriptionnelle, étudiée 30

minutes après la flexion, met principalement en évidence une répression de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire et la surexpression de voies de signalisation hormonales.

Cette répression de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire est générale, elle touche à la fois les gènes régulateurs de la voie (notamment *SND1/2/3* et *MYB46/83*) et les gènes codant pour les enzymes impliquées dans la biosynthèse des différents composants de la paroi secondaire. Par exemple, ce sont 19 des 50 gènes codant pour des laccases chez le peuplier qui sont réprimés à distance de la zone sollicitée après le passage du PG. Ces résultats suggèrent que l'activité cambiale, étudiée jusque-là dans la zone fléchie, pourrait être affectée également sur des zones plus étendues de la tige. Ces données sont importantes dans le cadre de la compréhension de la réponse globale la plante pour résister au vent.

Bien que les données transcriptomiques obtenues dans la zone fléchie (Pomies *et al*, 2017) aient été obtenues par une approche moins sensible que celle utilisée pour étudier la régulation du transcriptome à distance, leur comparaison montre que sur les 3136 gènes régulés en A1 seulement 6,4% sont communs avec les gènes régulés dans la zone fléchie 30 minutes après la flexion. Cette comparaison doit être considérée avec précaution mais il est intéressant de remarquer que seuls deux gènes *LACs* sont régulés dans la zone fléchie, l'un est surexprimé et l'autre réprimé. De manière générale, les gènes de la voie de biosynthèse de la paroi secondaire ne sont pas réprimés dans la zone sollicitée après 30 minutes. Ces résultats, pris dans leur ensemble, suggèrent que les réponses transcriptionnelles dans la zone sollicitée et à distance de la sollicitation soient différentes.

Ces réponses transcriptionnelles différentes peuvent s'expliquer par la perception de deux déformations distinctes lors de la flexion de la tige : la première est locale, issue de l'étirement et la compression des cellules lors de la flexion, et la seconde est issue de la transduction de la première, elle correspond à la déformation générée par l'onde de pression. Ces deux déformations différentes seraient perçues par deux systèmes de mécanoperceptions distincts. On sait par exemple par les travaux de Shih *et al.* (2014) qu'une élévation de $[Ca^{2+}]_{cyt}$ est mise en évidence en réponse à la flexion transitoire de la racine d'*Arabidopsis*. La réponse calcique est biphasique, constituée de deux pics distincts, ne se propageant pas au-delà de la zone sollicitée. L'étude des mutants *fer-2* et *fer-4* montre l'implication du récepteur FERONIA de type RLK (receptor-like kinases) dans l'élévation d'un deux pics de $[Ca^{2+}]_{cyt}$. Les auteurs proposent que l'autre pic de $[Ca^{2+}]_{cyt}$ implique l'activation de canaux mécanosensibles. Il est intéressant de noter que les gènes codant pour FERONIA (*Potri.006G110000*) et RALF1 (*Potri.005G025800*), peptide connu pour interagir avec FERONIA, sont régulés positivement 30 minutes après une flexion, dans la zone fléchie (Pomies *et al.*, 2017). Des gènes codant pour

des canaux mécanosensibles sont aussi régulés dans la zone sollicitée : *PtOSCA1.6* est régulé négativement dans la zone fléchie 30 minutes après la flexion, puis il est régulé positivement 2h après la flexion. Tandis que *PtOSCA1.8* et *OSCA1.9* sont tous les deux régulés négativement dans la zone fléchie 30 minutes et 2h après la flexion de la tige (Pomies *et al.*, 2017). En revanche, à distance de la zone sollicitée, dans notre étude, aucun de ces gènes n'est régulé. Par contre, les gènes codant des canaux mécanosensibles de type MCA sont induits. Bien qu'une étude transcriptionnelle ne reflète pas directement l'activité des gènes régulés, les différences que nous observons entre zone sollicitée et zone à distance montrent le déclenchement de voies de signalisation différentes.

En plus des informations biologiques fournies par ces analyses, cette approche sans *a priori* peut fournir des marqueurs moléculaires plus ou moins spécifiques d'une condition. Ainsi, parmi les gènes régulés communs entre la zone sollicitée (Pomies *et al.* (2017) et A1, le gène codant pour le peptide CLE21 (*PtCLE21/PtCLE12.2*) est retrouvé. Réprimé dans un premier temps 30 minutes après la flexion dans la zone sollicitée, il est ensuite surexprimé 2 heures après la flexion. En A1, il est fortement réprimé 30 minutes à la flexion. D'après les travaux de Roignant (2018), CLE21 a un impact sur l'activité du cambium et sur la mise en place de la paroi cellulaire, ce qui pourrait avoir des répercussions sur le diamètre des vaisseaux du xylème. Toutefois, son mode d'action reste inconnu. Il est à noter que dans la zone fléchie, l'expression de *PtCLE21* est régulée à la fois dans les cellules comprimées et dans les cellules étirées mais elle reste inchangée dans les cellules situées dans la zone neutre non ou peu déformées. Cette régulation, qui fait le lien entre intensité de déformation et réponse cambiale, fait de *PtCLE21* un bon marqueur d'une déformation perçue par les cellules. Dans cette perspective, sa régulation en A1 est cohérente avec l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique impliquant la déformation par l'OP des cellules voisines des vaisseaux du xylème. L'étude plus fine de sa régulation à distance, à la fois en cinétique et par une approche tissu-spécifique, pourrait apporter des informations intéressantes sur les mécanismes en jeu à distance. L'expression de ce gène pourrait être comparée à celle de gènes régulés plus spécifiquement à distance, caractérisés dans notre étude.

Dans le cadre de l'hypothèse du couplage hydro-électrique, la génération du PG se fait par l'intermédiaire de mécanorécepteurs activés lors du passage de l'onde de pression hydraulique. La création de lignées transgéniques sous-exprimant des mécanorécepteurs putativement impliqués dans la propagation du PG permettrait d'une part d'apporter un argument fort au couplage hydro-électrique. La détermination des mécanorécepteurs à tester est une entreprise ardue car la liste des candidats est longue. Dans le chapitre 3, il a été proposé de réduire

fortement cette liste à partir d'une hypothèse, les gènes codant pour les mécanorécepteurs pourraient être eux-mêmes régulés en réponse à la perception de la déformation. Ainsi, les gènes codant pour MCA1 et MCA2 sont les seuls régulés en A1 en réponse à la flexion. Avant de produire des plantes transgéniques, ils pourraient également être intéressant de localiser l'expression de ces gènes par une approche d'hybridation *in situ*.

III. Brûlure et Flexion à l'origine de réponses électriques et transcriptionnelles différentes

L'OL et le PG se distinguent, en tant que potentiels vecteurs de l'information à longue distance dans la plante, par leur distance de propagation. En effet, l'OL, en réponse à la brûlure, parcourt environ 15 cm dans la feuille et le pétiole puis 10 cm de tige pour atteindre l'apex. Alors que le PG induit par la flexion se propage sur 17 cm environ, voire sur moins de 8 cm lors de la flexion d'une section jeune de la tige. L'OL constitue un vecteur d'information présentant une portée bien supérieure à celle du PG dans la plante. Dans ce contexte, nos résultats montrant qu'une réponse transcriptomique est induite dans l'apex dans le cas de l'onde lente alors qu'aucune réponse n'est observée dans le cas de la flexion conforte notre hypothèse que le passage d'un PG est nécessaire pour déclencher les réponses à distance lors de la flexion.

Par ailleurs, jusqu'à présent, dans la littérature, aucune étude n'a permis de comparer les réponses transcriptionnelles déclenchées à distance suite à deux réponses électriques de nature différente.

Or, les réponses transcriptionnelles induites par la brûlure et la flexion sont fortement différentes dans la tige (Z2 vs A1). Tout d'abord, la réponse transcriptionnelle suite au passage de l'OL dans la tige est fortement asymétrique en induisant une surexpression massive des gènes (88% des gènes régulés), alors qu'en réponse à la flexion de la tige, en A1, les gènes surexprimés ne représentent que 48,5% des DEGs. Par ailleurs, on ne retrouve que 8,2% des gènes régulés en réponse à la brûlure d'une feuille dans la liste des DEGs régulés en réponse à la flexion de la tige. Une analyse plus approfondie de la liste des gènes communs ou spécifiques est nécessaire et permettrait de mettre en évidence des voies de signalisation spécifiques de l'un ou l'autre de ces signaux. Ces voies de signalisation pourraient être comparées aux voies qui commencent à être décrites en lien avec l'activation des différents types de mécanorécepteurs.

La brûlure induit à distance une activation forte de la voie de biosynthèse des JAs. Même si cette activation est également observée en réponse à la flexion, elle est nettement moins importante et surtout elle concerne des gènes différents. En effet, les gènes codant *a priori* pour

les enzymes 13-LOX, AOS et AOC sont surexprimés après le passage d'une OL, ce qui correspond aux trois premières enzymes de la voie de biosynthèse des JAs. En revanche, suite au passage du PG, il semblerait que ce soit des gènes codant pour des enzymes 9-LOXs qui sont légèrement surexprimés. En effet, 4 gènes LOXs sont surexprimés en A1 : *Potri.010G089500* et *Potri.008G151500* sont des homologues d'*AtLOX5*, et *Potri.014G177200* et *Potri.014G018200* forment un clade à part et sans équivalence chez *Arabidopsis*, situé entre les *AtLOX1* et 5 d'un côté et les *AtLOX2-3-4-6* de l'autre. De plus, les gènes codant pour les enzymes AOS et AOC ne sont pas régulés en A1 en réponse à la flexion. La non-activation de la biosynthèse des JAs en réponse à la flexion renforce la distinction du PG et du PA. En effet, la propagation du PA est, comme celle de l'OL, liée à l'accumulation de JA et à l'activation de sa voie de signalisation comme l'ont montré Pavlovic *et al.* (2020) chez la Vénus Attrape-Mouche, par une approche pharmacologique centrée sur l'utilisation d'anesthésiants.

Ces mécanismes de communication à longue distance permettent une adaptation globale de la plante à son environnement. Ils participent aux mécanismes nécessaires à la plante pour s'adapter et mieux résister aux vents chroniques fluctuants. Ces travaux de recherche, permettant pour la première fois de faire le lien entre un signal généré par la flexion et se propageant à distance, et le déclenchement d'une réponse biologique vont permettre à l'équipe MECA de mieux comprendre comment les plantes ajustent leur croissance au vent. Un deuxième point d'intérêt est que ce lien permet de compléter le modèle biomécanique S^3m , utilisé au laboratoire pour prédire les réponses de croissance en fonction des déformations. En effet, dans ce modèle, la réponse à distance est reliée à la somme des déformations par une relation logarithmique (Coutand *et al.*, 2000) alors que la réponse locale (expression de gènes) présente une corrélation linéaire. Cette différence signifie que la nature du signal a évolué, impliquant un signal secondaire à longue distance. Ce signal pourrait être le potentiel graduel, qui comme nous l'avons mis en évidence est complexe. En effet, ce n'est pas l'amplitude du PG qui dépend de la déformation appliquée sur la tige mais sa distance de propagation. Ces travaux ouvrent donc de nombreuses perspectives pour aborder cette relation complexe.

Bibliographie

- Asher, W. C. (1968). Response of pine seedlings to mechanical stimulation. *Nature*, 217(5124), 134–136. <https://doi.org/10.1038/217134a0>
- Axelsen, K. B., & Palmgren, M. G. (2001). Inventory of the Superfamily of P-Type Ion Pumps in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 126(2), 696–706. <https://doi.org/10.1104/pp.126.2.696>
- Bakshi, A., Shemansky, J. M., Chang, C., & Binder, B. M. (2015). History of Research on the Plant Hormone Ethylene. In *Journal of Plant Growth Regulation* (Vol. 34, Issue 4, pp. 809–827). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s00344-015-9522-9>
- Barajas-Lopez, J. de D., Tiwari, A., Zarza, X., Shaw, M. W., Pascual, J., Punkkinen, M., Bakowska, J. C., Munnik, T., & Fujii, H. (2021). EARLY RESPONSE TO DEHYDRATION 7 Remodels Cell Membrane Lipid Composition during Cold Stress in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, 62(1), 80–91. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa139>
- Barbe, C., & Keller, R. (1996). Les rayons ligneux et le matériau bois. *Revue Forestière Française*, 1, 63. <https://doi.org/10.4267/2042/26729>
- Basu, D., & Haswell, E. S. (2017). Plant mechanosensitive ion channels: an ocean of possibilities. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 40, pp. 43–48). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.07.002>
- Becker, D., Geiger, D., Dunkel, M., Roller, A., Bertl, A., Latz, A., Carpaneto, A., Dietrich, P., Roelfsema, M. R. G., Voelker, C., Schmidt, D., Mueller-Roeber, B., Czempinski, K., & Hedrich, R. (2004). AtTPK4, an Arabidopsis tandem-pore K⁺ channel, poised to control the pollen membrane voltage in a pH- and Ca²⁺-dependent manner. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15621–15626. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401502101>
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 57(1), 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Bonaventure, G., Gfeller, A., Rodríguez, V. M., Armand, F., & Farmer, E. E. (2007). The fou2 Gain-of-Function Allele and the Wild-Type Allele of Two Pore Channel 1 Contribute to Different Extents or by Different Mechanisms to Defense Gene Expression in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, 48(12), 1775–1789. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcm151>
- Bonnesoeur, V., Constant, T., Moulia, B., & Fournier, M. (2016). Forest trees filter chronic wind-signals to acclimate to high winds. *New Phytologist*, 210(3), 850–860. <https://doi.org/10.1111/nph.13836>
- Borghgi, L., Kang, J., Ko, D., Lee, Y., & Martinoia, E. (2015). The role of ABCG-type ABC transporters in phytohormone transport. *Biochemical Society Transactions*, 43(5), 924–930. <https://doi.org/10.1042/BST20150106>
- Bose, J., Pottosin, I. I., Shabala, S. S., Palmgren, M. G., & Shabala, S. (2011). Calcium efflux systems in stress signaling and adaptation in plants. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 2, Issue DEC, p. 85). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00085>
- Braam, J. (2004). In touch: plant responses to mechanical stimuli. *New Phytologist*, 165(2), 373–389. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01263.x>
- Braam, J., & Davis, R. W. (1990). Rain-, wind-, and touch-induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in Arabidopsis. *Cell*, 60(3), 357–364. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90587-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90587-5)
- Brenya, E., Pervin, M., Chen, Z. H., Tissue, D. T., Johnson, S., Braam, J., & Cazzonelli, C. I. (2022). Mechanical stress acclimation in plants: Linking hormones and somatic memory to thigmomorphogenesis. In *Plant Cell and Environment*. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/pce.14252>
- Cao, L., Zhang, P., Lu, X., Wang, G., Wang, Z., Zhang, Q., Zhang, X., Wei, X., Mei, F., Wei, L., & Wang, T. (2020). Systematic analysis of the maize OSCA genes revealing ZmOSCA family members involved in osmotic stress and ZmOSCA2.4 confers enhanced drought tolerance in transgenic arabidopsis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 351. <https://doi.org/10.3390/ijms21010351>
- Cazzonelli, C. I., Nisar, N., Roberts, A. C., Murray, K. D., Borevitz, J. O., & Pogson, B. J. (2014). A chromatin

- modifying enzyme, SDG8, is involved in morphological, gene expression, and epigenetic responses to mechanical stimulation. *Frontiers in Plant Science*, 5(OCT), 533. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00533>
- Chang, S., Puryear, J., & Cairney, J. (1993). A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant Molecular Biology Reporter*, 11(2), 113–116. <https://doi.org/10.1007/BF02670468>
- Chauvin, A., Caldelari, D., Wolfender, J. L., & Farmer, E. E. (2013). Four 13-lipoxygenases contribute to rapid jasmonate synthesis in wounded *Arabidopsis thaliana* leaves: A role for lipoxygenase 6 in responses to long-distance wound signals. *New Phytologist*, 197(2), 566–575. <https://doi.org/10.1111/nph.12029>
- Cheeseman, J. M., & Pickard, B. G. (1977). Depolarization of cell membranes in leaves of *Lycopersicon* by extract containing Ricca's factor. *Canadian Journal of Botany*, 55(5), 511–519. <https://doi.org/10.1139/b77-061>
- Chehab, E. W., Yao, C., Henderson, Z., Kim, S., & Braam, J. (2012). *Arabidopsis* touch-induced morphogenesis is jasmonate mediated and protects against pests. *Current Biology*, 22(8), 701–706. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.02.061>
- Chen, J., Jing, Y., Zhang, X., Li, L., Wang, P., Zhang, S., Zhou, H., & Wu, J. (2016). Evolutionary and Expression Analysis Provides Evidence for the Plant Glutamate-like Receptors Family is Involved in Woody Growth-related Function. *Scientific Reports*, 6(1), 32013. <https://doi.org/10.1038/srep32013>
- Chen, L., Wang, Q. Q., Zhou, L., Ren, F., Li, D. Di, & Li, X. B. (2013). *Arabidopsis* CBL-interacting protein kinase (CIPK6) is involved in plant response to salt/osmotic stress and ABA. *Molecular Biology Reports*, 40(8), 4759–4767. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2572-9>
- Chen, Y. H., Hu, L., Punta, M., Bruni, R., Hillerich, B., Kloss, B., Rost, B., Love, J., Siegelbaum, S. A., & Hendrickson, W. A. (2010). Homologue structure of the SLAC1 anion channel for closing stomata in leaves. *Nature*, 467(7319), 1074–1080. <https://doi.org/10.1038/nature09487>
- Cheng, Y., Cao, L., Wang, S., Li, Y., Shi, X., Liu, H., Li, L., Zhang, Z., Fowke, L. C., Wang, H., & Zhou, Y. (2013). Downregulation of multiple CDK inhibitor ICK/KRP genes upregulates the E2F pathway and increases cell proliferation, and organ and seed sizes in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 75(4), 642–655. <https://doi.org/10.1111/tpj.12228>
- Choi, W.-G., Hilleary, R., Swanson, S. J., Kim, S.-H., & Gilroy, S. (2016). Rapid, Long-Distance Electrical and Calcium Signaling in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 67(1), 287–307. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-112130>
- Choi, W. G., Toyota, M., Kim, S. H., Hilleary, R., & Gilroy, S. (2014). Salt stress-induced Ca²⁺ waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(17), 6497–6502. <https://doi.org/10.1073/pnas.1319955111>
- Choi, W., Miller, G., Wallace, I., Harper, J., Mittler, R., & Gilroy, S. (2017). Orchestrating rapid long-distance signaling in plants with Ca²⁺, ROS and electrical signals. *The Plant Journal*, 90(4), 698–707. <https://doi.org/10.1111/tpj.13492>
- Christmann, A., Grill, E., & Huang, J. (2013). Hydraulic signals in long-distance signaling. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 16, Issue 3, pp. 293–300). <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.011>
- Christmann, A., Weiler, E. W., Steudle, E., & Grill, E. (2007). A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *The Plant Journal*, 52(1), 167–174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03234.x>
- Cochard, H., Cruiziat, P., & Tyree, M. T. (1992). Use of positive pressures to establish vulnerability curves: Further support for the air-seeding hypothesis and implications for pressure-volume analysis. *Plant Physiology*, 100(1), 205–209. <https://doi.org/10.1104/pp.100.1.205>
- Coste, B., Mathur, J., Schmidt, M., Earley, T. J., Ranade, S., Petrus, M. J., Dubin, A. E., & Patapoutian, A. (2010). Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science*, 330(6000), 55–60. <https://doi.org/10.1126/science.1193270>
- Coutand, C., Julien, J. L., Moulia, B., Mauget, J. C., & Guitard, D. (2000). Biomechanical study of the effect of a controlled bending on tomato stem elongation: global mechanical analysis. *Journal of Experimental Botany*, 51(352), 1813–1824. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.352.1813>
- 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*, 51(352), 1825–1842. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.352.1825>

- Coutand, Catherine, Dupraz, C., Jaouen, G., Ploquin, S., & Adam, B. (2008). Mechanical stimuli regulate the allocation of biomass in trees: Demonstration with young *Prunus avium* trees. *Annals of Botany*, *101*(9), 1421–1432. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn054>
- Coutand, Catherine, Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Decourteix, M., Julien, J. L., & Moulia, B. (2009). Strain mechanosensing quantitatively controls diameter growth and PtaZFP2 gene expression in poplar. *Plant Physiology*, *151*(1), 223–232. <https://doi.org/10.1104/pp.109.138164>
- Cruiziat, P., Cochard, H., & Améglio, T. (2002). Hydraulic architecture of trees: Main concepts and results. *Annals of Forest Science*, *59*(7), 723–752. <https://doi.org/10.1051/forest:2002060>
- Cuin, T., Dreyer, I., Michard, E., Cuin, T. A., Dreyer, I., & Michard, E. (2018). The Role of Potassium Channels in *Arabidopsis thaliana* Long Distance Electrical Signalling: AKT2 Modulates Tissue Excitability While GORK Shapes Action Potentials. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(4), 926. <https://doi.org/10.3390/ijms19040926>
- Dahse, I., Müller, E., Liebermann, B., & Eichhorn, M. (1988). The Membrane Potential as Indicator for Transport and Energetic Processes of Leaf Cells of the Aquatic Plant *Egeria densa*. *Biochemie Und Physiologie Der Pflanzen*, *183*(1), 59–66. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(88\)80070-2](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(88)80070-2)
- Demidchik, V., & Shabala, S. (2018). Mechanisms of cytosolic calcium elevation in plants: The role of ion channels, calcium extrusion systems and NADPH oxidase-mediated “ROS-Ca²⁺ Hub.” *Functional Plant Biology*, *45*(1–2), 9–27. <https://doi.org/10.1071/FP16420>
- Demidchik, V., Shabala, S., Isayenkov, S., Cuin, T. A., & Pottosin, I. (2018). Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions. *New Phytologist*, *220*(1), 49–69. <https://doi.org/10.1111/nph.15266>
- Depege, N., Thonat, C., Coutand, C., Julien, J. L., & Boyer, N. (1997). Morphological Responses and Molecular Modifications in Tomato Plants after Mechanical Stimulation. *Plant and Cell Physiology*, *38*(10), 1127–1134. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029097>
- Desbiez, M.-O. (1973). Précisions sur le mécanisme des corrélations entre bourgeons cotylédonaire induites par des stimulations mécaniques du cotylédon chez *Bidens pilosus* L. *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, *69*(2), 174–180. [https://doi.org/10.1016/s0044-328x\(73\)80035-2](https://doi.org/10.1016/s0044-328x(73)80035-2)
- Desbiez, M. O. (1971). Induction de préséances entre bourgeons cotylédonaire par des stimulations mécaniques chez *Bidens pilosus* L. *Biologia Plantarum*, *13*(5–6), 375–382. <https://doi.org/10.1007/BF02930927>
- Desvoyes, B., & Gutierrez, C. (2020). Roles of plant retinoblastoma protein: cell cycle and beyond. *The EMBO Journal*, *39*(19), e105802. <https://doi.org/10.15252/embj.2020105802>
- Ding, J., Böhlenius, H., Rühl, M. G., Chen, P., Sane, S., Zambrano, J. A., Zheng, B., Eriksson, M. E., & Nilsson, O. (2018). GIGANTEA-like genes control seasonal growth cessation in *Populus*. *New Phytologist*, *218*(4), 1491–1503. <https://doi.org/10.1111/nph.15087>
- Eriksson, M. E., Israelsson, M., Olsson, O., & Moritz, T. (2000). Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length. *Nature Biotechnology*, *18*(7), 784–788. <https://doi.org/10.1038/77355>
- Erner, Y., & Jaffe, M. J. (1983). Thigmomorphogenesis: membrane lipid and protein changes in bean plants as affected by mechanical perturbation and Ethrel. *Physiologia Plantarum*, *58*(2), 197–203. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04169.x>
- Falgueras, J., Lara, A. J., Fernández-Pozo, N., Cantón, F. R., Pérez-Trabado, G., & Claros, M. G. (2010). SeqTrim: A high-throughput pipeline for pre-processing any type of sequence read. *BMC Bioinformatics*, *11*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-38>
- Fang, X. Z., Zhou, T., Xu, J. Q., Wang, Y. X., Sun, M. M., He, Y. J., Pan, S. W., Xiong, W., Peng, Z. K., Gao, X. H., & Shang, Y. (2021). Structure, kinetic properties and biological function of mechanosensitive Piezo channels. *Cell and Bioscience*, *11*(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00522-z>
- Fang, X., Zhang, Y., Cheng, B., Luan, S., & He, K. (2021). Evidence for the involvement of AtPiezo in mechanical responses. *Plant Signaling and Behavior*, *16*(5). <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1889252>
- Farmer, E. E., Gao, Y. Q., Lenzoni, G., Wolfender, J. L., & Wu, Q. (2020). Wound- and mechanostimulated electrical signals control hormone responses. *New Phytologist*, *227*(4), 1037–1050. <https://doi.org/10.1111/nph.16646>

- Farmer, E. E., Gasperini, D., & Acosta, I. F. (2014). The squeeze cell hypothesis for the activation of jasmonate synthesis in response to wounding. *New Phytologist*, *204*(2), 282–288. <https://doi.org/10.1111/nph.12897>
- Favre, P., & Agosti, R. D. (2007). Voltage-dependent action potentials in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, *0*(0), 070719024921004-???. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00954.x>
- Felle, H. (1987). Proton transport and pH control in *Sinapis alba* root hairs: A study carried out with double-barrelled pH micro-electrodes. *Journal of Experimental Botany*, *38*(2), 340–354. <https://doi.org/10.1093/jxb/38.2.340>
- Fichman, Y., Jr, R. J. M., Grant, D. G., & Mittler, R. (2021). *Plasmodesmata-localized proteins and ROS orchestrate light-induced rapid systemic signaling in Arabidopsis*. *0322*(February), 36–38.
- Fichman, Y., & Mittler, R. (2020). Rapid systemic signaling during abiotic and biotic stresses: is the ROS wave master of all trades? *The Plant Journal*, *102*(5), 887–896. <https://doi.org/10.1111/tpj.14685>
- Fichman, Y., & Mittler, R. (2021). Integration of electric, calcium, reactive oxygen species and hydraulic signals during rapid systemic signaling in plants. *Plant Journal*, *107*(1), 7–20. <https://doi.org/10.1111/tpj.15360>
- Fischer, C., DeFalco, T. A., Karia, P., Snedden, W. A., Moeder, W., Yoshioka, K., & Dietrich, P. (2017). Calmodulin as a Ca²⁺-Sensing Subunit of Arabidopsis Cyclic Nucleotide-Gated Channel Complexes. *Plant and Cell Physiology*, *58*(7), 1208–1221. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx052>
- Fletcher, J. C. (2020). Recent Advances in Arabidopsis CLE Peptide Signaling. In *Trends in Plant Science* (Vol. 25, Issue 10, pp. 1005–1016). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.04.014>
- Frachisse, J. M., & Julien, J. L. (1993). The coupling between extra- and intracellular electric potentials in *Bidens pilosa* L. *Plant, Cell & Environment*, *16*(6), 633–641. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1993.tb00481.x>
- Frachisse, Jean Marie, Thomine, S., & Allain, J. M. (2020). Calcium and plasma membrane force-gated ion channels behind development. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 53, pp. 57–64). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.10.006>
- Fromm, Jörg, & Bauer, T. (1994). Action potentials in maize sieve tubes change phloem translocation. *Journal of Experimental Botany*, *45*(4), 463–469. <https://doi.org/10.1093/jxb/45.4.463>
- Fromm, Jörg, Hajirezaei, M.-R., Becker, V. K., & Lautner, S. (2013). Electrical signaling along the phloem and its physiological responses in the maize leaf. *Frontiers in Plant Science*, *4*(JUL), 239. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00239>
- Fromm, Jörg, & Lautner, S. (2007). Electrical signals and their physiological significance in plants. *Plant, Cell & Environment*, *30*(3), 249–257. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01614.x>
- Fromm, Jorg, & Spanswick, R. (1993). Characteristics of Action Potentials in Willow (*Salix viminalis* L.). *Journal of Experimental Botany*, *44*(7), 1119–1125. <https://doi.org/10.1093/jxb/44.7.1119>
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 9, Issue 4, pp. 436–442). Elsevier Current Trends. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.014>
- Furuichi, T., Iida, H., Sokabe, M., & Tatsumi, H. (2012). Expression of Arabidopsis MCA1 enhanced mechanosensitive channel activity in the *Xenopus laevis* oocyte plasma membrane. *Plant Signaling & Behavior*, *7*(8), 1022–1026. <https://doi.org/10.4161/psb.20783>
- Gao, F., Han, X., Wu, J., Zheng, S., Shang, Z., Sun, D., Zhou, R., & Li, B. (2012). A heat-activated calcium-permeable channel - Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channel 6 - Is involved in heat shock responses. *Plant Journal*, *70*(6), 1056–1069. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04969.x>
- García Bossi, J., Kumar, K., Barberini, M. L., Domínguez, G. D., Rondón Guerrero, Y. D. C., Marino-Buslje, C., Obertello, M., Muschietti, J. P., & Estevez, J. M. (2020). The role of P-type IIA and P-type IIB Ca²⁺-ATPases in plant development and growth. *Journal of Experimental Botany*, *71*(4), 1239–1248. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz521>
- Gartner, B. L. (1994). Root biomechanics and whole-plant allocation patterns: responses of tomato plants to stem flexure. *Journal of Experimental Botany*, *45*(11), 1647–1654. <https://doi.org/10.1093/jxb/45.11.1647>
- Geiger, D., Scherzer, S., Mumm, P., Marten, I., Ache, P., Matschi, S., Liese, A., Wellmann, C., Al-Rasheid, K. A.

- S., Grill, E., Romeis, T., & Hedrich, R. (2010). Guard cell anion channel SLAC1 is regulated by CDPK protein kinases with distinct Ca²⁺ affinities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(17), 8023–8028. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912030107>
- Guan, C., Xue, Y., Jiang, P., He, C., Zhuge, X., Lan, T., & Yang, H. (2021). Overexpression of PtoCYCD3;3 Promotes Growth and Causes Leaf Wrinkle and Branch Appearance in Populus. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1288. <https://doi.org/10.3390/ijms22031288>
- Guo, Y. R., & MacKinnon, R. (2017). Structure-based membrane dome mechanism for piezo mechanosensitivity. *ELife*, 6. <https://doi.org/10.7554/eLife.33660>
- Guo, Z., Wang, F., Xiang, X., Ahammed, G. J., Wang, M., Onac, E., Zhou, J., Xia, X., Shi, K., Yin, X., Chen, K., Yu, J., Foyer, C. H., & Zhou, Y. (2016). Systemic induction of photosynthesis via illumination of the shoot apex is mediated by phytochrome B. *Plant Physiology*, 172(2), pp.01202.2016. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01202>
- Gutierrez, C. (2009). The Arabidopsis Cell Division Cycle. *The Arabidopsis Book*, 7, e0120. <https://doi.org/10.1199/tab.0120>
- Hallé, F. (2004). Eloge de la plante: pour une nouvelle biologie. *Seuil*. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Eloge+de+la+plante+:+Pour+une+nouvelle+biologie#0>
- Hamilton, E. S., Schlegel, A. M., & Haswell, E. S. (2015). United in Diversity: Mechanosensitive Ion Channels in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol*, 66, 113–137. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114700>
- Han, H., Zhang, G., Wu, M., & Wang, G. (2016). Identification and characterization of the Populus trichocarpa CLE family. *BMC Genomics*, 17(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2504-x>
- Harashima, H., & Schnittger, A. (2010). The integration of cell division, growth and differentiation. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 66–74). Elsevier Current Trends. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.11.001>
- Hartmann, F. P., Tinturier, E., Julien, J.-L., & Leblanc-Fournier, N. (2021). Molecular Sciences Between Stress and Response: Function and Localization of Mechanosensitive Ca²⁺ Channels in Herbaceous and Perennial Plants. *International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 11043*, 22(20), 11043. <https://doi.org/10.3390/ijms222011043>
- Hattori, T., Otomi, Y., Nakajima, Y., Soga, K., Wakabayashi, K., Iida, H., & Hoson, T. (2020). MCA1 and MCA2 Are Involved in the Response to Hypergravity in Arabidopsis Hypocotyls. *Plants*, 9(5), 590. <https://doi.org/10.3390/plants9050590>
- Hedrich, R., & Marten, I. (2011). TPC1 - SV channels gain shape. In *Molecular Plant* (Vol. 4, Issue 3, pp. 428–441). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr017>
- Hedrich, R., Mueller, T. D., Becker, D., & Marten, I. (2018). Structure and Function of TPC1 Vacuole SV Channel Gains Shape. In *Molecular Plant* (Vol. 11, Issue 6, pp. 764–775). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.03.017>
- Hedrich, R., Salvador-Recatalà, V., & Dreyer, I. (2016). Electrical Wiring and Long-Distance Plant Communication. *Trends in Plant Science*, 21(5), 376–387. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.016>
- Hoffmann, N., Benske, A., Betz, H., Schuetz, M., & Samuels, A. L. (2020). Laccases and Peroxidases Co-Localize in Lignified Secondary Cell Walls throughout Stem Development. *Plant Physiology*, 184(2), 806–822. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00473>
- Hoffmann, R. D., Olsen, L. I., Ezike, C. V., Pedersen, J. T., Manstretta, R., López-Marqués, R. L., & Palmgren, M. (2019). Roles of plasma membrane proton ATPases AHA2 and AHA7 in normal growth of roots and root hairs in Arabidopsis thaliana. *Physiologia Plantarum*, 166(3), 848–861. <https://doi.org/10.1111/ppl.12842>
- Hou, C., Tian, W., Kleist, T., He, K., Garcia, V., Bai, F., Hao, Y., Luan, S., & Li, L. (2014). DUF221 proteins are a family of osmosensitive calcium-permeable cation channels conserved across eukaryotes. *Cell Research*, 24(5), 632–635. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.14>
- Houwink, A. L. (1935). The Conduction of Excitation in Mimosa pudica. *Recueil Des Travaux Botaniques Néerlandais*, 32(1), 51–91. <http://natuurtijdschriften.nl/search?identifier=552269>

- Höwing, T., Dann, M., Müller, B., Helm, M., Scholz, S., Schneitz, K., Hammes, U. Z., & Gietl, C. (2018). The role of KDEL-tailed cysteine endopeptidases of Arabidopsis (AtCEP2 and AtCEP1) in root development. *PLOS ONE*, *13*(12), e0209407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209407>
- Hu, W., Yan, H., Luo, S., Pan, F., Wang, Y., & Xiang, Y. (2018). Genome-wide analysis of poplar SAUR gene family and expression profiles under cold, polyethylene glycol and indole-3-acetic acid treatments. *Plant Physiology and Biochemistry*, *128*, 50–65. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.021>
- Huber, A. E., & Bauerle, T. L. (2016). *Long-distance plant signaling pathways in response to multiple stressors: The gap in knowledge*. *Journal of Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw099>
- Huimin, R., Hussain, J., Wenjie, L., Fenyong, Y., Junjun, G., Youhan, K., Shenkui, L., & Guoning, Q. (2021). The expression of constitutively active CPK3 impairs potassium uptake and transport in Arabidopsis under low K⁺ stress. *Cell Calcium*, *98*, 102447. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2021.102447>
- Ivanchenko, M. G., Zhu, J., Wang, B., Medvecká, E., Du, Y., Azzarello, E., Mancuso, S., Megraw, M., Filichkin, S., Dubrovsky, J. G., Friml, J., & Geisler, M. (2015). The cyclophilin a DIAGEOTROPICA gene affects auxin transport in both root and shoot to control lateral root formation. *Development (Cambridge)*, *142*(4), 712–721. <https://doi.org/10.1242/dev.113225>
- Jaffe, M. J. (1973). Thigmomorphogenesis: The response of plant growth and development to mechanical stimulation. *Planta*, *114*(2), 143–157. <https://doi.org/10.1007/BF00387472>
- Jaffe, M. J., & Forbes, S. (1993). Thigmomorphogenesis: the effect of mechanical perturbation on plants. *Plant Growth Regulation*, *12*(3), 313–324. <https://doi.org/10.1007/BF00027213>
- Jeon, B. W., Kim, M. J., Pandey, S. K., Oh, E., Seo, P. J., & Kim, J. (2021). Recent advances in peptide signaling during Arabidopsis root development. *Journal of Experimental Botany*, *72*(8), 2889–2902. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab050>
- Jeworutzki, E., Roelfsema, M. R. G., Anshütz, U., Krol, E., Elzenga, J. T. M., Felix, G., Boller, T., Hedrich, R., & Becker, D. (2010). Early signaling through the Arabidopsis pattern recognition receptors FLS2 and EFR involves Ca²⁺-associated opening of plasma membrane anion channels. *The Plant Journal*, *62*(3), 367–378. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04155.x>
- Jiang, Y., Yang, B., & Deyholos, M. K. (2009). Functional characterization of the Arabidopsis bHLH92 transcription factor in abiotic stress. *Mol Genet Genomics*, *282*, 503–516. <https://doi.org/10.1007/s00438-009-0481-3>
- Jojoa-Cruz, S., Saotome, K., Murthy, S. E., Tsui, C. C. A., Sansom, M. S. P., Patapoutian, A., & Ward, A. B. (2018). Cryo-EM structure of the mechanically activated ion channel OSCA1.2. *ELife*, *7*. <https://doi.org/10.7554/eLife.41845>
- Josse, J., & Husson, F. (2016). missMDA: A package for handling missing values in multivariate data analysis. *Journal of Statistical Software*, *70*, 1–31. <https://doi.org/10.18637/jss.v070.i01>
- Julien, J.-L. (1993). Caractérisation électrophysiologique de l'onde de dépolarisation déclenchée par un traumatisme chez *Bidens pilosa* L. [Http://www.theses.fr](http://www.theses.fr). <http://www.theses.fr/1993CLF21493>
- Julien, J. L., Desbiez, M. O., De Jaegher, G., & Frachisse, J. M. (1991). Characteristics of the Wave of Depolarization Induced by Wounding in *Bidens pilosa* L. *Journal of Experimental Botany*, *42*(1), 131–137. <https://doi.org/10.1093/jxb/42.1.131>
- Julien, J. L., & Frachisse, J. M. (1992). Involvement of the proton pump and proton conductance change in the wave of depolarization induced by wounding in *Bidens pilosa* L. *Canadian Journal of Botany*, *70*(7), 1451–1458. <https://doi.org/10.1139/b92-183>
- Jun, J., Fiume, E., Roeder, A. H. K., Meng, L., Sharma, V. K., Osmont, K. S., Baker, C., Ha, C. M., Meyerowitz, E. M., Feldman, L. J., & Fletcher, J. C. (2010). Comprehensive analysis of CLE polypeptide signaling gene expression and overexpression activity in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *154*(4), 1721–1736. <https://doi.org/10.1104/pp.110.163683>
- Kamano, S., Kume, S., Iida, K., Lei, K. J., Nakano, M., Nakayama, Y., & Iida, H. (2015). Transmembrane Topologies of Ca²⁺-permeable Mechanosensitive Channels MCA1 and MCA2 in Arabidopsis thaliana. *Journal of Biological Chemistry*, *290*(52), 30901–30909. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.692574>
- Ke, Q., Kim, H. S., Wang, Z., Ji, C. Y., Jeong, J. C., Lee, H. S., Choi, Y. I., Xu, B., Deng, X., Yun, D. J., & Kwak,

- S. S. (2017). Down-regulation of GIGANTEA-like genes increases plant growth and salt stress tolerance in poplar. *Plant Biotechnology Journal*, *15*(3), 331–343. <https://doi.org/10.1111/pbi.12628>
- Kern, K. A., Ewers, F. W., Telewski, F. W., & Koehler, L. (2005). Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and aboveground biomass of hybrid poplars. *Tree Physiology*, *25*(2003), 1243–1251. <https://doi.org/10.1093/treephys/25.10.1243>
- Kiep, V., Vadassery, J., Lattke, J., Maaß, J. P., Boland, W., Peiter, E., & Mithöfer, A. (2015). Systemic cytosolic Ca²⁺ elevation is activated upon wounding and herbivory in Arabidopsis. *New Phytologist*, *207*(4), 996–1004. <https://doi.org/10.1111/nph.13493>
- Knight, M. R., Smith, S. M., & Trewavas, A. J. (1992). Wind-induced plant motion immediately increases cytosolic calcium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *89*(11), 4967–4971. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.11.4967>
- Ko, J.-H., Jeon, H.-W., Kim, W.-C., Kim, J.-Y., & Han, K.-H. (2014). The MYB46/MYB83-mediated transcriptional regulatory programme is a gatekeeper of secondary wall biosynthesis. *Annals of Botany*, *114*(6), 1099–1107. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu126>
- Kohlen, W., Charnikhova, T., Liu, Q., Bours, R., Domagalska, M. A., Beguerie, S., Verstappen, F., Leyser, O., Bouwmeester, H., & Ruyter-Spira, C. (2011). Strigolactones Are Transported through the Xylem and Play a Key Role in Shoot Architectural Response to Phosphate Deficiency in Nonarbuscular Mycorrhizal Host Arabidopsis. *Plant Physiology*, *155*(2), 974–987. <https://doi.org/10.1104/pp.110.164640>
- Kolb, H. A., Marten, I., & Hedrich, R. (1995). Hodgkin-Huxley analysis of a GCAC1 anion channel in the plasma membrane of guard cells. *The Journal of Membrane Biology*, *146*(3), 273–282. <https://doi.org/10.1007/BF00233947>
- Król, E., Dziubińska, H., & Trębacz, K. (2010). What do plants need action potentials for? In *Action potential: biophysical and cellular context, initiation, phases and propagation*. http://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo_thumb/what-do-plants-need-action-potentials-for.pdf
- Kumari, A., Chételat, A., Nguyen, C. T., & Farmer, E. E. (2019). Arabidopsis H⁺-ATPase AHA1 controls slow wave potential duration and wound-response jasmonate pathway activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(40), 20226–20231. <https://doi.org/10.1073/pnas.1907379116>
- Kurdjian, A., & Guern, J. (1989). Intracellular pH: Measurement and Importance in Cell Activity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *40*(1), 271–303. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.40.060189.001415>
- La Camera, S., Balagué, C., Göbel, C., Geoffroy, P., Legrand, M., Feussner, I., Roby, D., & Heitz, T. (2009). The Arabidopsis patatin-like protein 2 (PLP2) plays an essential role in cell death execution and differentially affects biosynthesis of oxylipins and resistance to pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *22*(4), 469–481. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-4-0469>
- Lange, M. J. P., & Lange, T. (2015). Touch-induced changes in Arabidopsis morphology dependent on gibberellin breakdown. *Nature Plants*, *1*(3), 1–5. <https://doi.org/10.1038/nplants.2014.25>
- Laohavisit, A., & Davies, J. M. (2011). *Annexins* (pp. 111–128). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20829-4_8
- Larson, P. R. (1965). Stem form of young larix as influenced by wind and pruning. *Forest Science*, *11*(4), 412–424. <http://www.ingentaconnect.com/content/saf/fs/1965/00000011/00000004/art00008>
- Latz, A., Mehlmer, N., Zapf, S., Mueller, T. D., Wurzinger, B., Pfister, B., Csaszar, E., Hedrich, R., Teige, M., & Becker, D. (2013). Salt stress triggers phosphorylation of the arabidopsis vacuolar K⁺ channel TPK1 by cal. *Molecular Plant*, *6*(4), 1274–1289. <https://doi.org/10.1093/mp/sss158>
- Lautner, S., Grams, T. E. E., Matyssek, R., & Fromm, J. (2005). Characteristics of electrical signals in poplar and responses in photosynthesis. *Plant Physiology*, *138*(4), 2200–2209. <https://doi.org/10.1104/pp.105.064196>
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, *25*(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Leblanc-Fournier, N., Coutand, C., Crouzet, J., Brunel, N., Lenne, C., Moulia, B., & Julien, J. L. (2008). Jr-ZFP2, encoding a Cys2/His2-type transcription factor, is involved in the early stages of the mechano-perception

- pathway and specifically expressed in mechanically stimulated tissues in woody plants. *Plant, Cell and Environment*, 31(6), 715–726. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01785.x>
- Lee, D., Polisensky, D. H., & Braam, J. (2005). Genome-wide identification of touch- and darkness-regulated Arabidopsis genes: a focus on calmodulin-like and *XTH* genes. *New Phytologist*, 165(2), 429–444. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01238.x>
- Lefoulon, C. (2021). The bare necessities of plant K⁺ channel regulation. *Plant Physiology*, 187(4), 2092–2109. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab266>
- Leple, J. C., Brasileiro, A. C. M., Michel, M. F., Delmotte, F., & Jouanin, L. (1992). Transgenic poplars: expression of chimeric genes using four different constructs. *Plant Cell Reports*, 11(3). <https://doi.org/10.1007/BF00232166>
- Lew, T. T. S., Koman, V. B., Silmore, K. S., Seo, J. S., Gordiichuk, P., Kwak, S. Y., Park, M., Ang, M. C. Y., Khong, D. T., Lee, M. A., Chan-Park, M. B., Chua, N. H., & Strano, M. S. (2020). Real-time detection of wound-induced H₂O₂ signalling waves in plants with optical nanosensors. *Nature Plants*, 6(4), 404–415. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0632-4>
- Li, H., & Durbin, R. (2010). Fast and accurate long-read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, 26(5), 589–595. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp698>
- Li, L., Zhu, T., Song, Y., Feng, L., Farag, E. A. H., & Ren, M. (2021). ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 Interacts With RIBOSOMAL S6 KINASE2 to Mediate ABA Responses During Seedling Growth in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 11, 2328. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.598654>
- Li, M., Wang, F., Li, S., Yu, G., Wang, L., Li, Q., Zhu, X., Li, Z., Yuan, L., & Liu, P. (2020). Importers Drive Leaf-to-Leaf Jasmonic Acid Transmission in Wound-Induced Systemic Immunity. *Molecular Plant*, 13(10), 1485–1498. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.08.017>
- Li, X., Cai, W., Liu, Y., Li, H., Fu, L., Liu, Z., Xu, L., Liu, H., Xu, T., & Xiong, Y. (2017). Differential TOR activation and cell proliferation in Arabidopsis root and shoot apices. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(10), 2765–2770. <https://doi.org/10.1073/pnas.1618782114>
- Linder, B., & Raschke, K. (1992). A slow anion channel in guard cells, activating at large hyperpolarization, may be principal for stomatal closing. *FEBS Letters*, 313(1), 27–30. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)81176-M](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)81176-M)
- Liu, E., MacMillan, C. P., Shafee, T., Ma, Y., Ratcliffe, J., van de Meene, A., Bacic, A., Humphries, J., & Johnson, K. L. (2020). Fasciclin-Like Arabinogalactan-Protein 16 (FLA16) Is Required for Stem Development in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 11, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.615392>
- Liu, X., Wang, J., & Sun, L. (2018). Structure of the hyperosmolality-gated calcium-permeable channel OSCA1.2. *Nature Communications*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07564-5>
- Louf, J.-F. (2015). *Thèse - Couplage poro-élastique et signaux hydrauliques dans les plantes : approche biomimétique.*
- Louf, J.-F., Guéna, G., Badel, E., & Forterre, Y. (2017). Universal poroelastic mechanism for hydraulic signals in biomimetic and natural branches. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(42), 11034–11039. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707675114>
- Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15(12), 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Lu, S., Li, Q., Wei, H., Chang, M. J., Tunlaya-Anukit, S., Kim, H., Liu, J., Song, J., Sun, Y. H., Yuan, L., Yeh, T. F., Peszlen, I., Ralph, J., Sederoff, R. R., & Chiang, V. L. (2013). Ptr-miR397a is a negative regulator of laccase genes affecting lignin content in *Populus trichocarpa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(26), 10848–10853. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308936110>
- Lunevsky, V. Z., Zherelova, O. M., Vostrikov, I. Y., & Berestovsky, G. N. (1983). Excitation of Characeae cell membranes as a result of activation of calcium and chloride channels. *The Journal of Membrane Biology*, 72(1–2), 43–58. <https://doi.org/10.1007/BF01870313>
- Luo, Z., Kong, X., Zhang, Y., Li, W., Zhang, D., Dai, J., Fang, S., Chu, J., & Dong, H. (2019). Leaf-Derived Jasmonate Mediates Water Uptake from Hydrated Cotton Roots under Partial Root-Zone Irrigation. *Plant Physiology*, 180(3), 1660–1676. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00315>

- Ma, D., Endo, S., Betsuyaku, S., Shimotohno, A., & Fukuda, H. (2020). CLE2 regulates light-dependent carbohydrate metabolism in Arabidopsis shoots. *Plant Molecular Biology*, *104*(6), 561–574. <https://doi.org/10.1007/s11103-020-01059-y>
- Maity, K., Heumann, J. M., McGrath, A. P., Kopcho, N. J., Hsu, P.-K., Lee, C.-W., Mapes, J. H., Garza, D., Krishnan, S., Morgan, G. P., Hendargo, K. J., Klose, T., Rees, S. D., Medrano-Soto, A., Saier, M. H., Piñeros, M., Komives, E. A., Schroeder, J. I., Chang, G., & Stowell, M. H. B. (2019). Cryo-EM structure of OSCA1.2 from *Oryza sativa* elucidates the mechanical basis of potential membrane hyperosmolality gating. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(28), 14309–14318. <https://doi.org/10.1073/pnas.1900774116>
- Malabarba, J., Meents, A. K., Reichelt, M., Scholz, S. S., Peiter, E., Rachowka, J., Konopka-Postupolska, D., Wilkins, K. A., Davies, J. M., Oelmüller, R., & Mithöfer, A. (2021). ANNEXIN1 mediates calcium-dependent systemic defense in Arabidopsis plants upon herbivory and wounding. *New Phytologist*, *231*(1), 243–254. <https://doi.org/10.1111/nph.17277>
- Malone, M. (1993). Hydraulic Signals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, *341*(1295), 33–39. <https://doi.org/10.1098/rstb.1993.0088>
- Malone, M. (1996). Rapid, Long-distance Signal Transmission in Higher Plants. *Advances in Botanical Research*, *22*(C), 163–228. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)60058-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60058-0)
- Malone, M., Alarcon, J. J., & Palumbo, L. (1994). An hydraulic interpretation of rapid, long-distance wound signalling in the tomato. *Planta*, *193*(2), 181–185. <https://doi.org/10.1007/BF00192528>
- MALONE, M., & STANKOVIĆ, B. (1991). Surface potentials and hydraulic signals in wheat leaves following localized wounding by heat. *Plant, Cell & Environment*, *14*(4), 431–436. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb00953.x>
- Marhavý, P., Kurenda, A., Siddique, S., Dénervaud Tendon, V., Zhou, F., Holbein, J., Hasan, M. S., Grundler, F. M., Farmer, E. E., & Geldner, N. (2019). Single-cell damage elicits regional, nematode-restricting ethylene responses in roots. *The EMBO Journal*, *38*(10). <https://doi.org/10.15252/emboj.2018100972>
- Marre, E. (1979). Fusicoccin: A Tool in Plant Physiology. *Annual Review of Plant Physiology*, *30*(1), 273–288. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.30.060179.001421>
- Marrè, E., & Ballarin-Denti, A. (1985). The proton pumps of the plasmalemma and the tonoplast of higher plants. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *17*(1), 1–21. <https://doi.org/10.1007/BF00744985>
- Martin, L., Decourteix, M., Badel, E., Huguet, S., Moulia, B., Julien, J. L., & Leblanc-Fournier, N. (2014). The zinc finger protein PtaZFP2 negatively controls stem growth and gene expression responsiveness to external mechanical loads in poplar. *New Phytologist*, *203*(1), 168–181. <https://doi.org/10.1111/nph.12781>
- Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Azri, W., Lenne, C., Henry, C., Coutand, C., & Julien, J. L. (2009). Characterization and expression analysis under bending and other abiotic factors of PtaZFP2, a poplar gene encoding a Cys2/His2 zinc finger protein. *Tree Physiology*, *29*(1), 125–136. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpn011>
- Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Julien, J.-L., Moulia, B., & Coutand, C. (2010). Acclimation kinetics of physiological and molecular responses of plants to multiple mechanical loadings. *Journal of Experimental Botany*, *61*(9), 2403–2412. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq069>
- Matsubayashi, Y., Ogawa, M., Kihara, H., Niwa, M., & Sakagami, Y. (2006). Disruption and Overexpression of Arabidopsis Phytosulfokine Receptor Gene Affects Cellular Longevity and Potential for Growth. *Plant Physiology*, *142*(1), 45–53. <https://doi.org/10.1104/pp.106.081109>
- McCarthy, R. L., Zhong, R., & Ye, Z.-H. (2009). MYB83 Is a Direct Target of SND1 and Acts Redundantly with MYB46 in the Regulation of Secondary Cell Wall Biosynthesis in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, *50*(11), 1950–1964. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp139>
- Meena, M. K., Prajapati, R., Krishna, D., Divakaran, K., Pandey, Y., Reichelt, M., Mathew, M. K., Boland, W., Mithöfer, A., & Vadassery, J. (2019). The Ca²⁺ channel CNGC19 regulates arabidopsis defense against spodoptera herbivory. *Plant Cell*, *31*(7), 1539–1562. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00057>
- Menand, B., Desnos, T., Nussaume, L., Bergert, F., Bouchez, D., Meyer, C., & Robaglia, C. (2002). Expression and disruption of the Arabidopsis TOR (target of rapamycin) gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(9), 6422–6427. <https://doi.org/10.1073/pnas.092141899>

- Merlot, S., Leonhardt, N., Fenzi, F., Valon, C., Costa, M., Piette, L., Vavasseur, A., Genty, B., Boivin, K., Müller, A., Giraudat, J., & Leung, J. (2007). Constitutive activation of a plasma membrane H⁺-ATPase prevents abscisic acid-mediated stomatal closure. *The EMBO Journal*, *26*(13), 3216–3226. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601750>
- Miller, G., Schlauch, K., Tam, R., Cortes, D., Torres, M. A., Shulaev, V., Dangl, J. L., & Mittler, R. (2009). The plant NADPH oxidase RBOHD mediates rapid systemic signaling in response to diverse stimuli. *Science Signaling*, *2*(84). <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000448>
- Mitsuda, N., Iwase, A., Yamamoto, H., Yoshida, M., Seki, M., Shinozaki, K., & Ohme-Takagi, M. (2007). NAC Transcription Factors, NST1 and NST3, Are Key Regulators of the Formation of Secondary Walls in Woody Tissues of *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, *19*(1), 270–280. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.047043>
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V., & Van Breusegem, F. (2011). ROS signaling: The new wave? *Trends in Plant Science*, *16*(6), 300–309. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.007>
- Moe-Lange, J., Gappel, N. M., Machado, M., Wudick, M. M., Sies, C. S. A., Schott-Verdugo, S. N., Bonus, M., Mishra, S., Hartwig, T., Bezruczyk, M., Basu, D., Farmer, E. E., Gohlke, H., Malkovskiy, A., Haswell, E. S., Lercher, M. J., Ehrhardt, D. W., Frommer, W. B., & Kleist, T. J. (2021). Interdependence of a mechanosensitive anion channel and glutamate receptors in distal wound signaling. *Science Advances*, *7*(37). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg4298>
- Monshausen, G. B., Bibikova, T. N., Weisenseel, M. H., & Gilroy, S. (2009). Ca²⁺ regulates reactive oxygen species production and pH during mechanosensing in arabidopsis roots. *Plant Cell*, *21*(8), 2341–2356. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.068395>
- Moulija, B., & Combes, D. (2004). Thigmomorphogenetic acclimation of plants to moderate winds greatly affects height structure in field-grown alfalfa (*Medicago sativa* L.), an indeterminate herb. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *137*(3-S1), 77.
- Moulija, B., Der Loughian, C., Bastien, R., Martin, O., Rodríguez, M., Gourcilleau, D., Barbacci, A., Badel, E., Franchel, G., Lenne, C., Roedel-Drevet, P., Allain, J. M., Frachisse, J. M., de Langre, E., Coutand, C., Fournier-Leblanc, N., & Julien, J. L. (2011). *Integrative Mechanobiology of Growth and Architectural Development in Changing Mechanical Environments* (pp. 269–302). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-19091-9_11
- Mousavi, S. A. R., Dubin, A. E., Zeng, W. Z., Coombs, A. M., Do, K., Ghadiri, D. A., Keenan, W. T., Ge, C., Zhao, Y., & Patapoutian, A. (2021). PIEZO ion channel is required for root mechanotransduction in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *118*(20), 2020.08.27.270355. <https://doi.org/10.1073/pnas.2102188118>
- Mousavi, S. A. R. R., Chauvin, A., Pascaud, F., Kellenberger, S., & Farmer, E. E. (2013). GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE genes mediate leaf-to-leaf wound signalling. *Nature*, *500*(7463), 422–426. <https://doi.org/10.1038/nature12478>
- Müller, M., & Munné-Bosch, S. (2015). Ethylene Response Factors: A Key Regulatory Hub in Hormone and Stress Signaling. *Plant Physiology*, *169*(1), 32–41. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00677>
- Murthy, S. E., Dubin, A. E., Whitwam, T., Cruz, S. J., Cahalan, S. M., Mosavi, S. A. R., Ward, A. B., Patapoutian, A., Jojoa-Cruz, S., Cahalan, S. M., Mosavi, S. A. R., Ward, A. B., Patapoutian, A., Mousavi, S. A. R., Ward, A. B., & Patapoutian, A. (2018). OSCA/TMEM63 are an Evolutionarily Conserved Family of Mechanically Activated Ion Channels. *BioRxiv*, *7*, 408732. <https://doi.org/10.1109/ISDA.2011.6121686>
- Nahirňak, V., Almasia, N. I., Hopp, H. E., & Vazquez-Rovere, C. (2012). Snakin/GASA proteins. *Plant Signaling & Behavior*, *7*(8), 1004–1008. <https://doi.org/10.4161/psb.20813>
- Nakagawa, Y., Katagiri, T., Shinozaki, K., Qi, Z., Tatsumi, H., Furuichi, T., Kishigami, A., Sokabe, M., Kojima, I., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Iida, K., Terashima, A., Nakano, M., Ikeda, M., Yamanaka, T., & Iida, H. (2007). Arabidopsis plasma membrane protein crucial for Ca²⁺ influx and touch sensing in roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(9), 3639–3644. <https://doi.org/10.1073/pnas.0607703104>
- Nakano, M., Iida, K., Nyunoya, H., & Iida, H. (2011). Determination of Structural Regions Important for Ca²⁺ Uptake Activity in Arabidopsis MCA1 and MCA2 Expressed in Yeast. *Plant and Cell Physiology*, *52*(11), 1915–1930. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr131>

- Negi, J., Matsuda, O., Nagasawa, T., Oba, Y., Takahashi, H., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H., Hashimoto, M., & Iba, K. (2008). CO₂ regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells. *Nature*, *452*(7186), 483–486. <https://doi.org/10.1038/nature06720>
- Nguyen, C. T., Kurenda, A., Stolz, S., Chételat, A., & Farmer, E. E. (2018). Identification of cell populations necessary for leaf-to-leaf electrical signaling in a wounded plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(40), 10178–10183. <https://doi.org/10.1073/pnas.1807049115>
- Niez, B., Dlouha, J., Bruno Moulia, ·, & Badel, E. (2019). *Water-stressed or not, the mechanical acclimation is a priority requirement for trees*. *33*, 279–291. <https://doi.org/10.1007/s00468-018-1776-y>
- 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), 17. <https://doi.org/10.1007/s13595-020-0926-8>
- Niklas, K. J. (1998). Effects of vibration on mechanical properties and biomass allocation pattern of *Capsella bursa-pastoris* (Cruciferae). *Annals of Botany*, *82*(2), 147–156. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0658>
- Nishii, K., Möller, M., & Iida, H. (2021). Mix and match: Patchwork domain evolution of the land plant-specific Ca²⁺-permeable mechanosensitive channel MCA. *PLOS ONE*, *16*(4), e0249735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249735>
- Ohkubo, Y., Tanaka, M., Tabata, R., Ogawa-Ohnishi, M., & Matsubayashi, Y. (2017). Shoot-to-root mobile polypeptides involved in systemic regulation of nitrogen acquisition. *Nature Plants*, *3*. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.29>
- Pan, Y., Chai, X., Gao, Q., Zhou, L., Zhang, S., Li, L., & Luan, S. (2019). Dynamic Interactions of Plant CNGC Subunits and Calmodulins Drive Oscillatory Ca²⁺ Channel Activities. *Developmental Cell*, *48*(5), 710–725.e5. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.12.025>
- Pandey, G. K., Grant, J. J., Cheong, Y. H., Kim, B. G., Li, L., & Luan, S. (2005). ABR1, an APETALA2-domain transcription factor that functions as a repressor of ABA response in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *139*(3), 1185–1193. <https://doi.org/10.1104/pp.105.066324>
- Pavlovič, A., Libiaková, M., Bokor, B., Jakšová, J., Petřík, I., Novák, O., & Baluška, F. (2020). Anaesthesia with diethyl ether impairs jasmonate signalling in the carnivorous plant Venus flytrap (*Dionaea muscipula*). *Annals of Botany*, *125*(1), 173–183. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz177>
- Pecher, P., Eschen-Lippold, L., Herklotz, S., Kuhle, K., Naumann, K., Bethke, G., Uhrig, J., Weyhe, M., Scheel, D., & Lee, J. (2014). The Arabidopsis thaliana mitogen-activated protein kinases MPK 3 and MPK 6 target a subclass of ‘VQ-motif’-containing proteins to regulate immune responses. *New Phytologist*, *203*(2), 592–606. <https://doi.org/10.1111/nph.12817>
- Peterson, M. G., Dietterich, H. R., & Lachenbruch, B. (2007). Do Douglas-fir branches and roots have juvenile wood? *Wood and Fiber Science*, *39*(4), 651–660.
- Pickard, Barbara G. (1973). Action potentials in higher plants. *The Botanical Review*, *39*(2), 172–201. <https://doi.org/10.1007/BF02859299>
- Pickard, Barbara Gillespie. (1971). Action potentials resulting from mechanical stimulation of pea epicotyls. *Planta*, *97*(2), 106–115. <https://doi.org/10.1007/BF00386758>
- Pivovarovoff, A. L., Burlett, R., Lavigne, B., Cochard, H., Santiago, L. S., & Delzon, S. (2016). Testing the ‘microbubble effect’ using the Cavitron technique to measure xylem water extraction curves. *AoB Plants*, *8*, plw011. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw011>
- Procko, C., Murthy, S., Keenan, W. T., Mousavi, S. A. R., Dabi, T., Coombs, A., Procko, E., Baird, L., Patapoutian, A., & Chory, J. (2021). Stretch-activated ion channels identified in the touch-sensitive structures of carnivorous droseraceae plants. *ELife*, *10*. <https://doi.org/10.7554/eLife.64250>
- Pruyn, M. L., Ewers, B. J., & Telewski, F. W. (2000). Thigmomorphogenesis: changes in the morphology and mechanical properties of two *Populus* hybrids in response to mechanical perturbation. *Tree Physiology*, *20*(8), 535–540. <https://doi.org/10.1093/treephys/20.8.535>
- Racolta, A., Nodine, M. D., Davies, K., Lee, C., Rowe, S., Velazco, Y., Wellington, R., & Tax, F. E. (2018). A common pathway of root growth control and response to CLE peptides through two receptor kinases in Arabidopsis. *Genetics*, *208*(2), 687–704. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300148>

- Radin, I., Richardson, R. A., Coomey, J. H., Weiner, E. R., Bascom, C. S., Li, T., Bezanilla, M., & Haswell, E. S. (2021). Plant PIEZO homologs modulate vacuole morphology during tip growth. *Science*, *373*(6554), 586–590. <https://doi.org/10.1126/science.abe6310>
- Raggi, S., Ferrarini, A., Delledonne, M., Dunand, C., Ranocha, P., De Lorenzo, G., Cervone, F., & Ferrari, S. (2015). The Arabidopsis thaliana Class III Peroxidase AtPRX71 Negatively Regulates Growth under Physiological Conditions and in Response to Cell Wall Damage. *Plant Physiology*, *169*(4), pp.01464.2015. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01464>
- Rahmati Ishka, M., Brown, E., Rosenberg, A., Romanowsky, S., Davis, J. A., Choi, W.-G., & Harper, J. F. (2021). Arabidopsis Ca²⁺-ATPases 1, 2, and 7 in the endoplasmic reticulum contribute to growth and pollen fitness. *Plant Physiology*, *185*(4), 1966–1985. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab021>
- Raman, H., Zhang, K., Cakir, M., Appels, R., Garvin, D. F., Maron, L. G., Kochian, L. V., Moroni, J. S., Raman, R., Imtiaz, M., Drake-Brockman, F., Waters, I., Martin, P., Sasaki, T., Yamamoto, Y., Matsumoto, H., Hebb, D. M., Delhaize, E., & Ryan, P. R. (2005). Molecular characterization and mapping of ALMT1, the aluminium-tolerance gene of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome*, *48*(5), 781–791. <https://doi.org/10.1139/G05-054>
- Rathgeber, C. B. K., Decoux, V., & Leban, J. M. (2006). Linking intra-tree-ring wood density variations and tracheid anatomical characteristics in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Annals of Forest Science*, *63*(7), 699–706. <https://doi.org/10.1051/forest:2006050>
- Ricca, U. (1916). Solution d'un problème de physiologie: la propagation de stimulus dans la Sensitive. Résumé de l'Auteur. *Archives Italiennes de Biologie*, *65*(5), 219–232. <https://doi.org/10.4449/AIB.V65I5.4530>
- Roblin, G., & Bonnemain, J. L. (1985). Propagation in vicia faba stem of a potential variation induced by wounding. *Plant and Cell Physiology*, *26*(7), 1273–1283. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077027>
- 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. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx211>
- Ryan, C. A., & Farmer, E. E. (1991). Oligosaccharide signals in plants: A current assessment. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *42*(1), 651–674. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.003251>
- Rymen, B., Kawamura, A., Lambolez, A., Inagaki, S., Takebayashi, A., Iwase, A., Sakamoto, Y., Sako, K., Favero, D. S., Ikeuchi, M., Suzuki, T., Seki, M., Kakutani, T., Roudier, F., & Sugimoto, K. (2019). Histone acetylation orchestrates wound-induced transcriptional activation and cellular reprogramming in Arabidopsis. *Communications Biology*, *2*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0646-5>
- Saito, S., & Uozumi, N. (2019). Guard cell membrane anion transport systems and their regulatory components: An elaborate mechanism controlling stress-induced stomatal closure. In *Plants* (Vol. 8, Issue 1, p. 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants8010009>
- Salvador-Recatalà, V. (2016). New roles for the GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE 3.3, 3.5, and 3.6 genes as on/off switches of wound-induced systemic electrical signals. *Plant Signaling and Behavior*. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1161879>
- Salvador-Recatalà, V., Tjallingii, W. F., & Farmer, E. E. (2014). Real-time, in vivo intracellular recordings of caterpillar-induced depolarization waves in sieve elements using aphid electrodes. *New Phytologist*, *203*(2), 674–684. <https://doi.org/10.1111/nph.12807>
- Sambeek, J. W. Van, & Pickard, B. G. (1976a). - Mediation of rapid electrical, metabolic, transpirational, and photosynthetic changes by factors released from wounds. III. Measurements of CO₂ and H₂O flux. In *Canadian Journal of Botany* (Vol. 54, Issue 23, pp. 2662–2671). <https://doi.org/10.1139/b76-286>
- Sambeek, J. W. Van, & Pickard, B. G. (1976b). Mediation of rapid electrical, metabolic, transpirational, and photosynthetic changes by factors released from wounds. I. Variation potentials and putative action potentials in intact plants. *Canadian Journal of Botany*, *54*(23), 2642–2650. <https://doi.org/10.1139/b76-284>
- Sanderson, J. B. (1872). Note on the Electrical Phenomena Which Accompany Irritation of the Leaf of *Dionaea muscipula*. *Proceedings of the Royal Society of London*, *21*(139–147), 495–496. <https://doi.org/10.1098/rspl.1872.0092>

- Saotome, K., Murthy, S. E., Kefauver, J. M., Whitwam, T., Patapoutian, A., & Ward, A. B. (2018). Structure of the mechanically activated ion channel Piezo1. *Nature*, *554*(7693), 481–486. <https://doi.org/10.1038/nature25453>
- Sauter, M. (2015). Phytosulfokine peptide signalling. *Journal of Experimental Botany*, *66*(17), 5161–5169. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv071>
- Schmieder, R., Lim, Y. W., Rohwer, F., & Edwards, R. (2010). TagCleaner: Identification and removal of tag sequences from genomic and metagenomic datasets. *BMC Bioinformatics*, *11*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-341>
- Seyfferth, C., & Tsuda, K. (2014). Salicylic acid signal transduction: The initiation of biosynthesis, perception and transcriptional reprogramming. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 5, Issue DEC, p. 697). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00697>
- Shao, Q., Gao, Q., Lhamo, D., Zhang, H., & Luan, S. (2020). Two glutamate- And pH-regulated Ca²⁺ channels are required for systemic wound signaling in Arabidopsis. *Science Signaling*, *13*(640). <https://doi.org/10.1126/scisignal.aba1453>
- Shapiguzov, A., Vainonen, J. P., Hunter, K., Tossavainen, H., Tiwari, A., Järvi, S., Hellman, M., Aarabi, F., Alseikh, S., Wybouw, B., van der Kelen, K., Nikkanen, L., Krasensky-Wrzaczek, J., Sipari, N., Keinänen, M., Tyystjärvi, E., Rintamäki, E., De Rybel, B., Salojärvi, J., ... Kangasjärvi, J. (2019). Arabidopsis RCD1 coordinates chloroplast and mitochondrial functions through interaction with ANAC transcription factors. *ELife*, *8*. <https://doi.org/10.7554/eLife.43284>
- Shigematsu, H., Iida, K., Nakano, M., Chaudhuri, P., Iida, H., & Nagayama, K. (2014). Structural Characterization of the Mechanosensitive Channel Candidate MCA2 from Arabidopsis thaliana. *PLoS ONE*, *9*(1), e87724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087724>
- Shih, H. W., Miller, N. D., Dai, C., Spalding, E. P., & Monshausen, G. B. (2014). The receptor-like kinase FERONIA is required for mechanical signal transduction in Arabidopsis seedlings. *Current Biology*, *24*(16), 1887–1892. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.06.064>
- Shinozaki, K., Mizoguchi, T., Irie, K., Hirayama, T., Hayashida, N., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Matsumoto, K. (1996). A gene encoding a mitogen-activated protein kinase kinase kinase is induced simultaneously with genes for a mitogen-activated protein kinase and an S6 ribosomal protein kinase by touch, cold, and water stress in Arabidopsis thaliana. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(2), 765–769. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.2.765>
- Sibaoka, T. (1953). Some aspects on the slow conduction of stimuli in the leaf of Mimosa pudica. *Science Report Tohoku University*, *20*, 72–88.
- Sibaoka, T. (1969). Physiology of Rapid Movements in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology*, *20*(1), 165–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.20.060169.001121>
- Slayman, C. L. (1965). Electrical properties of Neurospora crassa. Respiration and the intracellular potential. *The Journal of General Physiology*, *49*(1), 93–116. <https://doi.org/10.1085/JGP.49.1.93>
- Spanwick, R. M. (1981). Electrogenic Ion Pumps. *Annual Review of Plant Physiology*, *32*(1), 267–289. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.32.060181.001411>
- Spartz, A. K., Ren, H., Park, M. Y., Grandt, K. N., Lee, S. H., Murphy, A. S., Sussman, M. R., Overvoorde, P. J., & Gray, W. M. (2014). SAUR inhibition of PP2C-D phosphatases activates plasma membrane H⁺-ATPases to promote cell expansion in Arabidopsis. *Plant Cell*, *26*(5), 2129–2142. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.126037>
- Stahlberg, R., & Cosgrove, D. J. (1997). The Propagation of Slow Wave Potentials in Pea Epicotyls. *Plant Physiology*, *113*(1), 209–217. <https://doi.org/10.1104/pp.113.1.209>
- STAHLBERG, R., & COSGROVE, D. J. (1994). Comparison of electric and growth responses to excision in cucumber and pea seedlings. I. Short-distance effects are a result of wounding. *Plant, Cell & Environment*, *17*(10), 1143–1151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1994.tb02012.x>
- Stahlberg, Rainer, & Cosgrove, D. J. (1996). Induction and ionic basis of slow wave potentials in seedlings of Pisum sativum L. *Planta*, *200*(4), 416–425. <https://doi.org/10.1007/BF00231397>
- Stanković, B., & Davies, E. (1997). Intercellular communication in plants: electrical stimulation of proteinase

- inhibitor gene expression in tomato. *Planta*, 202(4), 402–406. <https://doi.org/10.1007/s004250050143>
- Stankovic, B., Witters, D. L., Zawadzki, T., & Davies, E. (1998). Action potentials and variation potentials in sunflower: An analysis of their relationships and distinguishing characteristics. *Physiologia Plantarum*, 103(1), 51–58. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030107.x>
- Stortenbeker, N., & Bemer, M. (2019). The SAUR gene family: The plant's toolbox for adaptation of growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 70(1), 17–27. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery332>
- Strabala, T. J., O'Donnell, P. J., Smit, A. M., Ampomah-Dwamena, C., Martin, E. J., Netzler, N., Nieuwenhuizen, N. J., Quinn, B. D., Foote, H. C. C., & Hudson, K. R. (2006). Gain-of-function phenotypes of many CLAVATA3/ESR genes, including four new family members, correlate with tandem variations in the conserved CLAVATA3/ESR domain. *Plant Physiology*, 140(4), 1331–1344. <https://doi.org/10.1104/pp.105.075515>
- Stroock, A. D., Pagay, V. V., Zwieniecki, M. A., & Michele Holbrook, N. (2014). The Physicochemical Hydrodynamics of Vascular Plants. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 46(1), 615–642. <https://doi.org/10.1146/annurev-fluid-010313-141411>
- Sukhov, V., Sukhova, E., & Vodeneev, V. (2019). Long-distance electrical signals as a link between the local action of stressors and the systemic physiological responses in higher plants. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 146, 63–84. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.11.009>
- Suzuki, N., Miller, G., Salazar, C., Mondal, H. A., Shulaev, E., Cortes, D. F., Shuman, J. L., Luo, X., Shah, J., Schlauch, K., Shulaev, V., & Mittler, R. (2013). Temporal-Spatial Interaction between Reactive Oxygen Species and Abscisic Acid Regulates Rapid Systemic Acclimation in Plants. *The Plant Cell*, 25(9), 3553–3569. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.114595>
- Tabata, T., & Sibaoka, T. (1987). Conduction Velocity and Blockage of Action Potential in *Chara*; Internodal Cells. *Plant and Cell Physiology*, 28(7), 1187–1194. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077405>
- Takahashi, F., Suzuki, T., Osakabe, Y., Betsuyaku, S., Kondo, Y., Dohmae, N., Fukuda, H., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2018). A small peptide modulates stomatal control via abscisic acid in long-distance signaling. *Nature*, 556(7700), 235–238. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0009-2>
- Telewski, F. W. (1989). Structure and function of flexure wood in *Abies fraseri*. *Tree Physiology*, 5(1), 113–121. <https://doi.org/10.1093/treephys/5.1.113>
- Telewski, F. W. (2006). A unified hypothesis of mechanoperception in plants. *American Journal of Botany*, 93(10), 1466–1476. <https://doi.org/10.3732/ajb.93.10.1466>
- Telewski, Frank W., & Jaffe, M. J. (1986). Thigmomorphogenesis: Field and laboratory studies of *Abies fraseri* in response to wind or mechanical perturbation. *Physiologia Plantarum*, 66(2), 211–218. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1986.tb02411.x>
- Thirugnanasambantham, K., Durairaj, S., Saravanan, S., Karikalan, K., Muralidaran, S., & Islam, V. I. H. (2015). Role of Ethylene Response Transcription Factor (ERF) and Its Regulation in Response to Stress Encountered by Plants. In *Plant Molecular Biology Reporter* (Vol. 33, Issue 3, pp. 347–357). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11105-014-0799-9>
- Thor, K., Jiang, S., Michard, E., George, J., Scherzer, S., Huang, S., Dindas, J., Derbyshire, P., Leitão, N., DeFalco, T. A., Köster, P., Hunter, K., Kimura, S., Gronnier, J., Stransfeld, L., Kadota, Y., Bücherl, C. A., Charpentier, M., Wrzaczek, M., ... Zipfel, C. (2020). The calcium-permeable channel OSCA1.3 regulates plant stomatal immunity. *Nature*, 585(7826), 569–573. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2702-1>
- Tinturier, E., Badel, É., Leblanc-Fournier, N., & Julien, J. L. (2021). Stem bending generates electrical response in poplar. *Physiologia Plantarum*, 173(3), 954–960. <https://doi.org/10.1111/ppl.13494>
- Tixier, A., Badel, E., Franchel, J., Lakhal, W., Leblanc-Fournier, N., Moulia, B., & Julien, J. L. (2014). Growth and molecular responses to long-distance stimuli in poplars: Bending vs flame wounding. *Physiologia Plantarum*, 150(2), 225–237. <https://doi.org/10.1111/ppl.12089>
- Torres Acosta, J. A., De Almeida Engler, J., Raes, J., Magyar, Z., De Groot, R., Inzé, D., & De Veylder, L. (2004). Molecular characterization of Arabidopsis PHO80-like proteins, a novel class of CDKA1-interacting cyclins. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(12), 1485–1497. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4057-4>

- Toyota, M., Spencer, D., Sawai-Toyota, S., Jiaqi, W., Zhang, T., Koo, A. J., Howe, G. A., & Gilroy, S. (2018). Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science (New York, N.Y.)*, *361*(6407), 1112–1115. <https://doi.org/10.1126/science.aat7744>
- Tuskan, G. A., Difazio, S. P., & Teichmann, T. (2004). Poplar Genomics is Getting Popular: The Impact of the Poplar Genome Project on Tree Research. *Plant Biology*, *6*(1), 2–4. <https://doi.org/10.1055/s-2003-44715>
- Tyree, M. T., Davis, S. D., & Cochard, H. (1994). Biophysical perspectives of xylem evolution: Is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? In *IAWA Journal* (Vol. 15, Issue 4, pp. 335–360). Brill Academic Publishers. <https://doi.org/10.1163/22941932-90001369>
- Tyree, Melvin T., & Zimmermann, M. H. (1971). The theory and practice of measuring transport coefficients and sap flow in the xylem of red maple stems (*Acer rubrum*). *Journal of Experimental Botany*, *22*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1093/jxb/22.1.1>
- Uehara, C., Takeda, K., Ibuki, T., Furuta, T., Hoshi, N., Tanudjaja, E., & Uozumi, N. (2020). Analysis of Arabidopsis TPK2 and KCO3 reveals structural properties required for K⁺ channel function. *Channels*, *14*(1), 336–346. <https://doi.org/10.1080/19336950.2020.1825894>
- Umrath, K. (1930). Untersuchungen über Plasma und Plasmaströmung an Characeen. *Protoplasma*, *9*(1), 576–597. <https://doi.org/10.1007/BF01943373>
- Vahisalu, T., Kollist, H., Wang, Y. F., Nishimura, N., Chan, W. Y., Valerio, G., Lamminmäki, A., Brosché, M., Moldau, H., Desikan, R., Schroeder, J. I., & Kangasjärvi, J. (2008). SLAC1 is required for plant guard cell S-type anion channel function in stomatal signalling. *Nature*, *452*(7186), 487–491. <https://doi.org/10.1038/nature06608>
- van Moerkercke, A., Duncan, O., Zander, M., Simura, J., Broda, M., Bossche, R. Vanden, Lewsey, M. G., Lama, S., Singh, K. B., Ljung, K., Ecker, J. R., Goossens, A., Millar, A. H., & van Aken, O. (2019). A MYC2/MYC3/MYC4-dependent transcription factor network regulates water spray-responsive gene expression and jasmonate levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(46), 23345–23356. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911758116>
- Vandepoele, K., Raes, J., De Veylder, L., Rouzé, P., Rombauts, S., & Inzé, D. (2002). Genome-Wide Analysis of Core Cell Cycle Genes in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *14*(4), 903–916. <https://doi.org/10.1105/tpc.010445>
- Vian, A., Henry-Vian, C., Schantz, R., Ledoigt, G., Frachisse, J. M., Desbiez, M. O., & Julien, J. L. (1996). Is membrane potential involved in calmodulin gene expression after external stimulation in plants? *FEBS Letters*, *380*(1–2), 93–96. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00015-4](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00015-4)
- Vonapartis, E., Mohamed, D., Li, J., Pan, W., Wu, J., & Gazzarrini, S. (2022). CBF4 / DREB1D represses XERICO to attenuate ABA , osmotic and drought stress responses in Arabidopsis . *The Plant Journal*. <https://doi.org/10.1111/tpj.15713>
- Wang, K., Yang, Z., Qing, D., Ren, F., Liu, S., Zheng, Q., Liu, J., Zhang, W., Dai, C., Wu, M., Chehab, E. W., Braam, J., & Li, N. (2018). Quantitative and functional posttranslational modification proteomics reveals that TREP1 plays a role in plant touch-delayed bolting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(43), E10265–E10274. <https://doi.org/10.1073/pnas.1814006115>
- Wang, L., Zhou, H., Zhang, M., Liu, W., Deng, T., Zhao, Q., Li, Y., Lei, J., Li, X., & Xiao, B. (2019). Structure and mechanogating of the mammalian tactile channel PIEZO2. *Nature*, *573*(7773), 225–229. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1505-8>
- Wang, S., Yamaguchi, M., Grienberger, E., Martone, P. T., Samuels, A. L., & Mansfield, S. D. (2020). The Class II KNOX genes KNAT3 and KNAT7 work cooperatively to influence deposition of secondary cell walls that provide mechanical support to Arabidopsis stems. *Plant Journal*, *101*(2), 293–309. <https://doi.org/10.1111/tpj.14541>
- Wang, W., & Chen, X. (2004). HUA ENHANCER3 reveals a role for a cyclin-dependent protein kinase in the specification of floral organ identity in Arabidopsis. *Development*, *131*(13), 3147–3156. <https://doi.org/10.1242/dev.01187>
- Ward, J. M., Mäser, P., & Schroeder, J. I. (2009). Plant Ion Channels: Gene Families, Physiology, and Functional Genomics Analyses. *Annual Review of Physiology*, *71*(1), 59–82. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.010908.163204>
- Wasternack, C., & Hause, B. (2013). Jasmonates: Biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant

- stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Annals of Botany*, 111(6), 1021–1058. <https://doi.org/10.1093/aob/mct067>
- Welch, T. A. (1984). A Technique for High-Performance Data Compression. *Computer*, 17(6), 8–19. <https://doi.org/10.1109/MC.1984.1659158>
- Wendler, S., Zimmermann, U., & Bentrup, F.-W. (1983). Relationship between cell turgor pressure, electrical membrane potential, and chloride efflux in *Acetabularia mediterranea*. *The Journal of Membrane Biology*, 72(1–2), 75–84. <https://doi.org/10.1007/BF01870315>
- Whitewoods, C. D. (2021). Evolution of CLE peptide signalling. In *Seminars in Cell and Developmental Biology* (Vol. 109, pp. 12–19). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.04.022>
- Wildon, D. C., Thain, J. F., Minchin, P. E. H., Gubb, I. R., Reilly, A. J., Skipper, Y. D., Doherty, H. M., O'Donnell, P. J., & Bowles, D. J. (1992). Electrical signalling and systemic proteinase inhibitor induction in the wounded plant. *Nature*, 360(6399), 62–65. <https://doi.org/10.1038/360062a0>
- Wu, H., Zheng, R., Hao, Z., Meng, Y., Weng, Y., Zhou, X., Zhu, L., Hu, X., Wang, G., Shi, J., & Chen, J. (2019). *Cunninghamia lanceolata* PSK peptide hormone genes promote primary root growth and adventitious root formation. *Plants*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/plants8110520>
- Wu, J., Lewis, A. H., & Grandl, J. (2017). Touch, Tension, and Transduction – The Function and Regulation of Piezo Ion Channels. In *Trends in Biochemical Sciences* (Vol. 42, Issue 1, pp. 57–71). <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.09.004>
- Wu, S. W., Kumar, R., Iswanto, A. B. B., & Kim, J. Y. (2018). Callose balancing at plasmodesmata. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 69, Issue 22, pp. 5325–5339). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery317>
- Wudick, M. M., Portes, M. T., Michard, E., Rosas-Santiago, P., Lizzio, M. A., Nunes, C. O., Campos, C., Santa Cruz Damineli, D., Carvalho, J. C., Lima, P. T., Pantoja, O., & Feijó, J. A. (2018). CORNICHON sorting and regulation of GLR channels underlie pollen tube Ca²⁺ homeostasis. *Science*, 360(6388), 533–536. <https://doi.org/10.1126/science.aar6464>
- Wyrzykowska, J., Schorderet, M., Pien, S., Gruissem, W., & Fleming, A. J. (2006). Induction of Differentiation in the Shoot Apical Meristem by Transient Overexpression of a Retinoblastoma-Related Protein. *Plant Physiology*, 141(4), 1338–1348. <https://doi.org/10.1104/pp.106.083022>
- Xi, W., Song, D., Sun, J., Shen, J., & Li, L. (2017). Formation of wood secondary cell wall may involve two type cellulose synthase complexes in *Populus*. *Plant Molecular Biology*, 93(4–5), 419–429. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0570-8>
- Yamanaka, T., Nakagawa, Y., Mori, K., Nakano, M., Imamura, T., Kataoka, H., Terashima, A., Iida, K., Kojima, I., Katagiri, T., Shinozaki, K., & Iida, H. (2010). MCA1 and MCA2 That Mediate Ca²⁺ Uptake Have Distinct and Overlapping Roles in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 152(3), 1284–1296. <https://doi.org/10.1104/pp.109.147371>
- Yan, C., Fan, M., Yang, M., Zhao, J., Zhang, W., Su, Y., Xiao, L., Deng, H., & Xie, D. (2018). Injury Activates Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Phosphorylation of JAV1-JAZ8-WRKY51 Complex for Jasmonate Biosynthesis. *Molecular Cell*, 70(1), 136–149.e7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.03.013>
- Yang, H., Matsubayashi, Y., Hanai, H., & Sakagami, Y. (2000). Phytosulfokine- α , a Peptide Growth Factor Found in Higher Plants: Its Structure, Functions, Precursor and Receptors. *Plant and Cell Physiology*, 41(7), 825–830. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcd009>
- Yokawa, K., Kagenishi, T., Pavlovic, A., Gall, S., Weiland, M., Mancuso, S., & Baluška, F. (2018). Anaesthetics stop diverse plant organ movements, affect endocytic vesicle recycling and ROS homeostasis, and block action potentials in Venus flytraps. *Annals of Botany*. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx155>
- Yoshida, T., Fernie, A. R., Shinozaki, K., & Takahashi, F. (2021). Long-distance stress and developmental signals associated with abscisic acid signaling in environmental responses. *The Plant Journal*, 105(2), 477–488. <https://doi.org/10.1111/tpj.15101>
- Yu, H., Yan, J., Du, X., & Hua, J. (2018). Overlapping and differential roles of plasma membrane calcium ATPases in Arabidopsis growth and environmental responses. *Journal of Experimental Botany*, 69(10), 2693–2703. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery073>

- Yuan, F., Yang, H., Xue, Y., Kong, D., Ye, R., Li, C., Zhang, J., Theprungsirikul, L., Shrift, T., Krichilsky, B., Johnson, D. M., Swift, G. B., He, Y., Siedow, J. N., & Pei, Z.-M. (2014). OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca²⁺ increases vital for osmosensing in Arabidopsis. *Nature*, *514*(7522), 367–371. <https://doi.org/10.1038/nature13593>
- Zandalinas, S. I., & Mittler, R. (2018). ROS-induced ROS release in plant and animal cells. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 122, pp. 21–27). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.11.028>
- Zang, L., Zheng, T., Chu, Y., Ding, C., Zhang, W., Huang, Q., & Su, X. (2015). Genome-Wide Analysis of the Fasciclin-Like Arabinogalactan Protein Gene Family Reveals Differential Expression Patterns, Localization, and Salt Stress Response in Populus. *Frontiers in Plant Science*, *6*(DEC), 1140. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01140>
- Zawadzki, T., Davies, E., Dziubinska, H., & Trebacz, K. (1991). Characteristics of action potentials in *Helianthus annuus*. *Physiologia Plantarum*, *83*(4), 601–604. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb02475.x>
- Zhang, B., Gao, Y., Zhang, L., & Zhou, Y. (2021). The plant cell wall: Biosynthesis, construction, and functions. *Journal of Integrative Plant Biology*, *63*(1), 251–272. <https://doi.org/10.1111/jipb.13055>
- Zhang, Jin, Xie, M., Tuskan, G. A., Muchero, W., & Chen, J. G. (2018). Recent advances in the transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in the woody plants. *Frontiers in Plant Science*, *871*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01535>
- Zhang, Jingbo, Baetz, U., Krügel, U., Martinoia, E., & De Angeli, A. (2013). Identification of a Probable Pore-Forming Domain in the Multimeric Vacuolar Anion Channel AtALMT9. *Plant Physiology*, *163*(2), 830–843. <https://doi.org/10.1104/pp.113.219832>
- Zhang, Z., Tong, X., Liu, S.-Y., Chai, L.-X., Zhu, F.-F., Zhang, X.-P., Zou, J.-Z., & Wang, X.-B. (2019). Genetic analysis of a Piezo-like protein suppressing systemic movement of plant viruses in Arabidopsis thaliana. *Scientific Reports*, *9*(1), 3187. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39436-3>
- Zhao, B., & Li, J. (2012). Regulation of Brassinosteroid Biosynthesis and Inactivation. *Journal of Integrative Plant Biology*, *54*(10), 746–759. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2012.01168.x>
- Zhao, Q., Zhou, H., chi, S., Wang, yanfeng, Wang, J., Geng, J., Wu, K., Liu, W., Zhang, T., Dong, M.-Q., Wang, J., Li, X., & Xiao, bailong. (2018). *Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel*. <https://doi.org/10.1038/nature25743>
- Zhong, R., Cui, D., & Ye, Z. H. (2019). Secondary cell wall biosynthesis. *New Phytologist*, *221*(4), 1703–1723. <https://doi.org/10.1111/nph.15537>
- Zhong, R., Demura, T., & Ye, Z.-H. (2006). SND1, a NAC Domain Transcription Factor, Is a Key Regulator of Secondary Wall Synthesis in Fibers of Arabidopsis. *The Plant Cell*, *18*(11), 3158–3170. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.047399>
- Zhong, R., & Ye, Z. H. (2015). Secondary cell walls: Biosynthesis, patterned deposition and transcriptional regulation. *Plant and Cell Physiology*, *56*(2), 195–214. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu140>
- Zhou, X. F., Jin, Y. H., Yoo, C. Y., Lin, X.-L., Kim, W.-Y., Yun, D.-J., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., & Jin, J. B. (2013). CYCLIN H;1 Regulates Drought Stress Responses and Blue Light-Induced Stomatal Opening by Inhibiting Reactive Oxygen Species Accumulation in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *162*(2), 1030–1041. <https://doi.org/10.1104/pp.113.215798>
- Zimmermann, M. R., Maischak, H., Mithöfer, A., Boland, W., & Felle, H. H. (2009). System potentials, a novel electrical long-distance apoplastic signal in plants, induced by wounding. *Plant Physiology*, *149*(3), 1593–1600. <https://doi.org/10.1104/pp.108.133884>
- Zimmermann, M. R., Mithöfer, A., Will, T., Felle, H. H., & Furch, A. C. U. (2016). Herbivore-Triggered Electrophysiological Reactions: Candidates for Systemic Signals in Higher Plants and the Challenge of Their Identification. *Plant Physiology*, *170*(4), 2407–2419. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01736>
- Zimmermann, U., & Beckers, F. (1978). Generation of action potentials in Chara corallina by turgor pressure changes. *Planta*, *138*(2), 173–179. <https://doi.org/10.1007/BF00391175>

Annexes

Tableau 18: Analyse GO de gènes différentiellement exprimés en réponse à la flexion de tige, en A1. Les gènes du peuplier sont transformés par les ATG (Arabidopsis) par l'outil en ligne Popgénie.

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	FDR
1	GO:0007154	P	68	cell communication	4,2	0,00082
2	GO:0046395	P	48	carboxylic acid catabolic process	4,1	0,0014
3	GO:0016054	P	48	organic acid catabolic process	4,1	0,0014
4	GO:0023034	P	46	intracellular signaling pathway	3,8	0,0035
5	GO:0051716	P	206	cellular response to stimulus	3,8	0,004
6	GO:0033554	P	123	cellular response to stress	3,7	0,0046
7	GO:0023051	P	19	regulation of signaling process	3,7	0,0056
8	GO:0010646	P	19	regulation of cell communication	3,7	0,0056
9	GO:0009966	P	19	regulation of signal transduction	3,7	0,0056
10	GO:0009743	P	93	response to carbohydrate stimulus	3,6	0,0069
11	GO:0009737	P	76	response to abscisic acid stimulus	3,5	0,0086
12	GO:0071369	P	19	cellular response to ethylene stimulus	3,5	0,0098
13	GO:0006979	P	52	response to oxidative stress	3,5	0,011
14	GO:0023033	P	55	signaling pathway	3,4	0,011
15	GO:0071446	P	49	cellular response to salicylic acid stimulus	3,4	0,012
16	GO:0070887	P	153	cellular response to chemical stimulus	3,4	0,014
17	GO:0034440	P	32	lipid oxidation	3,3	0,015
18	GO:0044248	P	198	cellular catabolic process	3,3	0,015
19	GO:0010033	P	263	response to organic substance	3,3	0,015
20	GO:0019395	P	31	fatty acid oxidation	3,3	0,015
21	GO:0006635	P	31	fatty acid beta-oxidation	3,3	0,015
22	GO:0009814	P	58	defense response, incompatible interaction	3,3	0,016
23	GO:0009873	P	18	ethylene mediated signaling pathway	3,3	0,017
24	GO:0009751	P	62	response to salicylic acid stimulus	3,3	0,017
25	GO:0030258	P	37	lipid modification	3,3	0,017
26	GO:0048585	P	41	negative regulation of response to stimulus	3,2	0,019
27	GO:0000160	P	23	two-component signal transduction system (phosphorelay)	3,2	0,019
28	GO:0009863	P	48	salicylic acid mediated signaling pathway	3,2	0,019
29	GO:0009723	P	46	response to ethylene stimulus	3,2	0,019
30	GO:0030968	P	24	endoplasmic reticulum unfolded protein response	3,2	0,019

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	FDR
----	---------	------	--------	-------------	---------	-----

32	GO:0070727	P	106	cellular macromolecule localization	3,1	0,022
33	GO:0042221	P	346	response to chemical stimulus	3,1	0,022
34	GO:0006605	P	92	protein targeting	3,1	0,023
35	GO:0009991	P	36	response to extracellular stimulus	3,1	0,026
36	GO:0009063	P	19	cellular amino acid catabolic process	3,1	0,026
37	GO:0071445	P	25	cellular response to protein stimulus	3,1	0,026
38	GO:0071216	P	25	cellular response to biotic stimulus	3,1	0,026
39	GO:0034620	P	25	cellular response to unfolded protein	3,1	0,026
40	GO:0006986	P	25	response to unfolded protein	3,1	0,026
41	GO:0009062	P	33	fatty acid catabolic process	3	0,026
42	GO:0044270	P	12	cellular nitrogen compound catabolic process	3	0,026
43	GO:0048583	P	72	regulation of response to stimulus	3	0,026
44	GO:0009056	P	208	catabolic process	3	0,026
45	GO:0071395	P	45	cellular response to jasmonic acid stimulus	3	0,026
46	GO:0009867	P	45	jasmonic acid mediated signaling pathway	3	0,026
47	GO:0071310	P	136	cellular response to organic substance	3	0,026
48	GO:0000302	P	36	response to reactive oxygen species	3	0,029
49	GO:0071496	P	34	cellular response to external stimulus	3	0,029
50	GO:0031668	P	34	cellular response to extracellular stimulus	3	0,029
51	GO:0007568	P	28	aging	3	0,029
52	GO:0031667	P	30	response to nutrient levels	3	0,029
53	GO:0034613	P	98	cellular protein localization	3	0,03
54	GO:0031669	P	29	cellular response to nutrient levels	2,9	0,032
55	GO:0006886	P	97	intracellular protein transport	2,9	0,034
56	GO:0031399	P	19	regulation of protein modification process	2,9	0,034
57	GO:0042594	P	25	response to starvation	2,9	0,034
58	GO:0051789	P	39	response to protein stimulus	2,9	0,035
59	GO:0010260	P	20	organ senescence	2,9	0,036
60	GO:0010149	P	20	senescence	2,9	0,036

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	FDR
61	GO:0031348	P	36	negative regulation of defense response	2,9	0,037
62	GO:0035304	P	18	regulation of protein amino acid dephosphorylation	2,9	0,037
63	GO:0035303	P	18	regulation of dephosphorylation	2,9	0,037
64	GO:0007243	P	30	protein kinase cascade	2,8	0,037
65	GO:0009267	P	24	cellular response to starvation	2,8	0,037
66	GO:0071215	P	36	cellular response to abscisic acid stimulus	2,8	0,038
67	GO:0009627	P	45	systemic acquired resistance	2,8	0,041
68	GO:0044242	P	34	cellular lipid catabolic process	2,8	0,042
69	GO:0009753	P	65	response to jasmonic acid stimulus	2,8	0,042
70	GO:0034976	P	29	response to endoplasmic reticulum stress	2,8	0,043
71	GO:0051641	P	140	cellular localization	2,8	0,043
72	GO:0006950	P	323	response to stress	2,8	0,043
73	GO:0044265	P	114	cellular macromolecule catabolic process	2,7	0,048
74	GO:0023052	P	200	signaling	2,7	0,048
75	GO:0016311	P	28	dephosphorylation	2,7	0,048
76	GO:0009261	P	15	ribonucleotide catabolic process	-2,7	0,05
77	GO:0009207	P	15	purine ribonucleoside triphosphate catabolic process	-2,7	0,05
78	GO:0009203	P	15	ribonucleoside triphosphate catabolic process	-2,7	0,05
79	GO:0009166	P	15	nucleotide catabolic process	-2,7	0,05
80	GO:0009154	P	15	purine ribonucleotide catabolic process	-2,7	0,05
81	GO:0009146	P	15	purine nucleoside triphosphate catabolic process	-2,7	0,05
82	GO:0009143	P	15	nucleoside triphosphate catabolic process	-2,7	0,05
83	GO:0006195	P	15	purine nucleotide catabolic process	-2,7	0,05
84	GO:0030029	P	36	actin filament-based process	-2,8	0,044
85	GO:0016132	P	10	brassinosteroid biosynthetic process	-2,8	0,043
86	GO:0016129	P	10	phytosteroid biosynthetic process	-2,8	0,043
87	GO:0048509	P	22	regulation of meristem development	-2,8	0,04

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	FDR
88	GO:0000226	P	26	microtubule cytoskeleton organization	-2,9	0,034
89	GO:0035266	P	18	meristem growth	-2,9	0,034
90	GO:0010075	P	18	regulation of meristem growth	-2,9	0,034
91	GO:0009888	P	120	tissue development	-3	0,03
92	GO:0008202	P	23	steroid metabolic process	-3	0,026
93	GO:0006694	P	16	steroid biosynthetic process	-3,1	0,024
94	GO:0046039	P	10	GTP metabolic process	-3,2	0,021
95	GO:0006184	P	10	GTP catabolic process	-3,2	0,021
96	GO:0051258	P	11	protein polymerization	-3,5	0,0091
97	GO:0007010	P	66	cytoskeleton organization	-3,9	0,0024
98	GO:0007017	P	31	microtubule-based process	-3,9	0,0024
99	GO:0010087	P	12	phloem or xylem histogenesis	-4	0,0021
100	GO:0016051	P	123	carbohydrate biosynthetic process	-4,1	0,0014
101	GO:0034637	P	107	cellular carbohydrate biosynthetic process	-4,4	0,00031
102	GO:0005976	P	92	polysaccharide metabolic process	-4,5	0,00023
103	GO:0044264	P	81	cellular polysaccharide metabolic process	-4,7	0,000098
104	GO:0010089	P	10	xylem development	-4,8	0,000078
105	GO:0000271	P	83	polysaccharide biosynthetic process	-4,8	0,000058
106	GO:0033692	P	71	cellular polysaccharide biosynthetic process	-5	0,000021
107	GO:0009808	P	15	lignin metabolic process	-5,1	0,000014
108	GO:0044085	P	125	cellular component biogenesis	-5,6	0,00000088
109	GO:0071554	P	105	cell wall organization or biogenesis	-5,9	0,00000023
110	GO:0071669	P	48	plant-type cell wall organization or biogenesis	-6,1	0,000000062
111	GO:0010383	P	40	cell wall polysaccharide metabolic process	-6,6	2,2E-09
112	GO:0010382	P	39	cellular cell wall macromolecule metabolic process	-6,6	2,1E-09
113	GO:0044036	P	45	cell wall macromolecule metabolic process	-6,6	2,1E-09
114	GO:0070592	P	38	cell wall polysaccharide biosynthetic process	-6,7	0,000000002
115	GO:0070589	P	38	cellular component macromolecule biosynthetic process	-6,7	0,000000002
116	GO:0044038	P	38	cell wall macromolecule biosynthetic process	-6,7	0,000000002

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	FDR
117	GO:0070882	P	59	cellular cell wall organization or biogenesis	-6,8	1,1E-09
118	GO:0010410	P	38	hemicellulose metabolic process	-6,8	1,1E-09
119	GO:0045492	P	37	xylan biosynthetic process	-6,8	1,1E-09
120	GO:0045491	P	37	xylan metabolic process	-6,8	1,1E-09
121	GO:0010413	P	37	glucuronoxylan metabolic process	-6,8	1,1E-09
122	GO:0042546	P	56	cell wall biogenesis	-7,3	7,8E-11
123	GO:0009832	P	31	plant-type cell wall biogenesis	-7,5	3E-11
124	GO:0009834	P	17	secondary cell wall biogenesis	-7,5	3E-11
125	GO:0005576	C	103	extracellular region	-3,2	0,02
126	GO:0005794	C	70	Golgi apparatus	-3,3	0,017
127	GO:0015630	C	15	microtubule cytoskeleton	-3,5	0,0079
128	GO:0044430	C	18	cytoskeletal part	-3,6	0,0079
129	GO:0005856	C	22	cytoskeleton	-3,8	0,005
130	GO:0005874	C	10	microtubule	-3,8	0,005
131	GO:0048046	C	36	apoplast	-3,9	0,005

Tableau 19 : Liste des gènes de peupliers différenciellement exprimés à distance chez le peuplier et impliqués potentiellement dans des voies de signalisation hormonales à l'ABA, ET, JA et SA. Les annotations GO (ABA, JA, ET, SA) ont été obtenues via l'analyse d'enrichissement GO sur les gènes homologues d'*Arabidopsis thaliana*. Le nom et les annotations des gènes sont ceux affichés sur la base TAIR11 à partir de l'appellation ATG des gènes d'*Arabidopsis*. Pour un souci de présentation, les annotations concernant les gènes de peuplier homologues au même gène d'*Arabidopsis* n'ont pas été répétées.

Nb	Gene Potri	base Mean	log2FC	Gene ATG	NOM	Annotations	JA	SA	ET	ABA
1	Potri.008G166200	480	3,1	AT3G23240	ATERF1	encodes a member of the ERF (ethylene response factor) subfamily B3 of ERF/AP2 transcription factor family (ERF1). Involved in ethylene signaling cascade, downstream of EIN2 and EIN3.				
2	Potri.005G239100	25176	2,7	AT1G75750	GASA1	GA-responsive GAST1 protein homolog regulated by BR and GA antagonistically. Possibly involved in cell elongation . Response to ABA, BR, GA				
3	Potri.009G133500	6344	2,7	AT2G17840	ERD7	ERD7 and its homologs are important for plant stress responses and development and associated with the modification in membrane lipid composition.				
4	Potri.005G087200	864	2,4	AT5G64750	ABR1	member of the ERF (ethylene response factor) subfamily B-4 of ERF/AP2 transcription factor family.				
5	Potri.019G118700	27	2,3	AT5G16770	AtMYB9	Member of the R2R3 factor gene family. AtMYB9 and AtMYB107 appear to synchronize the transcriptional induction of aliphatic and aromatic monomer biosynthesis and transport and suberin polymerization				
6	Potri.006G098100	357	2,3	AT3G53420	PIP2,PIP2-1	Member of the plasma membrane intrinsic protein subfamily PIP2 and exhibits water transport activity in <i>Xenopus</i> oocyte. Expressed specifically in the vascular bundles				
7	Potri.018G019800	324	2,2	AT1G80840	ATWRKY40	WRKY40 Pathogen-induced transcription factor.				
8	Potri.001G271700	208	2,1	AT3G45640	ATMAPK3	Encodes a mitogen-activated kinase whose mRNA levels increase in response to touch, cold, salinity stress and chitin oligomers				
9	Potri.014G135900	4019	2,1	AT3G63010	ATGID1B	Gibberellin (GA) receptor				
10	Potri.001G060900	69	2,1	AT5G13170	SAG29	Encodes a member of the SWEET sucrose efflux transporter family proteins.				
11	Potri.004G185900	93	2,1	AT1G03430	AHP5	Histidine phosphotransfer proteins (AHPs), positive regulator of cytokinin signaling.				
12	Potri.006G109100	3487	2,0	AT3G56400	ATWRKY70	Member of WRKY Transcription Factor				
13	Potri.015G002800	1826	2,0	AT5G24530	DMR6	Encodes a putative 2OG-Fe(II) oxygenase t				
14	Potri.006G109600	1680	2,0	AT3G08720	ATPK19	Ribosomal-protein S6 kinase				
15	Potri.001G382400	1445	1,9	AT1G17020	ATSRG1	Encodes a novel member of the Fe(II)/ascorbate oxidase gene family. Enzyme is present in the apoplastic space of plant cells. AO gene expression responds to wounding, plant hormones, and stress				
16	Potri.004G083300	743	1,9	AT3G02850	SKOR	similar to Potassium channel SKOR (Stelar K(+) outward rectifying channel)				
17	Potri.017G017300	1720	1,9	AT1G28480	GRX480	Roxy19, a member of the glutaredoxin family that regulates protein redox state. GRX480 interacts with TGA factors and suppresses JAresponsive PDF1.2				

						transcription. GRX480 transcription is SA-inducible and requires NPR1. Maybe involved in SA/JA cross-talk.				
18	Potri.T155900	89	1,8	AT2G28160	ATBHLH029	Encodes a putative basic helix-loop-helix (bHLH) family protein transcription factor that regulates iron uptake responses.				
19	Potri.011G123300	31156	1,8	AT4G27410	ANAC072	Encodes a NAC transcription factor induced in response to desiccation,acts as a transcriptional activator in ABA-mediated dehydration response.				
20	Potri.002G205400	7306	1,8	AT1G02860	BAH1	Encodes a ubiquitin E3 ligase with RING and SPX domains that is involved in mediating immune responses and mediates degradation of PHT1s (transporter nitrate) at plasma membranes.				
21	Potri.001G167100	6381	1,7	AT1G54100	ALDH7B4	Aldehyde dehydrogenase family 7 member, turgor responsive protein				
22	Potri.017G032700	451	1,6	AT1G05680	UGT74E2	Encodes a UDP-glucosyltransferase,that acts on IBA (indole-3-butyric acid) and affects auxin homeostasis. The transcript and protein levels of this enzyme are strongly induced by H2O2 and may allow integration of ROS and auxin signaling.				
23	Potri.005G180200	1824	1,5	AT1G01720	ANAC002,ATAF1	Belongs to a large family of putative transcriptional activators with NAC domain. ATAF1 attenuates ABA signaling and synthesis.				
24	Potri.014G039800	242	1,5	AT1G47510	SPTASE11	Encodes a phosphatidylinositol polyphosphate 5-phosphatase.The transcript levels for this gene rise in response to auxin, ABA, and JA.				
25	Potri.014G160500	3986	1,5	AT2G04550	DSPTP1E,IBR5	Encodes a protein phosphatase that interacts with MPK12, but not with other MAP kinases. <i>ibr5</i> mutants have reduced sensitivity to auxin and abscisic acid. IBR5 promotes auxin responses, including auxin-inducible transcription, differently than the TIR1 auxin receptor and without destabilizing Aux/IAA repressor proteins.				
26	Potri.009G005600	61	1,5	AT2G28160	ATBHLH029					
27	Potri.002G081000	804	1,5	AT1G01720	ANAC002,ATAF1					
28	Potri.004G212100	47	1,4	AT2G06050	DDE1,OPR3	Encodes a 12-oxophytodienoate reductase that is required for jasmonate biosynthesis.				
29	Potri.001G312200	203	1,4	AT1G17840	ABCG11	Encodes a plasma membrane-localized ATP-binding cassette transporter, that is required for cutin transport to the extracellular matrix (phloem expression).				

30	Potri.013G075600	47	1,4	AT2G27690	CYP94C1	CYP94C1 has highest omega-hydroxylase activity with 9,10epoxystearic acid, while also metabolized lauric acid (C12:0) and C18 unsaturated fatty acids. Gene expression is induced in response to wounding and jasmonic acid treatment. (Works on JA-ILE ?)				
31	Potri.002G081800	3322	1,3	AT1G44170	ALDH3H1,ALDH4	Encodes an aldehyde dehydrogenase induced by ABA and dehydration that can oxidize saturated aliphatic aldehydes. I				
32	Potri.010G191300	5934	1,3	AT2G40000	ATHSPRO2	similar to putative Hs1pro-1-like protein, response to oxidative stress, response to salicylic acid				
33	Potri.001G220700	2754	1,2	AT3G56850	AREB3	Encodes an ABA-responsive element binding protein with a bZIP domain.				
34	Potri.011G028800	129	1,2	AT4G21410	CRK29	Encodes a cysteine-rich receptor-like protein kinase.				

35	Potri.001G137200	30492	1,2	AT1G32230	ATP8, RCD1	WWE protein-protein interaction domain protein family				
36	Potri.010G060800	2608	1,2	AT4G24210	SLY1	SLY1 F-box family protein SLY1				
37	Potri.002G090700	2449	1,2	AT5G65210	TGA1	similar to Transcription factor TGA7 (AtbZIP50)				
38	Potri.001G104500	1260	1,2	AT4G23100	ATECS1	Encodes the enzyme glutamate-cysteine ligase catalyzing the first, and rate-limiting, step of glutathione biosynthesis.				
39	Potri.010G191000	3878	1,2	AT2G38120	AUX1	Encodes an auxin influx transporter				
40	Potri.006G023700	1933	1,2	AT1G22400	ATUGT85A1	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein				
41	Potri.005G053200	7281	1,2	AT5G28770	AtbZIP63	bZIP transcription factor family protein . The combination of glucose and ABA was able to trigger a synergistic repression of AtbZIP63 and its homologue AtbZIP3,				
42	Potri.013G040700	2140	1,2	AT5G28770	AtbZIP63					
43	Potri.003G150700	962	1,2	AT4G17500	AtERF#100	Encodes a member of the ERF (ethylene response factor) subfamily B3 of ERF/AP2 transcription factor family (ATERF-1).				
44	Potri.010G186600	160	1,1	AT3G09230	AtMYB1	member of MYB3R- and R2R3- type MYB- encoding genes				
45	Potri.017G032300	148	1,1	AT1G05680	UGT74E2					
46	Potri.007G138100	3067	1,1	AT5G44210	ATERF-9	encodes a member of the ERF (ethylene response factor) subfamily B-1 of ERF/AP2 transcription factor family				
47	Potri.010G105200	177	1,1	AT1G14790	ATRDRP1	Encodes RNA-dependent RNA polymerase.				
48	Potri.016G069700	4180	1,1	AT2G35940	BLH1,EDA29	Encodes a member of the BEL-like homeodomain protein family.				
49	Potri.013G028700	18726	1,1	AT5G27320	ATGID1C	gibberellin (GA) receptor				
50	Potri.001G389200	476	1,0	AT1G05680	UGT74E2					
51	Potri.004G021500	4600	1,0	AT4G05320	UBQ10	One of five polyubiquitin genes in A. thaliana. Induced by salicylic acid. Independent of NPR1 for their induction by salicylic acid.				
52	Potri.014G020500	2272	1,0	AT4G37370	CYP81D8	similar to cytochrome P450.				
53	Potri.015G147600	203	1,0	AT5G56760	ATSERAT1	encodes a cytosolic serine O-acetyltransferase involved in sulfur assimilation and cysteine biosynthesis.				
54	Potri.008G091300	104	1,0	AT5G19790	RAP2 1	encodes a member of the ERF (ethylene response factor) subfamily B6 of ERF/AP2 transcription factor family (RAP2.11).				
55	Potri.012G112200	206	1,0	AT1G02170	ATMC1	Encodes a type I metacaspase that control positively programmed cell death in Arabidopsis.				
56	Potri.014G020700	297	0,9	AT4G37370	CYP81D8					
57	Potri.005G018600	131	0,9	AT4G21390	B120	S-locus lectin protein kinase family protein				
58	Potri.014G095500	5331	0,9	AT2G46370	JAR1	Encodes a jasmonate-amido synthetase that is a member of the GH3 family of proteins. JAR1 catalyzes the formation of a biologically active jasmonyl-isoleucine (JA-Ile) conjugate.				
59	Potri.010G108200	4253	0,9	AT3G17860	JAZ3	JAZs are direct targets of the SCFCO11 E3 ubiquitin-ligase and JA treatment induces their proteasome-mediated degradation. Furthermore, JAI3 negatively regulates the key transcriptional activator of JA responses, AtMYC2.				

60	Potri.018G013800	14443	0,9	AT5G24930	ATCOL	Zinc finger CONSTANS-like protein F				
61	Potri.006G148100	2027	0,9	AT1G64280	ATNPR1	Key regulator of the salicylic acid (SA)-mediated systemic acquired resistance (SAR) pathway				
62	Potri.006G039000	2297	0,9	AT3G12250	BZIP45,TGA6	basic leucine zipper transcription factor involved in the activation of SA-responsive genes.				
63	Potri.013G109300	28104	0,9	AT1G22640	ATMYB3	ATMYB3,MYB3 MYB-type transcription factor (MYB3) that represses phenylpropanoid biosynthesis gene expression				
64	Potri.010G104900	149	0,9	AT1G14790	ATRDRP1	Encodes RNA-dependent RNA polymerase.				
65	Potri.003G194600	794	0,8	AT3G12250	BZIP45,TGA6					
66	Potri.002G135100	3579	0,8	AT3G60190	ADL1E	Dynamamin-related protein 1E belongs to a plant-specific subclass of dynamamin-related proteins (DRP1).				
67	Potri.009G159200	11475	0,8	AT3G20770	AtEIN3					

68	Potri.003G171000	1995	0,8	AT1G27320	AHK3,HK3	Encodes a histidine kinases, a cytokinin receptor that controls cytokinin-mediated leaf longevity through a specific phosphorylation of the response regulator, ARR2.				
69	Potri.006G016200	2578	0,8	AT4G17230	SCL13	Encodes a scarecrow-like protein (SCL13) member of GRAS gene family.				
70	Potri.016G009700	3067	0,8	AT4G17230	SCL13					
71	Potri.007G136900	272	0,8	AT2G20570	ATGLK	Golden2-like 1, one of a pair of partially redundant nuclear transcription factors that regulate chloroplast development in a cellautonomous manner.				
72	Potri.008G135800	1286	0,8	AT1G14790	ATRDRP1	Encodes RNA-dependent RNA polymerase.				
73	Potri.003G064100	1379	0,8	AT1G17440	CKH1, EER4, TAF12B	Encodes one of two Arabidopsis proteins with similarity to the TBPassociated factor TAF12. The gene product is an EIN3-interacting TFIID transcription factor required for proper ethylene response, including ERF1 induction.It is hypothesized that CKH1 acts as a negative regulator of cytokinin signaling in Arabidopsis.				
74	Potri.001G057400	5142	0,8	AT1G27320	AHK3,HK3					
75	Potri.007G056200	2639	0,8	AT4G38630	ATMCB1	MULTIUBIQUITIN CHAIN BINDING PROTEIN, Regulatory particle nonATPase subunit of the 26S proteasome with multiubiquitin-chainbinding capabilities				
76	Potri.004G070200	2383	0,7	AT4G11260	EDM1	Functions in plant disease resistance signaling				
77	Potri.004G197400	104832	0,7	AT3G20770	AtEIN3	Nuclear transcription factor that initiates downstream transcriptional cascades for ethylene responses. EIN3 interacts with MYC2, MYC3 and MYC4 to inhibit jasmonate-induced expression				
78	Potri.005G027800	335	0,7	AT4G02570	ATCUL1	Encodes a cullin that is a component of SCF ubiquitin ligase complexes involved in mediating responses to auxin and jasmonic acid.				
79	Potri.002G056500	3599	0,7	AT5G45110	ATNPR	Encodes NPR3, a paralog of NPR1. Receptors for the immune signal salicylic acid				
80	Potri.006G067400	1241	0,7	AT5G20230	SAG14	Blue-copper binding protein. Promotes lignin biosynthesis in response to cold stress.				
81	Potri.006G102800	4441	0,7	AT2G38290	AMT2	Encodes a high-affinity ammonium transporter				

82	Potri.006G011700	721	0,7	AT4G12570	UPL5	UBIQUITIN PROTEIN LIGASE 5				
83	Potri.016G059800	2130	0,7	AT4G12570	UPL5					
84	Potri.010G063500	3099	0,7	AT4G13510	ATAMT1	encodes a high-affinity ammonium transporter, expressed in shoot and root.				
85	Potri.003G077600	2291	0,7	AT4G17330	ATG2484-1	gene of unknown function expressed in seedlings, flower buds and stems				
86	Potri.T098900	716	0,7	AT2G20570	ATGLK1	Golden2-like 1, one of a pair of partially redundant nuclear transcription factors that regulate chloroplast development in a cellautonomous manner.				
87	Potri.016G094800	493	0,7	AT3G47620	AtTCP14	Transcription factor involved the regulation of plant development. Together with TCP15, modulates plant stature by promoting cell division in young internodes.				
88	Potri.005G014700	1486	0,7	AT4G21390	B120					
89	Potri.004G071100	2427	0,6	AT4G11260	EDM1					
90	Potri.005G040600	10214	0,6	AT5G27320	ATGID1C	gibberellin (GA) receptor				
91	Potri.006G163700	2368	0,6	AT1G77180	SKIP	SNW/Ski-interacting protein. Chromatin protein family. A putative novel transcription factor, AtSKIP, is involved in abscisic acid signalling and confers salt and osmotic tolerance in Arabidopsis				
92	Potri.001G151800	2822	0,6	AT5G47120	ATBI-1	Encodes BI-1, a homolog of mammalian Bax inhibitor 1. Functions as an attenuator of biotic and abiotic types of cell death.				
93	Potri.005G220900	1007	0,6	AT5G63450	CYP94B1	Belongs to the CYP94 clade of Arabidopsis cytochrome P450 enzymes. These enzymes act as JA-Ile-12-hydroxylases that oxidizes JA-Ile in a sequential manner to eventually catabolize the hormone				
94	Potri.004G094100	5388	0,6	AT4G05320	UBQ10					
95	Potri.001G157300	1483	0,6	AT4G17330	ATG2484-1	ATG2484-1,G2484-1				
96	Potri.001G292700	949	0,6	AT1G49950	ATTRB1	Telomere repeat binding factor 1				
97	Potri.009G115300	4989	0,6	AT4G34460	AGB1	Heterotrimeric G-protein beta subunit				
98	Potri.006G202200	2323	0,6	AT3G11820	AT-SYR1	encodes a syntaxin localized at the plasma membrane.				
99	Potri.016G012900	1328	0,6	AT4G12570	UPL5					
100	Potri.016G036500	6989	0,6	AT3G12250	BZIP45,TGA6					
101	Potri.001G222600	613	0,6	AT2G26980	CIPK3	CIPK3, a calcium sensor-associated protein kinase that regulates abscisic acid and cold signal transduction in Arabidopsis				
102	Potri.005G083600	1854	0,5	AT5G64930	CPR5,HYS1	Plant growth and stress regulatorwhich represses SA accumulation				
103	Potri.012G118500	1799	0,5	AT5G45110	ATNPR3	Encodes NPR3, a paralog of NPR1. Receptors for the immune signal salicylic acid				

104	Potri.002G248700	3275	0,5	AT3G07370	ATCHIP	New class of E3 ubiquitin ligases with three tetratricopeptide repeats and a U-box domain, structurally similar to the animal CHIP proteins. Functions as an E3 ubiquitin ligase of protein				
-----	------------------	------	-----	-----------	--------	---	--	--	--	--

						phosphatase 2A subunits and alters plant response to abscisic acid treatment.				
105	Potri.011G154800	622	0,5	AT4G20380	LSD1	similar to LESION SIMULATING DISEASE; [co-ortholog (2of2) of At4g20380,]				
106	Potri.011G049700	2400	0,5	AT4G04920	SFR6	Encodes a subunit of the MEDIATOR complex. Plays a role in the CBF pathway. Mutants have impaired cold responses, are sensitive to osmotic stress.				
107	Potri.001G092500	6289	0,5	AT5G53160	PYL8,RCAR3	Receptor for abscisic acid (ABA)				
108	Potri.018G122300	2889	0,5	AT1G30270	ATCIPK23	Arabidopsis thaliana CBL-interacting protein kinase 23. CIPK23 serves as a positive regulator of the potassium transporter AKT1				
109	Potri.004G210200	1741	0,5	AT5G60410	ATSIZ1	Encodes a plant small ubiquitin-like modifier (SUMO) E3 ligase that is a controller of Pi starvation-dependent responses, SA and PAD4mediated R gene signalling, which in turn confers innate immunity in Arabidopsis.				
110	Potri.001G065600	2029	0,5	AT2G33540	ATCPL3	C-terminal domain phosphatase-like family members (AtCPLs) differentially regulate Arabidopsis thaliana abiotic stress signaling, growth, and development				
111	Potri.009G015000	2271	0,5	AT5G60410	ATSIZ1					
112	Potri.014G164300	1037	0,5	AT2G04880	ATWRKY1	Member of the WRKY transcription factors. WRKY1 is involved in the salicylic acid signaling pathway.				
113	Potri.005G235900	440	0,4	AT5G42520	ATBPC6	Encodes a member of the BASIC PENTACYSTEINE (BPC) proteins, plantspecific transcription factors. Link with Polycomb complex.				
114	Potri.006G138500	3017	0,4	AT5G20730	ARF7	Encodes an auxin-regulated transcriptional activator. Together with AUX19, it is involved in the response to ethylene				
115	Potri.001G428800	12260	0,4	AT4G26090	RPS2	Encodes a plasma membrane protein with leucine-rich repeat, leucine zipper, and P loop domains that confers resistance to Pseudomonas syringae infection				
116	Potri.007G059000	5026	0,4	AT2G17520	ATIRE1-2	Encodes an endoribonuclease/protein kinase IRE1-like protein that is predicted to form a type I transmembrane protein structure				
117	Potri.005G041300	1906	0,4	AT4G26090	RPS2					
118	Potri.001G390400	1078	0,4	AT3G58680	ATMBF1B	similar to putative transcriptional coactivator protein (At3g58680); similar to ethylene-responsive transcriptional coactivator				
119	Potri.010G219600	1763	0,4	AT5G60410	ATSIZ1,SIZ1					
120	Potri.013G075300	916	0,4	AT5G35980	YAK1	Encodes a dual specificity protein kinase which phosphorylates substrate proteins on Ser/Thr and Tyr residues. Some substrates include annexin family proteins. YAK1 mutations suppress TOR deficiency in Arabidopsis				
121	Potri.009G013400	797	0,4	AT5G60600	CLB4	Encodes a chloroplast-localized hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl 4diphosphate (HMBPP) synthase (HDS). The HDS enzyme controls the penultimate steps of the biosynthesis of IPP and dimethylallyl diphosphate (DMAPP) via the MEP pathway and may serve as a metabolic control point for SA-mediated disease resistance.				

122	Potri.003G032300	2171	0,4	AT1G66340	AtETR1	Contains a histidine kinase and a response regulator domain. Ethylene receptor.				
123	Potri.005G206700	7229	0,4	AT1G06680	OE23	Encodes a 23 kD extrinsic protein, part of photosystem II and participates in the regulation of oxygen evolution.				
124	Potri.006G127100	5679	0,3	AT5G03280	ATEIN2	NRAMP metal ion transporter family protein, serine/threonine protein kinase 2				
125	Potri.002G240000	2058	0,3	AT5G48380	BIR1	Encodes a BAK1-interacting receptor-like kinase named BIR1. Negatively regulates multiple plant resistance signaling pathways				
126	Potri.008G067000	1247	0,3	AT5G05700	ATATE1	similar to Arginyl-tRNA--protein transferase 1 (EC 2 .8)				
127	Potri.010G177900	1520	0,3	AT5G48380	BIR1					
128	Potri.006G146500	780	0,3	AT4G29810	ATMCK2	Encodes a MAP kinase kinase 2 that regulates MPK6 and MPK4 in response to cold and salt stresses				
129	Potri.005G042400	3234	0,3	AT4G26090	RPS2					
130	Potri.012G137800	5341	-0,3	AT3G48890	ATMAPR3	similar to cytochrome b5 domain-containing protein; Role in ER stress in combination with IRE1				
131	Potri.017G065800	609	-0,5	AT5G40770	ATPHB3	PROHIBITIN 3; Role in meristem, cell division. Upon PHB3 loss-of-function, the ROS and the different phytohormones such as SA, ethylene, and auxin contents and signaling will be out of homeostasis.				
132	Potri.004G188800	5950	-0,5	AT5G03740	HD2C	HD2-type histone deacetylase HDAC. Involved in the ABA and stress responses. Mediates transcriptional repression via histone modification.				
133	Potri.003G116600	854	-0,6	AT1G12420	ACR8	Member of a family of act domain containing protein; similar to ACT domain-containing protein (ACR7); similar to low similarity to uridylyltransferase SP. The steady-state levels of ACR8 mRNA are dramatically increased by treatment with abscisic acid or salt.				
134	Potri.005G231100	1242	-0,6	AT1G10210	ATMPK	Mitogen-activated protein kinase				
135	Potri.006G167700	1011	-0,6	AT5G57390	AIL5	bZIP family transcription factor AINTEGUMENTA-like AP2-like ethylene-responsive transcription factor				

136	Potri.017G037000	926	-0,7	AT2G46410	CPC	Nuclear-localized R3-type MYB transcription factor.				
137	Potri.006G204900	405	-0,7	AT5G06290	2-Cys Prx B	Encodes a 2-Cys peroxiredoxin (2-Cys PrxB) that contains two catalytic Cys residues.				
138	Potri.012G069300	2520	-0,7	AT1G74520	ATHVA22A	similar to ABA-responsive protein (HVA22b)				
139	Potri.009G081600	112	-0,7	AT5G09660	PMDH2	encodes a microbody NAD-dependent malate dehydrogenase involved in fatty acid beta-oxidation				
140	Potri.018G047100	275	-0,7	AT5G20900	JAZ12,TIFY3	Jasmonate-zim-domain protein 12				
141	Potri.001G239900	619	-0,8	AT2G28900	ATOEP16-1	Encodes a 16-KDa plastid outer membrane protein involved in plastid import of protochlorophyllide oxidoreductase A.				
142	Potri.012G043000	851	-0,8	AT3G02850	SKOR					
143	Potri.001G097400	2406	-0,8	AT4G23650	CDPK6,CPK3	similar to calcium-dependent protein kinase 1.				
144	Potri.008G010800	121	-0,8	AT3G56850	AREB3	Encodes an ABA-responsive element binding protein with a bZIP domain induced by ABA and involved in osmotic and drought stress				

145	Potri.008G060100	2539	-0,9	AT2G39770	CYT1	Encodes a GDP-mannose pyrophosphorylase/ mannose-1pyrophosphatase. This enzyme provides GDP-mannose, which is used for cell wall carbohydrate biosynthesis and protein glycosylation as well as for ascorbate (vitamin C) biosynthesis.				
146	Potri.010G188600	137	-0,9	AT3G55950	ATCRR3	CRINKLY4 related 3 serine/threonine receptor-like kinase				
147	Potri.018G063500	3625	-1,0	AT3G43190	ATSUS4	similar to sucrose synthase.				
148	Potri.001G368400	231	-1,0	AT1G55870	ATPARN	Encodes a poly(A)-specific ribonuclease, AtPARN. Expression of AtPARN is upregulated by ABA or stress treatment.				
149	Potri.003G084100	433	-1,0	AT4G33950	ATOST1,SNRK2-6	Encodes calcium-independent ABA-activated protein kinase, a member of SNF1-related protein kinases (SnRK2) whose activity is activated by ionic (salt) and non-ionic (mannitol) osmotic stress. May act in the interval between ABA perception and reactive oxygen species production in the ABA signalling network				
150	Potri.007G134500	206	-1,0	AT1G17950	ATMYB52	MYB transcription factor. Transcriptionally activates PECTIN METHYLESTERASE INHIBITOR6 (PMEI6), PMEI14, and SUBTILISIN-LIKE SER PROTEASE1.7 (SBT1.7) by binding to their promoters.				
151	Potri.001G115600	1292	-1,1	AT1G12420	ACR8					
152	Potri.001G036500	171	-1,1	AT5G07010	ATST2A	Encodes a sulfotransferase that acts specifically on 11- and 12hydroxyjasmonic acid, which inactivates function of jasmonic acids.				
153	Potri.014G040300	1143	-1,1	AT1G19300	ATGATL1,PARVUS	The PARVUS/GLZ1 gene encodes a putative family 8 glycosyl transferase that contributes to xylan biosynthesis. PARVUS is expressed in cells undergoing secondary wall thickening, and parvus mutants have thinner cell walls.				
154	Potri.010G078300	874	-1,1	AT3G23050	AXR2,IAA7	Transcription regulator acting as repressor of auxin-inducible gene expression.				
155	Potri.017G086300	94	-1,2	AT5G15310	ATMYB16	Myb domain protein 16, Transcription factor				
156	Potri.011G153300	4615	-1,2	AT3G11050	ATFER2,FER2	ATFER2, ferritin 2,cellular iron ion homeostasis				
157	Potri.005G115800	75	-1,2	AT2G13810	ALD1	aminotransferase class 1 family protein				
158	Potri.004G185300	1659	-1,2	AT2G27690	CYP94C1					
159	Potri.006G136700	36044	-1,2	AT3G43190	ATSUS4					
160	Potri.002G074000	143	-1,3	AT2G02850	ARPN	Plantacyanins belong to a subfamily of blue copper proteins (Ryden and Hunt, 1993) and have been proposed to be involved in the oxidative burst that occurs during pathogen infection and in the crosslinking and solubilization of cell wall materials (Nersissian et al., 1998).				
161	Potri.001G036600	75	-1,3	AT5G07010	ATST2A					
162	Potri.002G132900	631	-1,3	AT1G19300	ATGATL1, PARVUS					
163	Potri.013G144300	43	-1,4	AT4G03400	DFL2	Auxin-responsive GH3 family protein Catalyzes the synthesis of indole3-acetic acid (IAA)-amino acid conjugates, providing a mechanism for the plant to cope with the presence of excess auxin				

164	Potri.002G152900	88	-1,4	AT4G16110	ARR2	Transcription factor . Acts in concert with other type-B ARR2s in the cytokinin signaling pathway. Ethylene responsive				
165	Potri.004G102600	191	-1,4	AT2G37630	ATMYB91	Encodes a MYB-domain protein involved in specification of the leaf proximodistal axis. Also functions as a regulator of the plant immune response.				
166	Potri.012G039400	468	-1,5	AT1G17950	ATMYB52	MYB transcription factor R2R3 type.				
167	Potri.009G098300	25	-1,7	AT2G15480	UGT73B5	UDP-GLUCOSYL TRANSFERASE 73B5. Involved in the hypersensitive response (HR) to the avirulent bacteria <i>Pseudomonas syringae</i> pv. tomato (Pst-AvrRpm1). In silico analyses indicate that UGT73B3 and UGT73B5 belong to the early salicylic acid (SA)-induced genes whose pathogen-induced expression is co-regulated with genes related to cellular redox homeostasis and general detoxification				

168	Potri.016G121300	18	-1,7	AT2G38290	ATAMT2	encodes a high-affinity ammonium transporter, expressed in shoot and root.				
169	Potri.012G022800	193	-1,7	AT1G73080	ATPEPR	Encodes a leucine-rich repeat receptor kinase. Functions as a receptor for AtPep1 to amplify innate immunity response to pathogen attacks.				
170	Potri.005G010300	65	-1,8	AT1G09340	CRB	Encodes CHLOROPLAST RNA BINDING (CRB), important for the proper functioning of the chloroplast.				
171	Potri.009G128000	27	-1,8	AT2G16850	PIP2;8	Plasma membrane intrinsic protein 2-8. Water Channel activity				
172	Potri.001G258700	275	-1,9	AT5G12870	ATMYB46	Encodes MYB46, member of the R2R3 factor gene family. Modulates Disease Susceptibility to <i>Botrytis cinerea</i> and secondary wall biosynthesis.				
173	Potri.018G090300	13985	-1,9	AT2G18960	AHA1	Encodes a plasma membrane proton ATPase. AHA1 is a distinct component of an abscisic acid-directed signaling pathway, and that dynamic downregulation of this pump during drought is an essential step in membrane depolarization to initiate stomatal closure				
174	Potri.007G031700	400	-2,1	AT3G50760	GATL2	Encodes a protein with putative galacturonosyltransferase activity could be involved in cell wall biosynthesis				
175	Potri.009G053900	513	-2,2	AT5G12870	ATMYB46	Encodes MYB46, member of the R2R3 factor gene family. Modulates Disease Susceptibility to <i>Botrytis cinerea</i> .				
176	Potri.018G032900	246	-2,7	AT1G15520	ABCG40	ABC transporter family involved in ABA transport				

Tableau 20 : Liste des gènes de peupliers différentiellement exprimés à distance chez le peuplier et impliqués potentiellement dans des réponses aux Brassinostéroïdes. Les annotations GO ont été obtenues via l'analyse d'enrichissement GO sur les gènes homologues d'*Arabidopsis thaliana*. Le nom et les annotations des gènes sont ceux affichés sur la base TAIR11 à partir de l'appellation ATG des gènes d'*Arabidopsis*.

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	FDR
117	GO:0070882	P	59	cellular cell wall organization or biogenesis	-6,8	1,1E-09
118	GO:0010410	P	38	hemicellulose metabolic process	-6,8	1,1E-09
119	GO:0045492	P	37	xylan biosynthetic process	-6,8	1,1E-09
120	GO:0045491	P	37	xylan metabolic process	-6,8	1,1E-09
121	GO:0010413	P	37	glucuronoxylan metabolic process	-6,8	1,1E-09
122	GO:0042546	P	56	cell wall biogenesis	-7,3	7,8E-11
123	GO:0009832	P	31	plant-type cell wall biogenesis	-7,5	3E-11
124	GO:0009834	P	17	secondary cell wall biogenesis	-7,5	3E-11
125	GO:0005576	C	103	extracellular region	-3,2	0,02
126	GO:0005794	C	70	Golgi apparatus	-3,3	0,017
127	GO:0015630	C	15	microtubule cytoskeleton	-3,5	0,0079
128	GO:0044430	C	18	cytoskeletal part	-3,6	0,0079
129	GO:0005856	C	22	cytoskeleton	-3,8	0,005
130	GO:0005874	C	10	microtubule	-3,8	0,005
131	GO:0048046	C	36	apoplast	-3,9	0,005

Tableau 21 : Enrichissement en terme GO issu de la liste de DEG de l'apex (Z1) en réponse à une brûlure de feuille de peuplier.

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	Mean	FDR
1	GO:0043687	P	305	post-translational protein modification	11	2.1	0.0E+00
2	GO:0006464	P	330	protein modification process	11	2	0.0E+00
3	GO:0043412	P	333	macromolecule modification	11	2	0.0E+00
4	GO:0006468	P	263	protein amino acid phosphorylation	10	2.1	0.0E+00
5	GO:0016310	P	286	phosphorylation	9.3	1.9	0.0E+00
6	GO:0006796	P	293	phosphate metabolic process	9	1.8	0.0E+00
7	GO:0006793	P	293	phosphorus metabolic process	9	1.8	0.0E+00
8	GO:0044238	P	1101	primary metabolic process	8.3	1.2	5.3E-14
9	GO:0051252	P	233	regulation of RNA metabolic process	8.1	1.9	1.6E-13
10	GO:0051171	P	233	regulation of nitrogen compound metabolic process	8.1	1.9	1.6E-13
11	GO:0045449	P	233	regulation of transcription	8.1	1.9	1.6E-13
12	GO:0019219	P	233	regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process	8.1	1.9	1.6E-13
13	GO:0006355	P	233	regulation of transcription, DNA-dependent	8.1	1.9	1.6E-13
14	GO:0080090	P	237	regulation of primary metabolic process	7.8	1.8	1.6E-12
15	GO:0031326	P	237	regulation of cellular biosynthetic process	7.8	1.8	1.6E-12
16	GO:0010556	P	237	regulation of macromolecule biosynthetic process	7.8	1.8	1.6E-12
17	GO:0009889	P	237	regulation of biosynthetic process	7.8	1.8	1.6E-12
18	GO:0060255	P	238	regulation of macromolecule metabolic process	7.8	1.8	1.7E-12
19	GO:0010468	P	238	regulation of gene expression	7.8	1.8	1.7E-12
20	GO:0031323	P	244	regulation of cellular metabolic process	7.5	1.7	1.4E-11
21	GO:0019222	P	245	regulation of metabolic process	7.5	1.7	1.5E-11
22	GO:0016265	P	133	death	7.1	2.1	2.2E-10
23	GO:0008219	P	133	cell death	7.1	2.1	2.2E-10
24	GO:0008152	P	1362	metabolic process	7.1	1.1	2.8E-10
25	GO:0043170	P	966	macromolecule metabolic process	7	1.2	6.6E-10
26	GO:0012501	P	130	programmed cell death	6.9	2	9.9E-10
27	GO:0006915	P	130	apoptosis	6.9	2	9.9E-10
28	GO:0006807	P	429	nitrogen compound metabolic process	6.6	1.4	7.3E-09
29	GO:0044260	P	898	cellular macromolecule metabolic process	6.5	1.1	1.4E-08
30	GO:0006139	P	403	nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process	6.5	1.4	1.8E-08
31	GO:0032774	P	281	RNA biosynthetic process	6.4	1.5	4.3E-08
32	GO:0006351	P	281	transcription, DNA-dependent	6.4	1.5	4.3E-08
33	GO:0006350	P	281	transcription	6.4	1.5	4.3E-08
34	GO:0009987	P	1479	cellular process	6.3	1	5.2E-08
35	GO:0016070	P	315	RNA metabolic process	6.3	1.5	8.8E-08
36	GO:0070647	P	28	protein modification by small protein conjugation or removal	6	3.2	4.6E-07
37	GO:0032446	P	28	protein modification by small protein conjugation	6	3.2	4.6E-07
38	GO:0016567	P	28	protein ubiquitination	6	3.2	4.6E-07
39	GO:0044237	P	1049	cellular metabolic process	6	1.1	4.8E-07
40	GO:0050794	P	380	regulation of cellular process	5.8	1.3	1.4E-06
41	GO:0050789	P	381	regulation of biological process	5.8	1.3	1.4E-06
42	GO:0032501	P	33	multicellular organismal process	5.6	2.9	4.1E-06
43	GO:0065007	P	396	biological regulation	5.4	1.3	1.5E-05
44	GO:0044042	P	19	glucan metabolic process	5.2	3.3	5.1E-05
45	GO:0006073	P	19	cellular glucan metabolic process	5.2	3.3	5.1E-05
46	GO:0005976	P	34	polysaccharide metabolic process	5.1	2.6	9.8E-05
47	GO:0051704	P	27	multi-organism process	5	2.8	1.3E-04
48	GO:0048544	P	27	recognition of pollen	5	2.8	1.3E-04
49	GO:0022414	P	27	reproductive process	5	2.8	1.3E-04
50	GO:0009875	P	27	pollen-pistil interaction	5	2.8	1.3E-04
51	GO:0009856	P	27	pollination	5	2.8	1.3E-04
52	GO:0008037	P	27	cell recognition	5	2.8	1.3E-04
53	GO:0000003	P	27	reproduction	5	2.8	1.3E-04
54	GO:0005975	P	80	carbohydrate metabolic process	4.9	1.9	2.2E-04
55	GO:0044264	P	31	cellular polysaccharide metabolic process	4.5	2.5	1.3E-03
56	GO:0044262	P	57	cellular carbohydrate metabolic process	4.5	2	1.8E-03
57	GO:0045087	P	47	innate immune response	4.2	2	7.2E-03
58	GO:0006955	P	47	immune response	4.2	2	7.2E-03
59	GO:0002376	P	47	immune system process	4.2	2	7.2E-03
60	GO:0006629	P	70	lipid metabolic process	3.8	1.7	3.0E-02
61	GO:0045454	P	19	cell redox homeostasis	-3.9	-1.4	2.1E-02
62	GO:0019725	P	21	cellular homeostasis	-4.1	-1.4	9.1E-03
63	GO:0042592	P	22	homeostatic process	-4.2	-1.4	6.5E-03
64	GO:0065008	P	27	regulation of biological quality	-4.5	-1.3	1.4E-03

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	Mean	FDR
66	GO:0030554	F	577	adenyl nucleotide binding	13	1.8	0.0E+00
67	GO:0001883	F	577	purine nucleoside binding	13	1.8	0.0E+00
68	GO:0001882	F	578	nucleoside binding	13	1.8	0.0E+00
69	GO:0032559	F	564	adenyl ribonucleotide binding	13	1.9	0.0E+00
70	GO:0005524	F	564	ATP binding	13	1.9	0.0E+00
71	GO:0000166	F	666	nucleotide binding	12	1.7	0.0E+00
72	GO:0005488	F	1841	binding	12	1.3	0.0E+00
73	GO:0017076	F	625	purine nucleotide binding	11	1.7	0.0E+00
74	GO:0032555	F	611	purine ribonucleotide binding	11	1.7	0.0E+00
75	GO:0032553	F	611	ribonucleotide binding	11	1.7	0.0E+00
76	GO:0004672	F	268	protein kinase activity	10	2.1	0.0E+00
77	GO:0016773	F	293	phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	10	2	0.0E+00
78	GO:0016301	F	295	kinase activity	9.9	2	0.0E+00
79	GO:0003824	F	1159	catalytic activity	9.6	1.3	0.0E+00
80	GO:0003700	F	121	transcription factor activity	9.2	2.5	0.0E+00
81	GO:0016740	F	476	transferase activity	9	1.6	0.0E+00
82	GO:0016772	F	336	transferase activity, transferring phosphorus-containing groups	8.9	1.7	0.0E+00
83	GO:0030528	F	183	transcription regulator activity	7.9	2	3.9E-13
84	GO:0005515	F	739	protein binding	7	1.2	4.9E-10
85	GO:0043531	F	126	ADP binding	6.9	2	1.1E-09
86	GO:0003677	F	342	DNA binding	6.1	1.4	1.5E-07
87	GO:0019787	F	29	small conjugating protein ligase activity	6	3.2	3.9E-07
88	GO:0004842	F	29	ubiquitin-protein ligase activity	6	3.2	3.9E-07
89	GO:0016757	F	61	transferase activity, transferring glycosyl groups	5.8	2.3	8.5E-07
90	GO:0030246	F	35	carbohydrate binding	5.4	2.7	1.0E-05
91	GO:0016758	F	47	transferase activity, transferring hexosyl groups	5.3	2.4	1.5E-05
92	GO:0005529	F	34	sugar binding	5.2	2.7	2.5E-05
93	GO:0016798	F	21	hydrolase activity, acting on glycosyl bonds	4.9	3.1	1.3E-04
94	GO:0004553	F	21	hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds	4.9	3.1	1.3E-04
95	GO:0015662	F	17	ATPase activity, coupled to transmembrane movement of ions, phosphorylative mechanism	4.9	3.3	1.8E-04
96	GO:0004888	F	53	transmembrane receptor activity	4.7	2.1	4.8E-04
97	GO:0004872	F	53	receptor activity	4.7	2.1	4.8E-04
98	GO:0016787	F	368	hydrolase activity	4.6	1.2	6.2E-04
99	GO:0016887	F	101	ATPase activity	4.5	1.7	1.1E-03
100	GO:0017111	F	164	nucleoside-triphosphatase activity	4.2	1.4	3.9E-03
101	GO:0016462	F	169	pyrophosphatase activity	4.2	1.4	4.1E-03
102	GO:0016818	F	170	hydrolase activity, acting on acid anhydrides, in phosphorus-containing anhydrides	4.2	1.4	4.4E-03
103	GO:0046872	F	253	metal ion binding	4	1.2	1.1E-02
104	GO:0043169	F	253	cation binding	4	1.2	1.1E-02
105	GO:0043167	F	253	ion binding	4	1.2	1.1E-02
106	GO:0016817	F	173	hydrolase activity, acting on acid anhydrides	3.9	1.3	1.3E-02
107	GO:0003676	F	517	nucleic acid binding	3.7	1	3.0E-02
108	GO:0042623	F	78	ATPase activity, coupled	3.7	1.6	3.4E-02
109	GO:0070001	F	18	aspartic-type peptidase activity	3.6	2.6	4.4E-02
110	GO:0004190	F	18	aspartic-type endopeptidase activity	3.6	2.6	4.4E-02
111	GO:0015036	F	17	disulfide oxidoreductase activity	-3.8	-1.4	2.4E-02
112	GO:0015035	F	17	protein disulfide oxidoreductase activity	-3.8	-1.4	2.4E-02
113	GO:0022890	F	33	inorganic cation transmembrane transporter activity	-4.3	-1	3.3E-03
114	GO:0015077	F	31	monovalent inorganic cation transmembrane transporter activity	-4.4	-1.1	1.5E-03
115	GO:0015078	F	28	hydrogen ion transmembrane transporter activity	-4.9	-1.4	1.9E-04
116	GO:0005198	F	122	structural molecule activity	-10	-1.4	4.7E-22
117	GO:0003735	F	111	structural constituent of ribosome	-11	-1.7	2.8E-25

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	Mean	FDR
118	GO:0000151	C	29	ubiquitin ligase complex	5.9	3.1	2.2E-07
119	GO:0030312	C	15	external encapsulating structure	5.2	3.7	1.6E-05
120	GO:0005576	C	16	extracellular region	3.5	2.6	3.0E-02
121	GO:0031966	C	15	mitochondrial membrane	-3.8	-1.6	8.2E-03
122	GO:0016469	C	19	proton-transporting two-sector ATPase complex	-4	-1.4	5.0E-03
123	GO:0005740	C	26	mitochondrial envelope	-4	-1.1	4.1E-03
124	GO:0044446	C	115	intracellular organelle part	-4.2	-0.22	2.1E-03
125	GO:0044422	C	115	organelle part	-4.2	-0.22	2.1E-03
126	GO:0044429	C	29	mitochondrial part	-4.5	-1.2	5.7E-04
127	GO:0005739	C	30	mitochondrion	-4.6	-1.2	3.4E-04
128	GO:0032991	C	287	macromolecular complex	-7.4	-0.32	1.3E-11
129	GO:0044424	C	476	intracellular part	-7.5	-0.12	4.3E-12
130	GO:0043229	C	367	intracellular organelle	-8.9	-0.39	2.8E-17
131	GO:0043226	C	367	organelle	-8.9	-0.39	2.8E-17
132	GO:0044444	C	215	cytoplasmic part	-10	-0.94	1.6E-23
133	GO:0005737	C	271	cytoplasm	-11	-0.81	6.5E-25
134	GO:0043232	C	133	intracellular non-membrane-bounded organelle	-11	-1.5	1.7E-25
135	GO:0043228	C	133	non-membrane-bounded organelle	-11	-1.5	1.7E-25
136	GO:0005840	C	111	ribosome	-11	-1.7	1.2E-25
137	GO:0030529	C	117	ribonucleoprotein complex	-11	-1.6	5.1E-26

Tableau 22 : Enrichissement en terme GO issu de la liste de DEG de la tige (Z2) en réponse à une brûlure de feuille de peuplier.

No	GO Term	Onto	Number	Description	Z-score	Mean	FDR
1	GO:0051252	P	196	regulation of RNA metabolic process	4,6	2,7	7,3E-04
2	GO:0045449	P	196	regulation of transcription	4,6	2,7	7,3E-04
3	GO:0010468	P	196	regulation of gene expression	4,6	2,7	7,3E-04
4	GO:0006355	P	196	regulation of transcription, DNA-dependent	4,6	2,7	7,3E-04
5	GO:0060255	P	198	regulation of macromolecule metabolic process	4,5	2,7	1,3E-03
6	GO:0031326	P	197	regulation of cellular biosynthetic process	4,5	2,7	1,3E-03
7	GO:0010556	P	197	regulation of macromolecule biosynthetic process	4,5	2,7	1,3E-03
8	GO:0009889	P	197	regulation of biosynthetic process	4,5	2,7	1,3E-03
9	GO:0080090	P	199	regulation of primary metabolic process	4,3	2,7	2,3E-03
10	GO:0051171	P	198	regulation of nitrogen compound metabolic process	4,3	2,7	2,3E-03
11	GO:0019219	P	198	regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process	4,3	2,7	2,3E-03
12	GO:0019222	P	202	regulation of metabolic process	4,3	2,7	2,9E-03
13	GO:0031323	P	201	regulation of cellular metabolic process	4,3	2,7	2,9E-03
14	GO:0032774	P	206	RNA biosynthetic process	3,7	2,6	3,5E-02
15	GO:0006351	P	206	transcription, DNA-dependent	3,7	2,6	3,5E-02
16	GO:0006350	P	206	transcription	3,7	2,6	3,5E-02
17	GO:0006412	P	61	translation	-10	-0,17	2,3E-23
18	GO:0003700	F	116	transcription factor activity	5,6	3	2,7E-06
19	GO:0030528	F	144	transcription regulator activity	4,3	2,8	1,9E-03
20	GO:0005198	F	60	structural molecule activity	-10	-0,12	4,0E-22
21	GO:0003735	F	57	structural constituent of ribosome	-10	-0,2	1,5E-22
22	GO:0030312	C	18	external encapsulating structure	4	3,8	1,7E-03
23	GO:0005576	C	19	extracellular region	4	3,7	2,4E-03
24	GO:0000151	C	26	ubiquitin ligase complex	3,3	3,3	2,7E-02
25	GO:0005618	C	13	cell wall	3,2	3,7	4,1E-02
26	GO:0030529	C	58	ribonucleoprotein complex	-10	-0,16	1,1E-22
27	GO:0005840	C	57	ribosome	-10	-0,2	4,5E-23
28	GO:0043232	C	62	intracellular non-membrane-bounded organelle	-10	-0,15	5,4E-24
29	GO:0043228	C	62	non-membrane-bounded organelle	-10	-0,15	5,4E-24

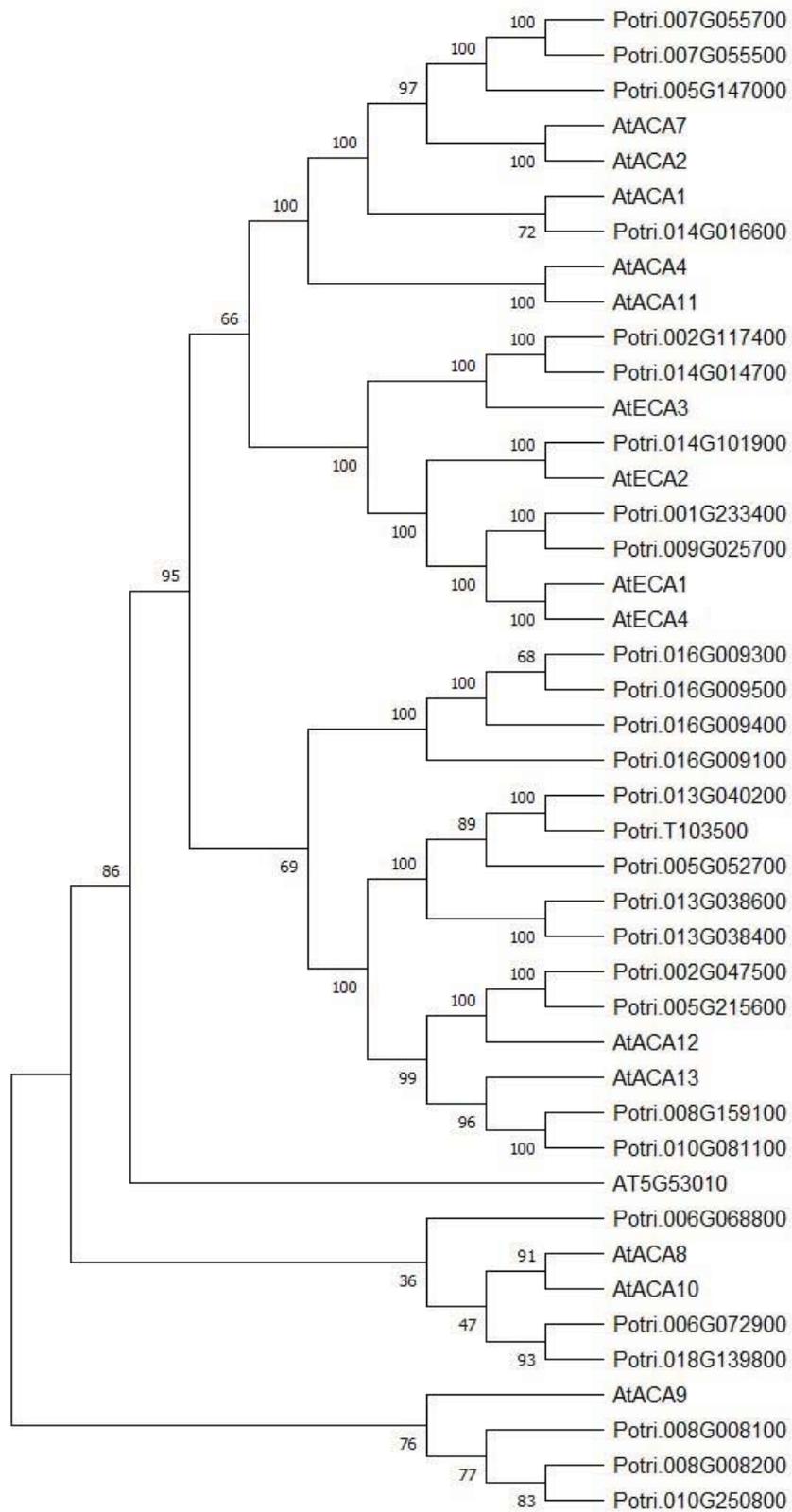


Figure 64 : Arbre phylogénétique des gènes codant pour des pompes de type ACA et ECA. L'arbre a été réalisé selon la même méthode employé par Hartmann *et al.* (2021).

Tableau 23 : Régulation des gènes, probablement impliqués dans la biosynthèse et la signalisation des JA, dans la tige et l'apex en réponse à la brûlure de la feuille de *Populus trichocarpa*.

Gènes	Log2FC	ATG	Synonymes ATG	Z1 - Z2
Biosynthèse des JA				
Potri.005G032800	1	AT1G55020	LOX1	Z2
Potri.005G032700	3.1			
Potri.005G032600	3.1			
Potri.005G032400	3.1			
Potri.001G167700	5.4	AT1G17420 AT1G72520	LOX3 LOX4	Z1 et Z2
Potri.010G089500	1.5	AT3G22400	LOX5	Z1
Potri.010G057100	1.7	AT1G67560	LOX6	
Potri.008G117300	4.8	AT3G25760	AOC1	Z1 et
Potri.014G038700	5.7	AT5G42650	AOS	Z2
Potri.004G102500	1.6	AT1G76690	AOC2 AOC3	Z2
Potri.013G102700	1.7		OPR2	
Signalisation des JA				
Potri.006G139400	3.4	AT1G19180 AT1G74950	JAZ1 JAZ2	
Potri.003G165000	2.4	AT5G13220	JAZ10	
Potri.011G083900	7.7	AT1G30135	JAZ8	
Potri.001G166200	3.2	AT1G17380	JAZ5	
Potri.003G068900	4	AT1G72450	JAZ6	
Potri.015G035800	0.9	AT3G17860 AT1G48500	JAZ3 JAZ4	Z1
Potri.003G092200	2.5	AT4G17880	MYC4	Z1 et Z2
Potri.001G142200	2.4	AT5G46760 AT1G32640	MYC3 MYC2	
Potri.014G099700	2.1	AT4G00870	BHLH14	
Potri.002G176900	2.7			Z2

Tableau 24 : Surexpression de gènes de peuplier codant probablement les éléments du complexe JJW, et des calmodulines interagissant avec JAV1, en réponse à la brûlure.

Gènes	Log2FC	ATG	Synonymes ATG	Z1 - Z2
Potri.011G083900	7,7	AT1G30135	JAZ8	Z1 - Z2
Potri.006G224100	4	AT5G64810 AT5G26170	WRKY51 WRK50	
Potri.001G158800	3,7	AT3G22160	JAV1	
Potri.008G159300	4,9	AT4G14640 AT3G22930	CaM 8 CML11	
Potri.005G215700	5,9	AT1G66410 AT2G27030 AT5G21274 AT3G43810	CaM (4 à 7)	
Potri.016G024700	1,1	-	CaMs / CML	Z2
Potri.005G052800	1,7			
Potri.T124900	2			
Potri.017G029700	2,6			
Potri.002G047300	7,8			
Potri.007G128600	2,2			

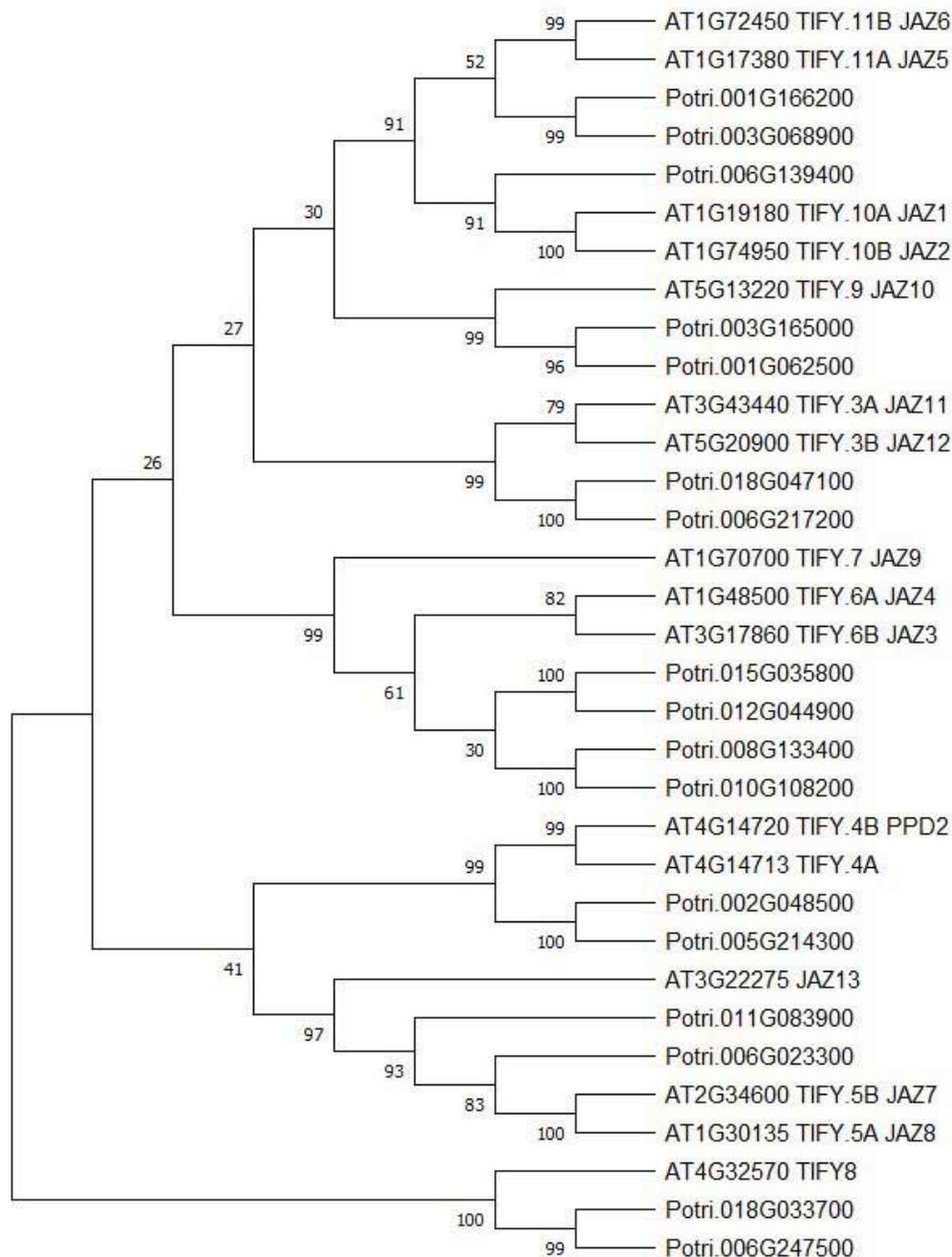


Figure 65 : Arbre phylogénétique des gènes codant pour des JAZs chez *Populus trichocarpa* et *Arabidopsis thaliana*. L'histoire évolutive a été déduite en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance et le modèle de correction de Poisson. L'arbre consensus bootstrap déduit de 1000 répliques est considéré comme représentant l'histoire évolutive des taxons analysés. Les branches correspondant aux partitions reproduites dans moins de 50% des répliques bootstrap sont réduites. Le pourcentage d'arbres répliqués dans lesquels les taxons associés se regroupent lors du test bootstrap (1000 répliques) est indiqué à côté des branches. Le ou les arbres initiaux pour la recherche heuristique ont été obtenus automatiquement en appliquant les algorithmes Neighbor-Join et BioNJ à une matrice de distances par paires estimées à l'aide du modèle de Poisson, puis en sélectionnant la topologie présentant la valeur de vraisemblance logarithmique supérieure. Cette analyse a porté sur 33 séquences d'acides aminés. Toutes les positions présentant une couverture de site inférieure à 50 % ont été éliminées, c'est-à-dire que les lacunes d'alignement de moins de 50 %, les données manquantes et les bases ambiguës étaient autorisées à n'importe quelle position (option de suppression partielle). Il y avait un total de 242 positions dans l'ensemble de données final. Les analyses évolutives ont été réalisées dans MEGA X.

Tableau 25 : Liste des gènes différentiellement régulés dans l'apex suite à une brûlure de feuille et potentiellement impliqués dans la régulation du cycle cellulaire

Transcript	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj	Description	GO	PANTHER	ATG
Gènes liés au cycle cellulaire										
Potri.001G031400.4	386.70	0.95	0.20	4.67	3.03904E-06	2.69045E-05	similar to RETINOBLASTOMA-RELATED 1	GO:0051726-regulation of cell cycle;GO:0005634-nucleus	PTHR13742-SF1-RETINOBLASTOMA RELATED	AT3G12280.1
Potri.001G031400.1	617.38	0.95	0.18	5.30	1.17445E-07	1.55553E-06				AT3G12280.2
Potri.001G031400.2	605.83	0.90	0.18	4.92	8.82461E-07	9.14781E-06				AT3G12280.2
Potri.001G088000.1	365.69	1.02	0.22	4.75	2.0757E-06	1.92147E-05	similar to HUA ENHANCER 3; significant sequence similarity to plant and animal cyclin-dependent protein kinases, and was classified as an E-type CDK with a SPTAIRE	GO:0004672-protein kinase activity;GO:0005524-ATP binding;GO:0006468-protein amino acid phosphorylation	PTHR24056-CELL DIVISION PROTEIN KINASE;PTHR24056:SF83-	AT5G63610.1
Potri.001G088000.2	299.46	0.87	0.18	4.80	1.57402E-06	1.51001E-05				AT5G63610.1
Potri.005G027700.5	388.23	-0.90	0.20	-4.58	4.56549E-06	3.82843E-05	CYCH;1, CYCLIN H;1	GO:0003743-translation initiation factor activity;GO:0006413-translational initiation;GO:0019901-protein kinase binding;GO:0005675-transcription factor TFIH	PTHR10026-CYCLIN;PTHR10026:SF8-CYCLIN H	AT5G27620.1
Potri.014G194900.2	198.41	-0.94	0.18	-5.31	1.07208E-07	1.43668E-06	CYCLINC1-2	GO:0000079-regulation of CDK activity;GO:0006355-regulation of transcription, DNA-dependent;GO:0019901-protein kinase binding	PTHR10026-CYCLIN;PTHR10026:SF7-CYCLIN H	AT5G48630
Potri.005G209800.5	803.37	-1.35	0.27	-5.05	4.51003E-07	5.07506E-06	cyclin P (P4-1, P1-1) family proteins; similar to cyclin 2 (Trypanosoma brucei) [co-orthologs of At3g63120, AT2G44740.1]	GO:0019901-protein kinase binding;GO:0000079-regulation of CDK activity	PTHR15615-UNCHARACTERIZED	AT2G44740.1
Potri.005G209800.2	548.23	-1.11	0.23	-4.87	1.11356E-06	1.11677E-05				AT3G63120.1
Potri.005G209800.1	949.36	-1.11	0.22	-5.01	5.54054E-07	6.07724E-06				AT3G63120.1
Potri.005G209800.3	398.43	-1.17	0.23	-4.96	7.03803E-07	7.51076E-06				AT3G63120.1
Potri.005G209800.4	384.98	-1.42	0.19	-7.31	2.75311E-13	1.50235E-11				AT2G44740.1
Potri.002G143400.3	84.57	-2.09	0.45	-4.66	3.13206E-06	2.7624E-05	cyclin P (CYCLIN P3;2) family protein; similar to cyclin 2 (Trypanosoma brucei)	GO:0019901-protein kinase binding;GO:0000079-regulation of CDK activity	PTHR15615-UNCHARACTERIZED	AT3G60550.1
Potri.002G143400.2	80.52	-2.65	0.49	-5.41	6.31846E-08	9.0114E-07				AT3G60550.1
Potri.002G143400.1	113.95	-2.70	0.56	-4.80	1.60173E-06	1.53154E-05				AT3G60550.1
Potri.001G289200.3	1326.98	2.79	0.39	7.16	8.33395E-13	4.10281E-11		GO:0005515-protein binding;GO:0016772-transferase activity, transferring phosphorus-containing groups	PTHR11139-ATAXIA TELANGIECTASIA MUTATED (ATM)-RELATED;PTHR11139:SF9-PHOSPHATIDYLINOSITOL 3-KINASE TOR1	AT1G50030.1
Potri.001G289200.1	1842.90	1.97	0.35	5.67	1.45225E-08	2.48458E-07				
Potri.001G289200.2	1661.91	1.94	0.33	5.83	5.51213E-09	1.05688E-07				
Potri.001G289200.4	1492.79	1.79	0.31	5.70	1.18602E-08	2.0815E-07				
Potri.007G042300.1	959.00	-1.50	0.26	-5.82	5.75966E-09	1.0989E-07	KIP-RELATED PROTEIN 2, KRP2Kip-related protein (KRP) gene, encodes CDK (cyclin-dependent kinase) inhibitor (CKI),	GO:0004861-cyclin-dependent protein kinase inhibitor activity;GO:0007050-cell cycle arrest;GO:0005634-nucleus		AT3G50630.1
Potri.009G103600.1	1452.01	-1.54	0.24	-6.31	2.73454E-10	7.33054E-09	KIP-RELATED PROTEIN 7, similar to cyclin dependent kinase inhibitor. KRP7 .	GO:0004861-cyclin-dependent protein kinase inhibitor activity;GO:0007050-cell cycle arrest;GO:0005634-nucleus		AT1G49620.1

Tableau 26 : Liste des gènes différentiellement régulés dans l'apex suite à une brûlure de feuille et potentiellement impliqués dans la croissance de la tige

Transcript	baseMean	log2FoldC hange	lfcSE	stat	pvalue	padj	Description	GO	PANTHER	ATG
Facteurs de transcription liés à la croissance de la tige chez le peuplier										
Potri.006G167700.2	894.30	0.98	0.20	4.99	5.8905E-07	6.40647E-06	Encodes a member of the AP2 family of transcriptional regulators AINTEGUMENTA-LIKE (AIL5),	GO:0003700-transcription factor activity;GO:0006355-regulation of transcription, DNA-dependent	PTHR11795:SF332-;PTHR11795-PROTEIN KINASE	AT5G57390.1
Potri.018G091600.1	1011.98	1.33	0.21	6.27	3.56059E-10	9.24786E-09				AT5G57390.1
Potri.002G064400.1	9776.96	1.09	0.24	4.47	7.66458E-06	6.01375E-05	similar to GIGANTEA protein			AT1G22770.1
Potri.001G235800.1	5278.18	7.39	0.71	10.45	1.49042E-25	5.28211E-23	PtaZFP2, zinc finger (C2H2 type) transcription		PTHR26374-At3g53600,At2g3NAMED;PTHR2637	ortholog of At3g53600,At2g37430
Gènes SAUR										
Potri.001G119900.1	112.84	4.39	0.56	7.86	3.71884E-15	3.15093E-13	auxin-responsive family protein SAUR 35			AT4G12410
Potri.003G113100.1	3568.55	5.72	0.58	9.86	6.52065E-23	1.72624E-20	SAUR35			AT4G12410
Potri.001G306300.1	295.62	-1.44	0.29	-4.96	7.19508E-07	7.65605E-06	SAUR30			AT5G53590
Potri.002G024300.1	277.29	-1.33	0.29	-4.53	6.03738E-06	4.88557E-05	SAUR51			AT1G75580
Potri.002G024500.1	435.23	-1.63	0.29	-5.63	1.76121E-08	2.95112E-07	SAUR52			AT1G75590
Potri.002G145300.1	306.71	2.98	0.53	5.58	2.39609E-08	3.84301E-07	SAUR59			AT3G60690
Potri.004G165300.1	8091.17	-3.16	0.50	-6.31	2.84889E-10	7.60308E-09	SAUR14			AT4G38840
Potri.004G165400.1	875.32	-2.86	0.43	-6.73	1.64257E-11	5.95252E-10	SAUR14			AT4G38840
Potri.004G165500.1	656.54	-2.51	0.52	-4.83	1.39824E-06	1.36105E-05	SAUR1			AT4G34770
Potri.004G165600.1	305.07	-3.45	0.41	-8.48	2.30013E-17	2.91581E-15	SAUR1			AT4G34770
Potri.016G092400.1	132.66	2.33	0.36	6.56	5.22084E-11	1.67006E-09	SAUR48			AT3G09870
Potri.019G002200.1	138.04	-1.91	0.40	-4.74	2.10164E-06	1.9433E-05	SAUR33			AT3G61900
Gènes liés à la voie de synthèse des Gibbérellines										
Potri.011G134000.1	15.55	4.18	0.93	4.51	6.45665E-06	5.17152E-05	Homologous to ARABIDOPSIS THALIANA GIBBERELLIN 2-OXIDASE 8 Encodes a protein with gibberellin 2-oxidase activity which acts specifically on C-20 gibberellins. Involved in GA catabolism	GO:0016491-oxidoreductase activity;GO:0016706-OXIDASE activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen, 2-oxoglutarate as one donor, and incorporation of one atom each of oxygen into both donors;GO:0055114-oxid	PTHR10209-FE(II)/ASCORBATE SUPERFAMILY;PTHR10209:SF55-OXIDOREDUCTASE, 2OG-FE(II) OXYGENASE FAMILY PROTEI	AT4G21200.1
Potri.001G378400.1	3994.34	2.19	0.42	5.18	2.16733E-07	2.67544E-06	idem ci-dessus	idem ci-dessus	idem ci-dessus	AT1G78440.1
Potri.001G378400.2	2254.10	2.42	0.47	5.19	2.05779E-07	2.55409E-06	idem ci-dessus	idem ci-dessus	idem ci-dessus	AT1G78440.1
Potri.007G103800.2	135.11	-2.10	0.39	-5.34	9.2415E-08	1.26048E-06	similar to probable gibberellin 20-oxidase - Encodes gibberellin 20-oxidase. Involved in gibberellin biosynthesis.	GO:0016491-oxidoreductase activity; GO:0016706-oxidoreductase activity; GO:0055114-oxid	PTHR10209-FE(II)/ASCORBATE SUPERFAMILY;PTHR10209:SF55-OXIDOREDUCTASE, 2OG-FE(II) OXYGENASE FAMILY PROTEI	AT5G51810.1
Potri.007G103800.1	160.78	-1.80	0.40	-4.51	6.43945E-06	5.16088E-05				

Stem bending generates electrical response in poplar

 Erwan Tinturier  | Éric Badel | Nathalie Leblanc-Fournier | Jean-Louis Julien

Université Clermont Auvergne, INRAE, UMR 547-PIAF, Aubière, France

Correspondence

 Erwan Tinturier, Université Clermont Auvergne, INRAE, UMR 547-PIAF, 1 impasse Amélie Murat, 63178 Aubière, France.
 Email: e.tinturie@gmail.com

Funding information

Université Clermont-Auvergne, Grant/Award Number: 16-IDEX-0001

Edited by Y. Helariutta

Abstract

Under natural conditions, plants experience external mechanical stresses such as wind and touch that impact their growth. A remarkable feature of this mechanically induced growth response is that it may occur at a distance from the stimulation site, suggesting the existence of a signal propagating through the plant. In this study, we investigated the electrical response of poplar trees to a transient controlled bending stimulation of the stem that mimics the mechanical effect of wind. Stem bending was found to cause an electrical response that we called “gradual” potential, similar in shape to an action potential. However, this signal can be distinguished from the well-known plant action potential by its propagation up to 20 cm along the stem and its strong dumping in velocity and amplitude. Two hypotheses regarding the mode of propagation of the “gradual” potential are discussed.

1 | INTRODUCTION

Plants perceive mechanical disturbances from their environment and adjust their growth according to a process called thigmomorphogenesis (Jaffe, 1973). In natural conditions, trees experience wind every day, applying recurrent force loadings that lead to mechanical strain of stem and branches. As a physiological response, trees in windy environments show a low primary growth and an increase in diameter (Telewski, 2006). The responses to mechanical disturbances can be local or remote. As shown by Coutand et al. (2000), bending of a tomato stem leads to a rapid cessation of primary growth away from the stimulated area. Although this rapid response has not been confirmed in poplar after a single basal flexion of the stem (Tixier et al., 2014), a slowdown in primary growth was observed following daily repeated flexions for weeks (Niez et al., 2019). These observations suggest the ability of plants to transport mechanically induced information over a long distance.

Several long-distance signaling ways can be considered from the literature, essentially studied after wounding stimuli: chemical signaling (Choi et al., 2016), hydraulic pulse (Lopez et al., 2014; Malone, 1993), and electrical signaling (Hedrich et al., 2016; Mousavi et al., 2013). Although these pathways are generally studied separately, they are likely to interact (Farmer et al., 2014; Van Bel et al., 2014). The electrical signaling hypothesis has not yet been studied in non-wounding mechanical stimulations, such as organ bending triggered by the wind.

In plants, two types of electrical signals were described: the action potential (AP) and the slow wave (SW) or variation potential. The SW is characteristic of a response to a solicitation producing wounds. It consists of a rapid depolarization phase followed by a short plateau step, where the transmembrane potential remains stable, and finally a repolarization step lasting variably from 1 to 45 min. Its propagation speed is of the order of mm s^{-1} (Julien et al., 1991; Roblin & Bonnemain, 1985; Van Sambeek & Pickard, 1976a). The SW is positively correlated with stimulus intensity and its amplitude decreases with increasing distance from the stimulation site (Stahlberg et al., 2005). Several studies reported the SW involvement in the activation of defense mechanisms such as the proteinase inhibitor induction (Wildon et al., 1992) and jasmonates signaling pathway (Mousavi et al., 2013).

In contrast, the AP is a rapid and transient depolarization (a few seconds to 2 min) of the plasma membrane with all-or-nothing characteristics, propagating with a tissue-specific rate and without decrement (Fromm & Spanswick, 1993; Stankovic et al., 1998; Zawadzki et al., 1991). The signal propagates preferentially through the phloem, which shares common properties with neurons in animals, namely the existence of membrane continuity by which electrical excitations could be transmitted from one cell to another via plasmodesmata, pores connecting the cytoplasm of one cell to that of its neighbor (Fromm & Lautner, 2007; Van Bel et al., 2014). AP has mainly been studied in the context of rapid motor activity of plants, such as carnivorous or *Mimosa pudica* plants, in which a propagation rate of the

order of 5 cm s^{-1} has been measured (Sibaoka, 1969). APs have also been triggered in plants without rapid motor activity, such as *Lupinus* or willow (Fromm & Spanswick, 1993; Paszewski & Zawadzki, 1976).

The rapid propagation of AP could explain the rapid onset of remote responses such as longitudinal growth inhibition observed in plants after stem bending. As highlighted by recent studies, trees are particularly impacted by mechanical stimulations related to wind (Alonso-Serra et al., 2020). Therefore, the aim of this study is to investigate the electrical signals triggered after a transient bending of poplar stems by electrophysiological measurements.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Plant material and culture conditions

Young poplars (*Populus tremula* × *alba*, clone INRA 717-1B4) were obtained by in vitro micropropagation (Leple et al., 1992). Once they reached a height of about 4 cm, the acclimation process from in vitro to hydroponic solution began (Martin et al., 2009) through decreasing relative humidity. Trees were then placed in a growth chamber (16 h/8 h light/dark cycle at $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and $22^\circ\text{C}/18^\circ\text{C}$ with air relative humidity of 60%). Four months after micropropagation, the poplars were used for experiments; at this stage, stems were about $77.8 \text{ cm} (\pm 1.5 \text{ se})$ tall with an average diameter of $5.8 \text{ mm} (\pm 0.3 \text{ se})$.

Prior to electrophysiology experiments, plants were moved into a Faraday cage in an ambient laboratory (16 h/8 h light/dark cycle at $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and $22^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$). Plants were set vertically and fixed in two points of the stem with clamping rings (Figure 1). Foam was rolled around each part of the stem before tightening the clamping rings to avoid stem wounds and to allow possible stem diameter variations. The root system was plunged in a 20 l vat filled with hydroponic solution.

2.2 | Bending treatments

The leaves of the bent segment were removed with a razor blade to avoid uncontrolled mechanical stimuli. The speed and the magnitude of the bending stimulation were controlled by a motorized arm (hybrid stepping motors 17 PM-H311-P1, Minebea Co) that pushed the stem against a plastic template, which had a constant radius of curvature. The speed of the motor was fixed in order to manage a flexion time of 2 s (round trip) using interface software MegunoLink. The strain magnitude on the stem periphery was controlled by the radius of curvature of the plastic template. This method allowed applying the same strain level along 12 cm of the bent segment. The setup was adjusted to apply a maximal peripheral longitudinal strain of the bark ε_{max} of around 2% according to the following equation (Coutand et al., 2009; Moulia et al., 2015).

$$\varepsilon_{\text{max}}(\%) = 100 \times \frac{D}{D + 2 \times \rho}$$

where ρ is the radius of curvature of the plastic template and D is the diameter of the stem in the direction of the bending (Niez et al., 2019). This value is high enough to generate significant thigmomorphogenetic responses (Niez et al., 2019).

Two types of bending treatments were applied. For transient apical bending, the template was placed 35 cm below the apex (Figure 1A). For transient basal bending, the template was placed 25 cm above the roots (Figure 1B).

2.3 | Burning treatment

The burn was carried out at a leaflet along the midrib with a match. The flame was held 1 cm below the leaflet for 4–6 s.

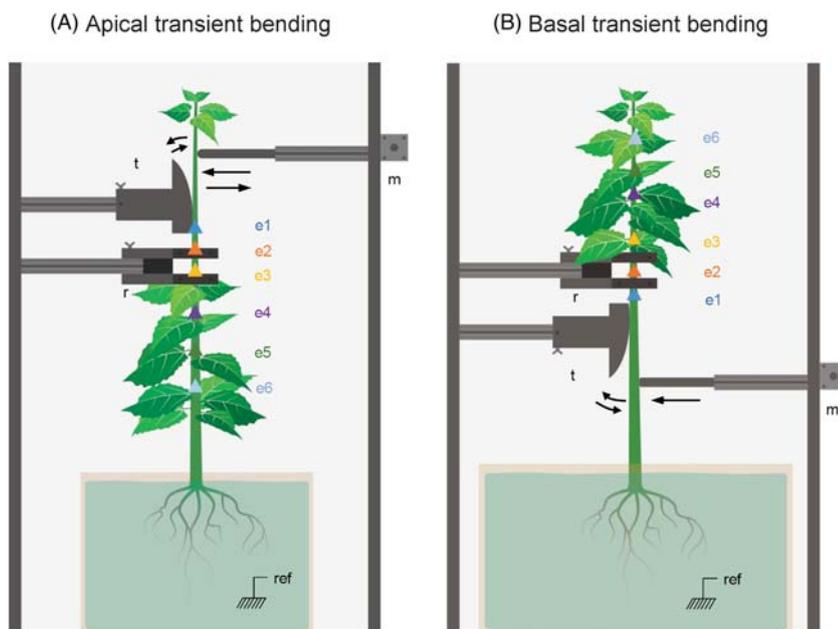


FIGURE 1 Experimental designs for measuring electrical signals in the stem after an apical (A) or a basal (B) transient bending. The poplar tree is placed in a Faraday cage, fixed in two points of the stem with clamping rings (r). The root system is bathing in a nutrient solution. The stem is bent at 2.5 cm s^{-1} with a motorized arm (m) that pushes the stem along a plastic with constant curvature (t). The electrodes are placed in the immobile portion of the stem. Electrode e1 is inserted 2 cm below the stem-template contact. Then the distances are: e1–e2 = 2 cm, e2–e3 = 3 cm, e3–e4 = 5 cm, e4–e5 = 5 cm, and e5–e6 = 5 cm. The potential difference is monitored along 20 cm of straight stem, below (A) or above (B) the bent region

2.4 | Cold treatment

The cold treatment was applied by placing a drop of cold water (5°C) with a pipet tip near the upper clamping ring.

2.5 | Monitoring of extracellular electrical signals

To minimize artefactual interferences, one single poplar at a time was placed in a Faraday cage. All electronic materials were located outside the cage. Six measuring electrodes (tinned copper wire [359–835], 0.25 mm diameter, RS Components) were inserted into the stem, passing through all the tissue to the pith, and measured electrical potential simultaneously near the bending area and up to 20 cm from it. After the installation was completed, the plant was left undisturbed for stabilization for 24–48 h.

The reference electrode (RC3 model, World Precision Instruments) was made of an Ag/AgCl wire immersed in the nutrient solution of the plants. The electrical potential recorded is the difference between a measuring electrode and the reference electrode with respect to the ground. In contrast to intracellular measurements, extracellular measurements show potential changes downward for depolarization and upward for hyperpolarization. The first measuring electrode e1 was inserted 2 cm below (apical bending) or above (basal bending) the stem-to-temple contact (Figure 1). The respective distances of each electrode from e1 were 2 cm (e2), 5 cm (e3), 10 cm (e4), 15 cm (e5), and 20 cm (e6). The six measuring electrodes and the reference electrode were connected to a cDAQ-9171 (National Instrument) electronic card. The electronic card was used as an

impedance amplifier (10 GΩ) and A/D converter. DAQExpress 1.0.1 software (National Instrument) monitored the potential difference with a sampling rate of 200 Hz. The graphs and analyzes were built using MatLab[®] software.

The analysis of the recordings provided several parameters of the signal. The amplitude was defined as the maximum difference value compared to the baseline before bending. The half-life time of the signal was defined as the duration at half amplitude (Figure 2A). The average propagation speed of the signal was calculated between each electrode as the ratio of the distance between two consecutive electrodes to the delay between the detection of a change in potential difference.

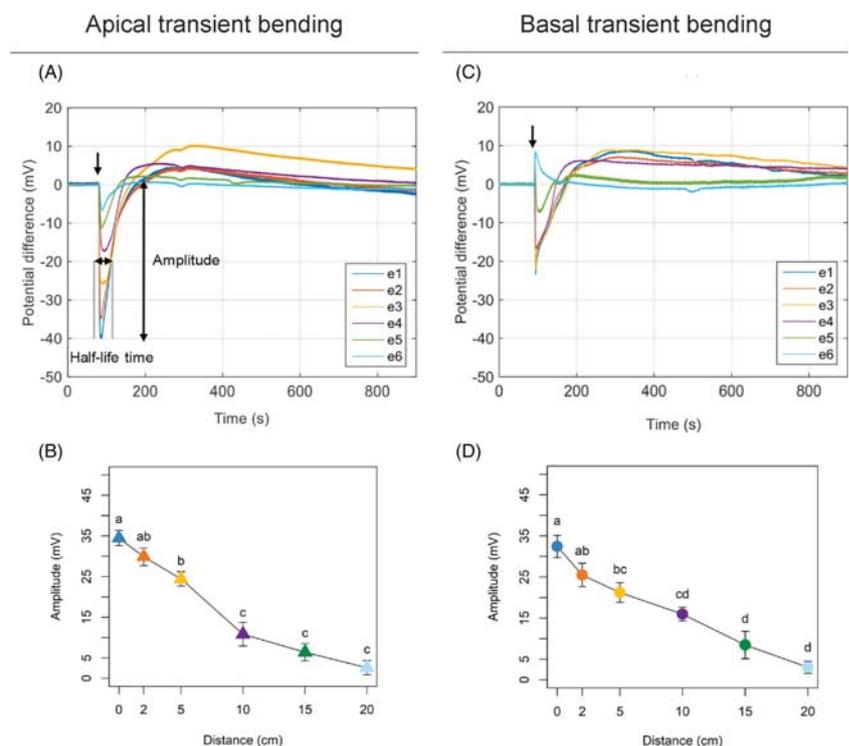
2.6 | Statistical analysis

All measured and computed data were statistically analyzed using R software. Kruskal and Wallis's tests and Dunn's tests were performed to compare results in terms of amplitude, duration, and speed of the signal ($p < 0.05$).

3 | RESULTS

To test the effect of stem bending on the production of a propagating electrical signal, the first challenge was to develop an original device (Figure 1) in which the measuring electrodes were kept immobile during the stem bending. In our case, we attached the stem to two fixed points. This mechanical configuration avoided the possible rotation of

FIGURE 2 Monitoring of the electrical signal generated after a transient stem bending and recorded at different positions in the stem in *Populus tremula* × *alba*. (A,C) Recording of the electrical signals measured by the six electrodes after a transient apical (A) or basal (C) stem bending applied on the stem (arrow). The half-life time of the signal was defined as the time during which the signal is higher than half the maximal amplitude. (B,D) Evolution of the amplitude of depolarization wave after apical (B) or basal (D) stem bending depending on the distance from the bent zone. Values represent the mean ± se ($n = 10$). Letters indicate the values that are statistically different (Kruskal and Wallis's tests and Dunn's tests $p < 0.05$)



the cross-sections of the stem and, thus, the movement of its non-solicited part. This ensured that the electrodes were kept totally immobile when the stem was bent.

A single, transient and rapid bending (2 s) of the apical part of the poplar stem induced a depolarization wave (Figure 2A) propagating basipetally up to 20 cm with a significant decrement. The mean amplitude near the flexion point was around 34 mV (e1), and dropped to 24 mV after 5 cm (e3), to reach a mean close to zero at 20 cm (e6 = 2.6 mV) (Figure 2B). The passage of the depolarization wave was followed by a slight hyperpolarization of the four measuring electrodes closest to the stimulation. Then, a slow (up to 30 min) and oscillation-free return to the initial potential was observed. The half-life time of the depolarization wave also decreased with the position of the electrode: from 44.2 s for e1 (the closest electrode from the bent zone) to 34.3 s for e3 and 6.8 s for e6, the farthest electrode (Table 1A). The average propagation speed of the depolarization wave

was evaluated between each electrode (Table 1B). Close to the bent zone, the speed ranged from 12.9 to 19.4 cm s⁻¹ between e1 and e3, while it dropped significantly to a range of 5.8–3.3 cm s⁻¹ between the farthest electrodes e3 and e6. Triggering and propagation of the electrical signal in response to stem apical bending was found in 100% of poplars ($n = 10$).

A transient and rapid bending of the basal stem segment also generated a depolarization wave (Figure 2C) propagating acropetally up to 20 cm. The mean amplitude near the bent zone was around 32.4 mV (e1), and dropped to 21.2 mV after 5 cm (e3), to finally reach a mean close to zero (e6 = 3 mV) after 20 cm (Figure 2D). Following the depolarization phase, a slight hyperpolarization was observed on the four measuring electrodes closest to the stimulation. Then, a slow and oscillation-free return to the initial potential occurred. The half-life time of the depolarization wave also decreased with the position of the electrode: from 51 s for e1 to 42.3 s for e3 and 9.7 s for e6 (Table 1A). The average propagation speed of the depolarization wave was evaluated between each electrode. Close to the bent zone, the speed ranged from 15.1 to 16.9 cm s⁻¹ between e1 and e3, while it dropped significantly to a range of 8.4–1.2 cm s⁻¹ between the farthest electrodes e3 and e6 (Table 1B). As with the bending of the apical segment, triggering and propagation of the electrical signal in response to stem basal bending was found in 100% of poplars ($n = 10$).

To compare the nature of the electrical signals propagated following different types of stimulation, we tested the response of poplars to a leaf burn ($n = 20$). As shown in Figure 3, a rapid depolarization was observed for each electrode following a leaf burn, starting with those placed closest to the stimulation site. This depolarization wave propagated both acropetally and basipetally in the poplar stem. The return to the initial potential was slow (5–45 min) and irregular. The amplitude tended to be greater near the stimulation, ranging from 5 to 70 mV. The propagation speed was about 0.02 cm s⁻¹.

As complementary experiments, we tried to generate an AP by applying cold water to the stem on eight different poplars individuals (Figure 4). Whereas three plants did not react, a local depolarization (no propagation) was measured on four of them, with a mean amplitude of 21.3 mV ± 5.5. Only one plant showed a clear depolarization

TABLE 1 Evolution of the half-life time (A) and the mean of the propagation speed (B) of a depolarization wave induced by an apical or basal bending of the stem

	Apical bending	Basal bending
(A) Electrode number	Half-life time (s)	
e1	44.2 ± 6.7	51 ± 8.3
e2	32.9 ± 4.5	43.3 ± 7.1
e3	34.3 ± 3.5	42.3 ± 4.4
e4	21.6 ± 5.01	35 ± 3.6
e5	15.1 ± 4.9	32.3 ± 3.9
e6	6.8 ± 4.4	9.7 ± 9.7
(B) Interval from the bent-zone (cm)	Average speed (cm s ⁻¹)	
[0;2]	12.98 ± 2.4	15.12 ± 5.4
[2;5]	19.41 ± 3.8	16.87 ± 2.7
[5;10]	5.85 ± 1.7	12.27 ± 2.7
[10;15]	3.31 ± 1.7	8.43 ± 1.1
[15;20]	3.36 ± 2.7	1.19 ± 1.2

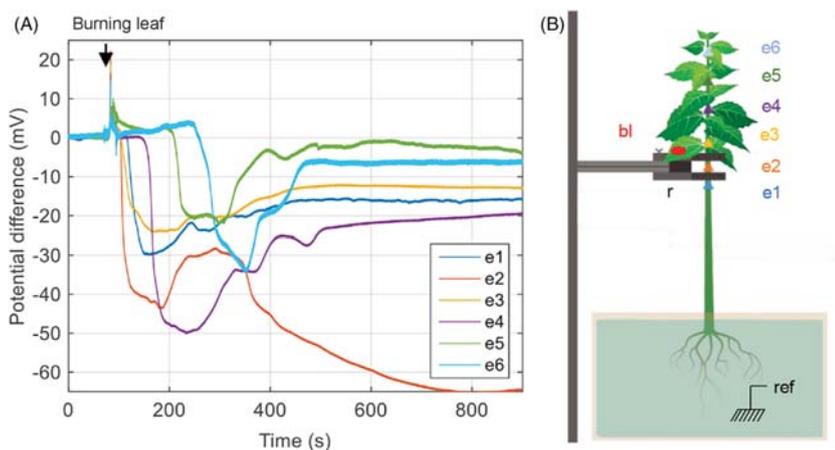
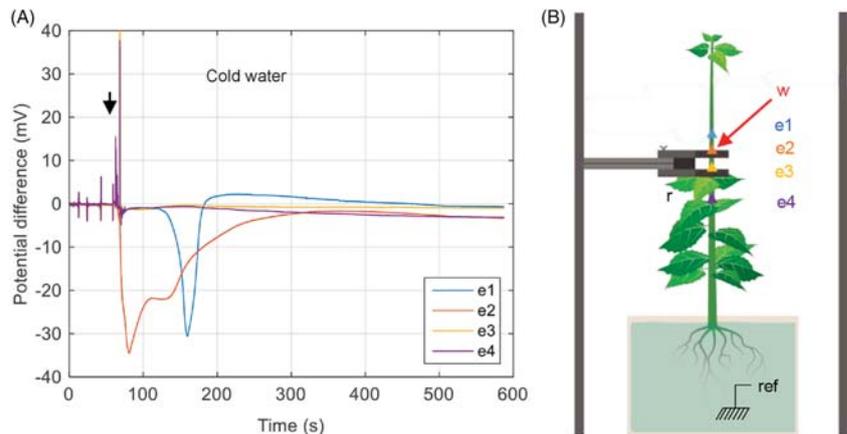


FIGURE 3 Monitoring of the electrical signal generated after a burnt leaf (bl) in *Populus tremula* × *alba*. For each electrode, the slow wave consists of a fast depolarization followed by a slow and irregular return to the initial potential. Here the amplitude ranges between 20 to 70 mV and the velocity is around 0.02 cm.s⁻¹ (A). The time of the stimulation is indicated by the black arrow. The poplar tree is placed in a Faraday cage, fixed in two points of the stem with clamping rings (r). Stimulation consists of burning the leaf with a match for about 4 s (B). The electrodes are placed along the stem as follows: e1–e2 = 2 cm, e2–e3 = 3 cm, e3–e4 = 5 cm, e4–e5 = 5 cm, and e5–e6 = 5 cm

FIGURE 4 Monitoring of the electrical signal generated after the application of a droplet of water at 5°C to the stem (w) in *Populus tremula* × *alba*. The time of the stimulation is indicated by the black arrow (a). The poplar tree is placed in a faraday cage, fixed in two points of the stem with clamping rings (r). The electrodes are placed along the stem as follows: e1–e2 = 2 cm, e2–e3 = 3 cm, and e3–e4 = 5 cm (B)



event propagating over a distance of at least 1 cm but less than 3 cm with a velocity of around 0.5 cm s^{-1} and an amplitude of 30 mV.

4 | DISCUSSION

We studied the signal following three types of stimulations (bending, burning, and cold water), each triggering electrical signals with different characteristics. In response to a leaf burn, a depolarization typical of a SW was generated in the poplar trees (Figure 3). The characteristics of this SW are identical to those described in the literature for herbaceous species: a fast depolarization that tends to decrease with distance followed by a slow and irregular return to the initial potential and a propagation velocity of the order of 0.01 cm s^{-1} (Julien et al., 1991; Roblin & Bonnemain, 1985; Van Sambeek & Pickard, 1976b). On the one hand, the recording of the SW in response to wounding validated our experimental setup used for measuring the propagation of electrical signals in poplar. On the other hand, the comparison of the two electrical responses clearly suggests that the one caused by the bending of the stem is not a SW.

The shape of the electrical response induced by stem bending, a rapid depolarization followed by a repolarization at the initial potential, shows similarities with AP as described by Pickard, 1973. The maximum amplitude reached near the bent zone was around 34 mV; a low value compared to AP measured in various plant species. The position of the six electrodes along the stem allowed following the electrical signal over a distance of 20 cm. These measurements enlightened a significant attenuation of the amplitude and velocity with the increasing distance from the stimulation point (Figure 2B,D and Table 1B). On the contrary, the literature reports that the plant AP propagates at a constant rate and without decrement (Sukhov et al., 2019). Although very few studies have focused on studying it over a distance greater than 10 cm, this was observed by Zawadzki et al. (1991), where an AP electrically generated on a stem of *Helianthus annuus* propagates over at least 15 cm of stem at a constant rate and without decrement, later confirmed by Stankovic et al. (1998). This decrement is the first major difference that distinguishes our signal from a classical plant AP.

Despite its AP-like shape, the electrical response recorded following stem bending does not match with the definition of AP: it differs by the slow decreasing of the amplitude during the propagation of the signal. Moreover, it differs from the cold-induced putative AP described in *Populus trichocarpa* by a speed 30 times higher (Lautner et al., 2005). Furthermore, the amplitude of the AP observed by Lautner et al. (2005) did not seem to show a decrement, although it is not specified if the distance between the two electrodes was higher or less than 10 cm. To take into account this typical characteristic of bending-induced electrical response, we propose to descriptively call this electrical signal a “gradual” potential.

We propose two hypotheses to explain the decrement of the “gradual” potential. The first hypothesis assumes an electrotonic propagation of the “attenuated” potential. In this case, the decrement can be explained by the poor performance of the excitable and connected cells (especially the phloem) as a propagation medium for an electrical signal. Indeed, the electrical resistance caused by the shrinkage of the membrane at the plasmodesmata and the capacitance of the non-myelinated membrane (companion cells) cause the dissipation of the electrical signal (Hedrich et al., 2016). The possible re-amplification of the signal along the phloem by voltage-dependent channels would then not be sufficient to compensate for this dissipation. Indeed, no equivalent to Ranvier’s nodes has been identified in plants to date (Hedrich et al., 2016). The transmission of the excited state to neighboring cells would tend to decrease, which could account for the drop in propagation speed. The second hypothesis suggests that the “gradual” potential observed following a transient bending of the stem could result from the opening of mechanosensitive channels following the passage of a hydraulic pressure wave in the vascular tissues, itself induced by the bending (Lopez et al., 2014; Louf et al., 2017). This hydraulic pulse is itself attenuated over the distance because of lateral leaks and the mechanical flexibility of the pipes, which absorb some of the initial energy.

Transient bending of poplar stems generates a rapid depolarization wave that propagates rapidly up to 20 cm from the stimulation zone with decrement. The characteristics of this depolarization wave do not fit with the definitions of either a SW or of the well-known AP. Also, we propose to call this signal “gradual” potential. Its

propagation mechanism remains unknown. That is why current research is now focusing on the hypothesis of hydroelectric coupling.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Brigitte Girard, Romain Souchal, Stephane Ploquin, Amélie Coston, and Juliette Tinturier for their technical support. And thank Rémi Cadet, Jean-Marie Frachisse, Yoël Forterre, and Bertrand Coste for the fruitful discussions. This work was funded by the I-SITE CAP 20-25 (ANR grant 16-IDEX-0001) Emergence 2019 from the University of Clermont-Auvergne, France.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Jean-Louis Julien conceived the original screening and research plans. Éric Badel and Erwan Tinturier designed the experiments. Experimental work was carried out and interpreted by Erwan Tinturier. The first draft of the article was written by Erwan Tinturier. All authors contributed to the writing of the article.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Erwan Tinturier  <https://orcid.org/0000-0001-5557-1239>

REFERENCES

- Alonso-Serra, J., Shi, X., Peaucelle, A., Rastas, P., Bourdon, M., Immanen, J. et al. (2020) ELIMÁKI locus is required for vertical proprioceptive response in birch trees. *Current Biology*, 30, 589–599.e5.
- Choi, W.-G., Hilleary, R., Swanson, S.J., Kim, S.-H. & Gilroy, S. (2016) Rapid, long-distance electrical and calcium signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 67, 287–307.
- Coutand, C., Julien, J.L., Moulia, B., Mauget, J.C. & Guitard, D. (2000) Bio-mechanical study of the effect of a controlled bending on tomato stem elongation: global mechanical analysis. *Journal of Experimental Botany*, 51, 1813–1824.
- Coutand, C., Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Decourteix, M., Julien, J.L. & Moulia, B. (2009) Strain mechanosensing quantitatively controls diameter growth and PtaZFP2 gene expression in poplar. *Plant Physiology*, 151, 223–232.
- Farmer, E.E., Gasperini, D. & Acosta, I.F. (2014) The squeeze cell hypothesis for the activation of jasmonate synthesis in response to wounding. *The New Phytologist*, 204, 282–288.
- Fromm, J. & Lautner, S. (2007) Electrical signals and their physiological significance in plants. *Plant, Cell & Environment*, 30, 249–257.
- Fromm, J. & Spanswick, R. (1993) Characteristics of action potentials in willow (*Salix viminalis* L.). *Journal of Experimental Botany*, 44, 1119–1125.
- Hedrich, R., Salvador-Recatalà, V. & Dreyer, I. (2016) Electrical wiring and long-distance plant communication. *Trends in Plant Science*, 21, 376–387.
- Jaffe, M.J. (1973) Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation. *Planta*, 114, 143–157.
- Julien, J.L., Desbiez, M.O., De Jaegher, G. & Frachisse, J.M. (1991) Characteristics of the wave of depolarization induced by wounding in *Bidens pilosa* L. *Journal of Experimental Botany*, 42, 131–137.
- Lautner, S., Grams, T.E.E., Matyssek, R. & Fromm, J. (2005) Characteristics of electrical signals in poplar and responses in photosynthesis. *Plant Physiology*, 138, 2200–2209.
- Leple, J.C., Brasileiro, A.C.M., Michel, M.F., Delmotte, F. & Jouanin, L. (1992) Transgenic poplars: expression of chimeric genes using four different constructs. *Plant Cell Reports*, 11, 137–141.
- Lopez, R., Badel, E., Peraudeau, S., Leblanc-Fournier, N., Beaujard, F., Julien, J.L. et al. (2014) Tree shoot bending generates hydraulic pressure pulses: a new long-distance signal? *Journal of Experimental Botany*, 65, 1997–2008.
- Louf, J.-F., Guéna, G., Badel, E. & Forterre, Y. (2017) Universal poroelastic mechanism for hydraulic signals in biomimetic and natural branches. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114, 11034–11039.
- Malone, M. (1993) Hydraulic signals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 341, 33–39.
- Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Azri, W., Lenne, C., Henry, C., Coutand, C., & Julien, J.-L. (2009) Characterization and expression analysis under bending and other abiotic factors of PtaZFP2, a poplar gene encoding a Cys2/His2 zinc finger protein. *Tree Physiology*, 29(1), 125–136.
- Moulia, B., Coutand, C. & Julien, J.L. (2015) Mechanosensitive control of plant growth: bearing the load, sensing, transducing, and responding. *Frontiers in Plant Science*, 6, 52.
- Mousavi, S.A.R., Chauvin, A., Pascaud, F., Kellenberger, S. & Farmer, E.E. (2013) GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE genes mediate leaf-to-leaf wound signalling. *Nature*, 500, 422–426.
- Niez, B., Dlouha, J., Moulia, B. & Badel, E. (2019) Water-stressed or not, the mechanical acclimation is a priority requirement for trees. *Tree*, 33, 279–291.
- Paszewski, A. & Zawadzki, T. (1976) Action potentials in *Lupinus angustifolius* L. shoots. *Journal of Experimental Botany*, 27, 369–374.
- Pickard, B.G. (1973) Action potentials in higher plants. *The Botanical Review*, 39, 172–201.
- Roblin, G. & Bonnemain, J.-L. (1985) Propagation in *Vicia faba* stem of a potential variation induced by wounding. *Plant & Cell Physiology*, 26, 1273–1283.
- Sibaoka, T. (1969) Physiology of rapid movements in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 20(1), 165–184.
- Stankovic, B., Witters, D.L., Zawadzki, T. & Davies, E. (1998) Action potentials and variation potentials in sunflower: an analysis of their relationships and distinguishing characteristics. *Physiologia Plantarum*, 103, 51–58.
- Stahlberg, R., Cleland, R.E., & Van Volkenburgh, E. (2005) Decrement and amplification of slow wave potentials during their propagation in *Helianthus annuus* L. shoots. *Planta*, 220(4), 550–558.
- Sukhov, V., Sukhova, E. & Vodenev, V. (2019) Long-distance electrical signals as a link between the local action of stressors and the systemic physiological responses in higher plants. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 146, 63–84.
- Tixier, A., Badel, E., Franchel, J., Lakhali, W., Leblanc-Fournier, N., Moulia, B., & Julien, J.-L. (2014) Growth and molecular responses to long-distance stimuli in poplars: bending vs flame wounding. *Physiologia Plantarum*, 150(2), 225–237.
- Telewski, F.W. (2006) A unified hypothesis of mechanoperception in plants. *American Journal of Botany*, 93, 1466–1476.
- Van Bel, A.J.E., Furch, A.C.U., Will, T., Buxa, S.V., Musetti, R. & Hafke, J.B. (2014) Spread the news: systemic dissemination and local impact of Ca²⁺ signals along the phloem pathway. *Journal of Experimental Botany*, 65, 1761–1787.
- Van Sambeek, J.W. & Pickard, B.G. (1976a) Mediation of rapid electrical, metabolic, transpirational, and photosynthetic changes by factors released from wounds. III. Measurements of CO₂ and H₂O flux. *Canadian Journal of Botany*, 54, 2662–2671.
- Van Sambeek, J.W. & Pickard, B.G. (1976b) Mediation of rapid electrical, metabolic, transpirational, and photosynthetic changes by factors released from wounds. I. Variation potentials and putative action potentials in intact plants. *Canadian Journal of Botany*, 54, 2642–2650.

- Wildon, D.C., Thain, J.F., Minchin, P.E.H., Gubb, I.R., Reilly, A.J., Skipper, Y.D., Doherty, H.M., O'Donnell, P.J., & Bowles, D.J. (1992) Electrical signalling and systemic proteinase inhibitor induction in the wounded plant. *Nature*, 360(6399), 62–65.
- Zawadzki, T., Davies, E., Dziubinska, H. & Trebacz, K. (1991) Characteristics of action potentials in *Helianthus annuus*. *Physiologia Plantarum*, 83, 601–604.

How to cite this article: Tinturier, E., Badel, É., Leblanc-Fournier, N., Julien, J.-L. (2021) Stem bending generates electrical response in poplar. *Physiologia Plantarum*, 1–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/ppl.13494>



Review

Between Stress and Response: Function and Localization of Mechanosensitive Ca^{2+} Channels in Herbaceous and Perennial Plants

Félix P. Hartmann * , Erwan Tinturier , Jean-Louis Julien and Nathalie Leblanc-Fournier *

Université Clermont Auvergne, INRAE, PIAF, 63000 Clermont-Ferrand, France; erwan.tinturier@uca.fr (E.T.); J-Louis.Julien@uca.fr (J.-L.J.)

* Correspondence: felix.hartmann@inrae.fr (F.P.H.); nathalie.leblanc@uca.fr (N.L.-F.)

Abstract: Over the past three decades, how plants sense and respond to mechanical stress has become a flourishing field of research. The pivotal role of mechanosensing in organogenesis and acclimation was demonstrated in various plants, and links are emerging between gene regulatory networks and physical forces exerted on tissues. However, how plant cells convert physical signals into chemical signals remains unclear. Numerous studies have focused on the role played by mechanosensitive (MS) calcium ion channels MCA, Piezo and OSCA. To complement these data, we combined data mining and visualization approaches to compare the tissue-specific expression of these genes, taking advantage of recent single-cell RNA-sequencing data obtained in the root apex and the stem of *Arabidopsis* and the *Populus* stem. These analyses raise questions about the relationships between the localization of MS channels and the localization of stress and responses. Such tissue-specific expression studies could help to elucidate the functions of MS channels. Finally, we stress the need for a better understanding of such mechanisms in trees, which are facing mechanical challenges of much higher magnitudes and over much longer time scales than herbaceous plants, and we mention practical applications of plant responsiveness to mechanical stress in agriculture and forestry.

Keywords: biomechanics; mechanobiology; mechanosensing; thigmomorphogenesis; calcium channels; mechanosensitive channels; MCA; Piezo; OSCA



Citation: Hartmann, F.P.; Tinturier, E.; Julien, J.-L.; Leblanc-Fournier N. Between Stress and Response: Function and Localization of Mechanosensitive Ca^{2+} Channels in Herbaceous and Perennial Plants. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 11043. <https://doi.org/10.3390/ijms222011043>

Academic Editor: Dorota Kwiatkowska

Received: 15 September 2021
Accepted: 7 October 2021
Published: 13 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Mechanical Stresses and Responses in Plants

1.1. Ubiquity of Mechanical Stress in Plants

During their development, plants are exposed to changing and fluctuating mechanical forces, both external and internal [1]. Above ground, transient mechanical loads are caused chiefly by wind [2], but also by rainfall, snow, animals and neighboring plants. Gravity acts permanently, but its magnitude increases with the plant mass and the seasonal bearing of fruits [3], and the lever arm of the weight fluctuates when the plant is swaying in the wind [4]. Under ground, the soil opposes a mechanical resistance to root penetration [5]. In addition, forces exerted above ground are transmitted to the soil, which in turn exerts reaction forces on the roots. Sessile algae and other aquatic plants are supported by buoyancy, which counteracts their weight, but they are dragged by currents [6] or tidal flows [7], and agitated by eddies.

Even in the absence of external forces, plants are mechanically stressed structures [8]. The primary source of intrinsic stress in plants is turgor pressure in cells, which is counterbalanced by stress in the cell wall [9,10]. Within a tissue, a strong stress heterogeneity is possible between neighboring cells [11], due to differences in cell size or shape [12–14], but also cell neighbor number [15].

Because cells are rigidly interconnected through their middle lamella, stress is transmitted from one cell to the other and builds up at the tissue scale [16]. This self-induced stress in the tissues is called “tissue stress” [17], “residual stress” [18], or “autostress” [19]

(biologist-friendly definitions of mechanical terms can be found in [20]). Adjacent tissue layers can be subjected to mutual tension due to tissue shape and/or anatomical differences. In the shoot apical meristem (SAM) of tomato, the outer cell wall of the epidermal layer is about seven times thicker than the other cell walls [21]. Being stiffer, the epidermal layer bears much of the load generated by the turgor of the inner tissue and concentrates the stress. This is why the SAM has been described mechanically as a shell under pressure [22,23]. Similarly, the sunflower hypocotyl, where the outer tissue is stiffer and under tension while the inner tissue is compressed, has been described as a cylindrical pressure vessel [24,25]. In these examples, the stress pattern can be predicted based on tissue shape (Figure 1A). In the epidermis of the elongating *Arabidopsis* hypocotyl, however, Verger et al. [16] found that the longitudinal stress is higher than the transverse stress, which contradicts the cylindrical pressure vessel model. In this example, the stress pattern is not just based on tissue shape, but predominantly on the anisotropic growth of the inner tissues, which pulls the epidermis in the longitudinal direction (Figure 1B).

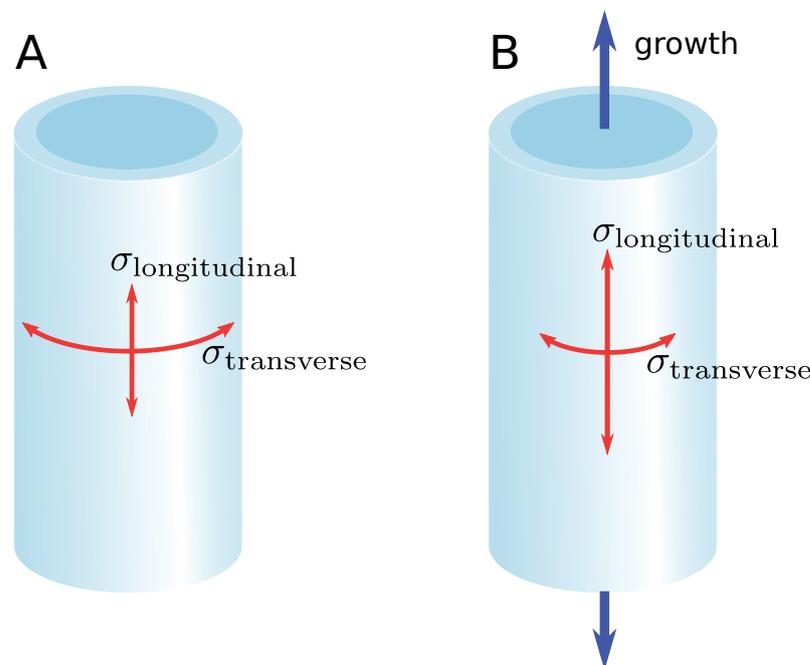


Figure 1. Shape-derived versus growth-derived stress pattern. (A) In the pressure vessel model, the stress pattern in the epidermis is determined by the shape of the organ. For a cylindrical organ, the transverse stress is higher than the longitudinal stress. (B) Differential growth between the inner tissue and the epidermis can override the stress pattern predicted by the pressure vessel model, leading to a longitudinal stress higher than the transverse stress.

In woody species, additional tissue stress is generated during the maturation of the secondary cell wall [26,27]. These maturation stresses, when they are asymmetric, act as adaptive “plant muscles” in the trunk and branches to control posture and cope with mechanical disturbances [28]. In several tree species, a similar mechanical role is played by the bark, although based on a different mechanism [29].

1.2. Morphogenesis and Responses to Internal Mechanical Stress

Turgor pressure is the motor of cell growth, but cell growth induces water influx, which in turn dilutes osmotica in the cell and thus reduces turgor. Therefore, sustaining the osmohydraulic motor requires a constant adjustment of osmoticum concentration. This adjustment is thought to involve some sensing of the mechanical state of the cell wall (its thickness, strain, or stress) and a feedback mechanism on osmoticum influx and efflux [30].

Apart from sustaining cell turgor, responses to mechanical stress are ubiquitous in plant morphogenesis. A mechanical instability can be the trigger of a reaction cascade lead-

ing to a final shape, for instance, the formation of lobes in epidermal pavement cells [31]. Cell pressurization generates hotspots of compressive stress in the anticlinal walls, which can cause sudden and localized bendings of the wall, a phenomenon termed “buckling”. The small displacement caused by the buckling is then amplified by a positive-feedback mechanism involving the cortical microtubules, until a lobe is formed [31]. The global effect of lobe formation in pavement cells is to keep mechanical stresses low [13]. Could buckling also initiate leaf primordia in the SAM? Many experimental and numerical results suggest instead that outgrowths at the meristem surface follow local maxima of the plant hormone auxin [32–35]. Auxin loosens the cell wall and facilitates organ emergence [36]. However, the polarity of the auxin transporters PIN is influenced by mechanical perturbations, creating a feedback loop between auxin distribution and mechanical stress [37,38]. The outgrowth of a primordium compresses the surrounding tissues. This does not usually cause buckling, but induces the expression of the homeobox gene *SHOOT MERISTEMLESS* (*STM*), which marks the boundary domain around primordia and ensures organ separation [39]. *STM* expression is quantitatively correlated to curvature in the boundary domain, which is itself a proxy for mechanical stress. The mechanotransduction pathway leading to *STM* expression has been proven to be auxin-independent [39].

The molecular actors through which mechanical stress activates *STM* are not known. In many instances, mechanics-driven morphogenesis involves a reorientation of microtubules in response to mechanical stress [22,40,41]. In the periphery of the SAM, microtubules are perpendicular to the direction of maximal strain, whereas they are parallel to the direction of maximal strain in the boundary between the primordium and the meristem [42]. This shows that while the response of microtubules to mechanical stress or strain is not completely clear, they are central actors in mechanosensing, including shape sensing [43]. Based on in vitro experiments [44] and in silico simulations [45], Hamant et al. [46] hypothesized that microtubules are sensors of tensile stress direction, or at least sensors of changes in the tensile stress direction. Microtubules guide the deposition of cellulose microfibrils on the cell wall [47], thereby locally increasing its resistance to tension and changing the pattern of stress distribution in a tissue globally. This is how a mechanical feedback loop could arise and help organs to reach their final shape in a robust way, as neatly exemplified in the sepal by Hervieux et al. [48,49].

1.3. Thigmomorphogenesis and Responses to External Stress

While internal mechanical stresses play a key role in driving organogenesis until a determinate target shape is reached, external stresses are inherently unpredictable and a source of dangerous perturbations. Plants face these challenges through an adaptive development relying on appropriate responses. This is especially true for perennial plants, which experience vast changes in size and mass through their life stages, and hence large variations in external mechanical stress. Adaptation occurs mainly in terms of growth, that is the addition of material, quantitatively and qualitatively. In trees subjected to transient bendings, the root biomass increases and the root architecture changes in a way that improves anchorage [50,51]. The same treatment, mimicking the effect of wind, induces a reduced height growth and an increased diameter growth in *Ulmus americana* [52] and *Prunus avium* [53], with an ovalization of the stem cross-section along the bending direction. In poplar, the inhibition of height growth is less significant, but an ovalization has also been observed [54]. This geometrical change improves the mechanical safety margin of treated trees [54]. Qualitatively, imposed bendings modulate wood differentiation. In *Abies fraseri*, the tracheids formed under bidirectional bending treatment have smaller lumens than in normal wood and higher microfibril angle [55]. Although bending-induced wood shares some similarities with compression wood, it has a distinctive anatomical structure and has been termed “flexure wood” by Telewski [55]. In poplar, transient unidirectional bendings cause a decrease in vessel frequency and an increase in the thickness of the secondary cell wall of fibers [56]. Unlike bidirectional bendings, unidirectional bendings allow the observation of differential effects between the stretched and compressed sides of the bent

stem. For instance, vessel size is decreased in the stretched side only [56]. Thus, while radial growth depends on the absolute magnitude of strains, wood-forming tissues have the ability to distinguish between positive and negative strains. Overall, wood produced under mechanical stress is more resistant to damage and enhances the bending strength of the stem [57].

These various manifestations of growth acclimation to mechanical perturbations are collectively termed “thigmomorphogenesis” [58]. Thigmomorphogenesis tends toward better self-support and increased resistance of trees to wind [59]. Despite its high cost in terms of biomass allocation, it is a priority requirement for trees, even under severe water stress [54]. Tree acclimation to wind loads has been demonstrated not only in controlled experiments but also in a forest context [60]. Although most striking in perennials, thigmomorphogenesis has also been reported in herbaceous plants, for instance *Arabidopsis* [61,62] and *Plantago major* [63], and aquatic plants [64].

1.4. Localized versus Distant Responses

Mechanical actions can be very localized and initiate equally localized responses. For example, the emergence of a lateral root can be a response to a local bending [65,66]. Lateral root emergence is also an example of mechanical stress exerted from inside. The lateral root can emerge only if the epidermis yields to internal pressure. This is mediated by a complex signaling cascade, which modulates the mechanical properties of cell walls [67]. External stresses are exerted by the soil on the progressing root cap. When a poplar root encounters a physical obstacle, its growth rate sharply decreases, even before the force builds up at the contact point [68]. This early growth response is most likely induced by the mechanosensing of very small forces on the root cap. In laboratory conditions, when the root is growing in a nutrient solution and is free to move laterally, the force exerted on the obstacle increases progressively until the root buckles [68]. If the root is laterally supported, such as in a natural environment, it can reach an axial force much larger than the buckling threshold [68].

To investigate the ability of *Arabidopsis* roots to progress in a medium with varying strength, Roué et al. [69] designed an experimental setup consisting of two layers of growth medium containing Phytigel at different concentrations. The lower layer has a higher concentration and is consequently more resistant to penetration, mimicking a more compact soil layer. Upon contact with the interface between the two layers, the root either penetrates the lower layer or reorients its growth [69]. *Arabidopsis* genotypes exhibiting contrasted root cap morphologies have different penetration abilities. The *fez-2* loss-of-function mutant, with a pointed cap, penetrates less often the denser layer than the Col-0 wild type, which in turn has a lower penetration ability than the *smb-3* loss-of-function mutant, with a rectangular-shaped cap [69]. It is yet to be determined whether these unequal penetration abilities are caused solely by differences in root cap morphology, or results from possible mutation-induced alterations of the mechanical rigidity or mechanosensitivity of the root cap. Non-penetrating roots of all three genotypes undergo a rapid curving interpreted as passive buckling. In some cases, especially when the change in medium strength across the interface is highest, the buckling deviates the root apex in the horizontal direction and, later, a second curving reorients the apex to the vertical. This second curving is interpreted as an active movement resulting from the interaction between gravitropic and thigmotropic responses [69].

Responses can also occur far away from the stimuli. In manually bent tomato plants, although only the basal part of the stem directly experiences a mechanical stress, a growth response is also observed in distant primary meristems in the form of reduced height growth [70]. Since the estimated velocity of this long-distance signaling is incompatible with hormone transport [71], it is either hydraulic [72,73] or electrical [74] in nature. In *Arabidopsis*, long-distance signaling is also observed after mechanical wounding [75]. Tissues far from the wound rapidly synthesize jasmonates, which have been proven to enhance pest resistance and regulate growth [76]. Farmer et al. [77] hypothesized that the hydraulic

and electrical signals induced by a wound could be mechanically coupled. After wounding, a traveling pressure wave increases locally and abruptly turgor in xylem vessels, which in turn exert strong pressure on adjacent cells. According to the so-called “squeeze cell hypothesis”, mechanical stress in squeezed adjacent cells activates Ca^{2+} channels, causing ion fluxes, which propagate from cell to cell.

In poplars, local flame wounding on the stem alters stem elongation and stimulates, in stem apices, the expression of *JAZ5*, a gene encoding Jasmonate-ZIM domain protein [78]. On the other hand, moderate poplar stem bending does not trigger any remote response [78] although it induces a long-distance electrical signal [74]. A possible explanation could be that a moderate bending does not cause a wound, and therefore induces a weaker signal, which attenuates over a shorter distance [74]. This would also explain why tomato plants, which are short, display a remote growth response to bending [70], whereas in bent poplar the electrical signal cannot travel the longer distance between the wounding point and the stem apex.

As a conclusion, plants respond to mechanical stress in many different ways. However, responding to a stress is only possible if the stress is perceived. Mechanosensing and mechanotransduction have hence been the focus of numerous studies using the powerful tools of molecular biology. The next two sections of this review will be devoted to the description of some molecular actors of mechanosensing and how they can be related to the growth and development of roots and stems.

2. Mechanosensitive Channels across the Plant Kingdom

2.1. Diversity of Mechanosensing Mechanisms

As described in the previous section, cells from diverse tissues detect mechanical signals through potentially diverse mechanisms, triggering different biological responses. These different types of mechanical stresses (e.g., bending, dryness or hyperosmotic shock) cause stretching of the plasma membrane, displacement of the plasma membrane relative to the cell wall (e.g., cell-wall loosening during cell expansion, hypo-osmotic shock), changes in the orientation of cortical microtubules [22] and could also affect the nucleus through interactions between cellular compartments via the cytoskeleton [79]. The perception of a mechanical stress by a cell is a rapid process requiring a quick conversion of a mechanical signal into a biological signal. Major progress has been made in recent years in identifying the molecular players involved in mechanosensing. Two major types of candidates emerge from these studies: (i) receptor-like kinases from *Catharanthus roseus* RLK1-like subfamily (CrRLK1) identified in approaches aimed at studying the maintenance of cell wall integrity (see review by Bacete and Hamman [80] and references therein), and (ii) mechanosensitive (MS) ion channels (see review by Frachisse et al. [81] and references therein).

Among the CrRLK1 family, FERONIA is a player at the interface of many responses involving the perception of mechanical stresses. Thus, besides its well-known role in cell growth and hormone signaling [82], the *fer* loss-of-function mutant has impaired ion signaling, reduced expression of mechanoresponsive genes and altered root growth responses to mechanically challenging environments when exposed to local touch or bending stimulation [83]. Furthermore, FERONIA also appears to play a role in developmental responses involving the perception of mechanical stimuli such as root nutation [84], root gravitropism [85], roots encountering an impenetrable cover glass barrier [83]. This transmembrane protein has an extracellular domain containing two MALECTIN-like domains that may be involved in binding to cell wall components and an intracellular kinase domain that may trigger phosphorylation-dependent signaling pathways during mechanotransduction. Interestingly, a recent work shows the involvement of several phosphoproteins—MAP kinase kinase (MKK) and a novel protein named TREP1—in the process of the most-studied thigmomorphogenetic response in *Arabidopsis*, i.e., the emergence of the flowering stem [86].

The other important actors are the MS channels, which are inserted in the membrane and function as ion transporters across the membrane when under mechanical stress. They

are prime candidates for converting a mechanical signal into a chemical signal. Described in various reviews [81,87,88], several types of MS channels have been identified in plants, including the anion-permeable channel MSL and several types of calcium-permeable channels families such as MCA, Piezo and OSCA.

Another way to understand the early stages of mechanosensing is to follow the dynamics of intracellular calcium concentrations. Indeed, calcium cations are typically involved as quick secondary messengers in numerous plant responses [89]. A rapid increase in concentration of cytosolic Ca^{2+} ions occurs in response to mechanical stimuli such as touch, wind or osmotic variations in plants [90–93], triggering a specific local response, but also possibly causing distant responses by propagating electrical signals [94,95]. The diversity of calcium signatures depending on the nature of the mechanical stimuli is very well described in the study carried out by Monshausen et al. [67] on the *Arabidopsis* root. In this study, the authors showed that touch, bending or root growth against an impenetrable barrier trigger a rapid (<30 s) increase in intracellular calcium. However, the calcium signatures are different in duration and in the peak intensity, suggesting the potential involvement of different mechanosensing mechanisms or the importance of a sensitivity threshold. It is also important to note that, in the case of bending stimulus, the calcium increase is visible mainly in the tensile tissues of the root, suggesting potentially different sensing mechanisms between compressive and tensile strains. Moreover, the calcium response is biphasic, involving two peaks of different intensities. The channels involved in this calcium response have not been identified to date. However, FERONIA seems to be involved in this response since *fer* loss-of-function mutants subjected to such mechanical stimulation do not show the second calcium peak, characteristic of this biphasic response. However, the calcium-permeable channels responsible for the first calcium peak and the role of FERONIA in triggering the second calcium peak remain to be identified. Shih et al. [83] report that under their conditions, the loss-of-function mutant *mca1* and the quintuple mutant *msl4 msl5 msl6 msl9 msl10* are not impaired in this response.

Given the predominant position of the calcium-permeable channels in the literature on plant mechanotransduction, we will focus in the rest of this section on this mechanosensing mechanism. It should also be noted that the genes involved in the calcium signaling pathway such as calmodulins were among the first genes discovered to be regulated at the transcriptional level by mechanical stimuli [96].

2.2. Description and Functioning of Mechanosensitive Ca^{2+} Channels

2.2.1. The Mid1-Complementing Activity (MCA) Family

The MCA family was first described in *Arabidopsis thaliana* [97]. *AtMCA1* and *AtMCA2* are paralogs, with high sequence homology (the relationships between gene names and accession numbers are given in Table S1).

The MCA channel was thought to be organized as a homotetramer with a small transmembrane region forming the pore (with only one transmembrane domain per monomer) and a larger cytoplasmic region of motifs (an EF hand-like motif, a coiled-coil motif and a cysteine-rich region homologous to the PLAC8 or DUF614 motif near the carboxyl terminus) regulating the pore [98–100]. While the PLAC8 domain is observed in eukaryotic proteins, its combination with the transmembrane domain and the EF hand-like motif is specific to streptophytes, and absent in chlorophytes (Figure 2A). Therefore, in contrast to other MS channels (Figure 2), MCA appears to be specific to land plants [101]. This may relate to the specific selective pressure faced by land plants, which can not rely on water buoyancy to support themselves and hence developed posture control mechanisms to maintain an erect habit [4]. However, it is not known whether MCA genes are directly involved in posture control.

Even if a fine analysis of the electrophysiological properties of this MS channel is lacking, *MCA1*-expressing *Xenopus laevis* oocytes enhances ionic currents following mechanical stimuli such as hypo-osmotic shock or in response to negative pressure in the patch pipette [97,102]. In vivo, *AtMCA1* appears to be involved in Ca^{2+} uptake in *Arabidopsis*

thaliana roots [103]. It is also thought to be crucial in the process of root penetration in a hard agar medium [97]. Indeed, using a two-phase agar method, Nakagawa et al. [97] demonstrated that the primary roots of *mca1*-null plants fail to penetrate a harder agar medium from a softer one, whereas *mca2*-null seedlings are able to grow like wild-type (WT) plants depending on the hardness of agar medium [103].

Hypergravity has the effect of inhibiting the growth of the hypocotyl of *Arabidopsis thaliana*. This effect is reduced in an *mca*-null mutant compared to WT, and is enhanced in an MCA-overexpressing mutant [104]. These results also suggest the involvement of MCA in gravity perception.

2.2.2. The Piezo Family

First identified in vertebrates, the mechanically-activated Piezo family (Figure 2B) is conserved with homologs in prokaryotes, plants, and invertebrates [105].

In vertebrates, Piezo 1 and 2 are large structures of approximately 2500 amino-acids including many transmembrane regions. Cryo-electron microscopy (cryo-EM) studies have shown that Piezo1 possesses a tree-bladed, homotrimeric structure comprising a central ion-conducting pore module [106–109]. Each peripheral blade has 38 transmembrane regions, with the peripheral blade-like structures on the extracellular side and three beams on the intracellular side. With its distal blades and the central pore, the Piezo1 channel could have a lever-like mechanotransduction mechanism that could explain how it converts mechanical forces into a cation influx (see the illustrated model proposed in [110]).

In vertebrates, Piezo 1 and 2 are mechanotransducers able to convert a mechanical force into an increase in cytosolic Ca^{2+} , enhancing various Ca^{2+} -dependent downstream signaling pathways. Piezo1 can be activated by a large variety of mechanical stimulation such as poking, stretching or any local membrane tension, while Piezo2 seems to be strongly activated only by poking. In *Arabidopsis*, Mousavi et al. [111] studied the electrophysiological properties of the unique Piezo protein via a chimeric PZO1 construct including the C-terminal part of AtPiezo1 (containing the putative pore region) and the N-terminal part of the mouse mPiezo1 to allow the anchoring of the protein in the plasma membrane. They showed that this chimeric PZO1 protein is functional and acts as an MS channel when expressed in naive mammalian cells.

Piezo ion channels play key roles in mechanobiological processes in animals, for example, in vascular development or touch sensing [112]. In plants, their role is still largely unknown, with only four studies to date. In *Arabidopsis thaliana*, AtPiezo is a key element of the immune response to the cucumber mosaic virus and the turnip mosaic virus [113]. In addition, several recent works have made major advances on the potential role of AtPiezo in *Arabidopsis* root growth in responses to substrate impedance [111,114]. When *atpiezo* null-mutant plants were grown in vitro in vertical plates leading to root growth on the surface of the medium, no difference was observed from WT plants [114]. However, when the plants were grown in a horizontally placed plate with 0.8% agar, the root ability to penetrate the medium decreased by about 20% compared to WT. Similar results were obtained by Mousavi et al. [111], who showed that when seedling roots grew within the Murashige and Skoog medium, the length of the mutant roots were shorter compared to WT. Both studies suggest a direct role of AtPiezo in mechanosensing in roots. Interestingly, as detected for *Atmca1* [103], in these two studies, reporter gene expression of Piezo::GUS in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants showed that *AtPiezo* is mainly expressed in the root cap in a cross-section of the root tip.

However, in moss (*Physcomitrium patens*), PpPiezo1 and 2 are localized in the tonoplast and are thought to be involved in the regulation of vacuole shape in apical caulonemal cells [115]. These results raise the question of the role of the vacuole in mechanosensing. A study linking cellular elongation, vacuole expansion and the role of FERONIA has been carried out by Dünser et al. [116]. Using epidermal atrichoblast root cells and by combining different fluorescent dyes in cellular compartments, they showed that the cytosol shows relatively minor volume expansion during epidermal elongation compared to the relative

increase in vacuolar size. By using different approaches, they investigated the possibility that apoplast acidification/cell wall loosening is sensed and provides a feedback control for vacuolar morphogenesis. Again, *fer* loss-of-function mutant vacuoles were markedly less affected by extracellular constraints of the substrate suggesting a role of a FER-dependent signaling in regulating the intracellular expansion of the vacuole. It would be interesting to analyze if Piezo could be involved in these mechanisms.

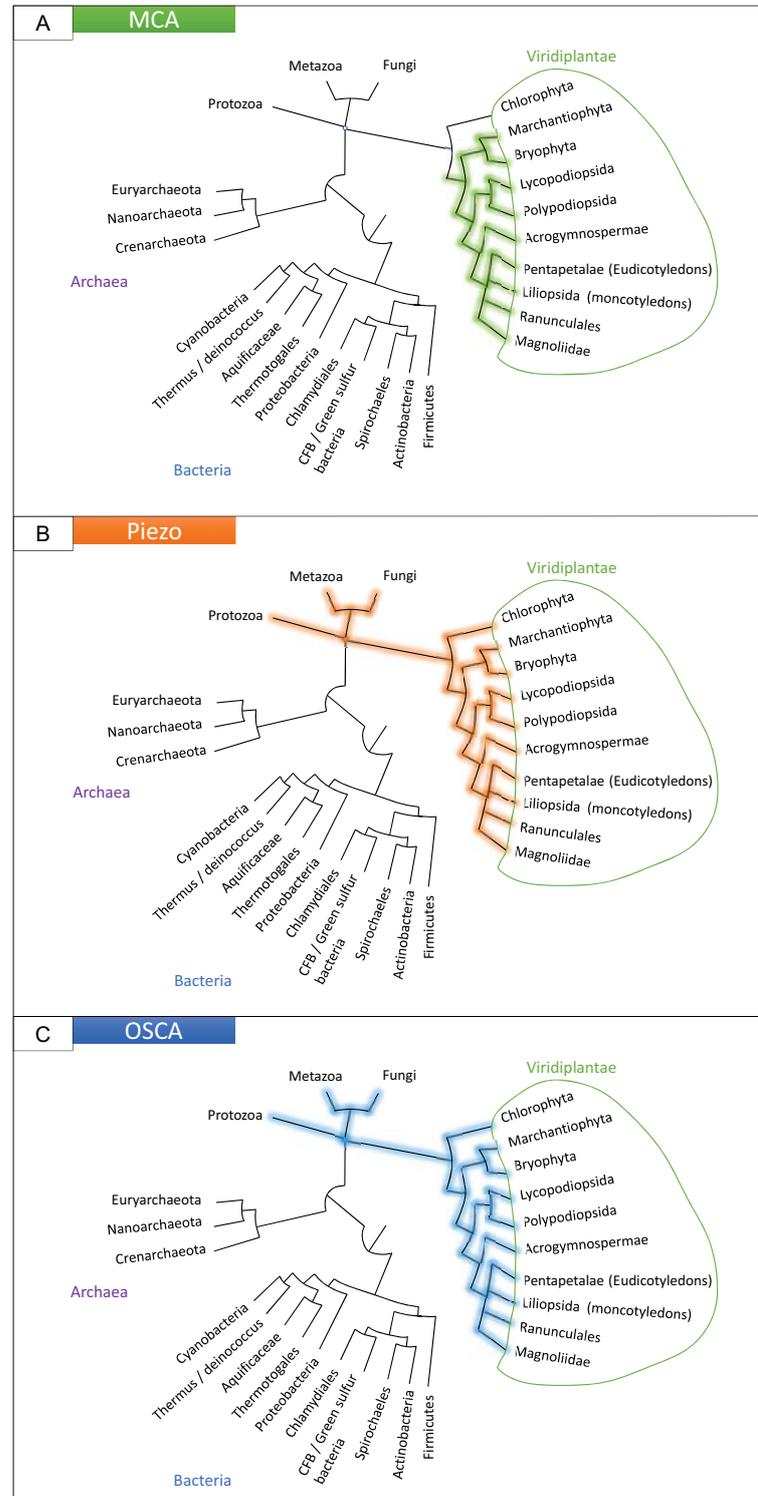


Figure 2. Presence of the MCA (A), Piezo (B) and OSCA (C) families in the tree of life. See Appendix A for details.

2.2.3. The OSCA Family, Hyperosmolarity-Gated Calcium-Permeable Channels

OSCA is the largest family of mechanically-activated ion channels identified and conserved across eukaryotes, including fungi, animals (homologous TMEM63 channels) and plants (Figure 2C) [117,118]. In *Arabidopsis thaliana* and *Populus trichocarpa*, OSCA is composed of 15 and 17 genes, respectively, separated in four clades (Figure 3). Murthy et al. [118] tested the mechanosensitivity of channels across clades by selecting one gene from each clade in *Arabidopsis thaliana*. Electrophysiological results suggest that the channels encoded by the three genes *AtOSCA1.8*, *AtOSCA2.3*, and *AtOSCA3.1* are mechanosensitive, a trait that would not be found for the *AtOSCA4.1* channel (Murthy et al., 2018). Clade 4 shares the least homology with clade 1 (Figure 3). *AtOSCA4.1* may have a distinct function.

Cryo-EM studies revealed a molecular structure formed by a homodimer with two pores [119–121]. Work on *AtOSCA1.1* and *AtOSCA1.2* suggests that the resulting pores are non-selectively permeable to cations [118]. Each subunit is composed of 11 transmembrane domains, as well as a soluble cytosolic domain with an RNA recognition motif. The cytosolic domain has a distinct structural feature in the form of extended intracellular helical arms parallel to the plasma membrane. These arms are well positioned to detect a change in the lateral tension of the inner lipid bilayer sheet caused by a change in turgor pressure [122]. Membrane topology appears to be conserved across eukaryotes [118].

The physiological functions of OSCA channels remain poorly understood. Until now, several studies have implicated the OSCA genes in osmotic responses. However, a hypo- or hyper-osmotic shock results in a stretching or a relaxation of the plasma membrane, and can be considered as a mechanical stimulation. *AtOSCA1.1* mediates osmotic signaling in guard cells and roots cells, and attenuates water transpiration and root growth in response to osmotic stress [123]. *AtOSCA1.3* controls plant stomatal immunity [124]. In maize, *ZmOSCA2.4* has been shown to be involved in drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* [125]. Recently, an RNA-seq study by Procko et al. [126] suggested an involvement of the MS channels MSL and OSCA in triggering the touch-sensitive hair of the Venus flytrap (*Dionaea muscipula*). It would be interesting to see whether OSCA channels have a role in other mechanical processes.

The diversity of calcium-permeable MS channels present in plants could explain what makes a mechanically-induced $[Ca^{2+}]_{cyt}$ signaling pattern specific (Ca^{2+} footprint), leading ultimately to a specific, graded physiological response. As very well explained in a recent review by Frachisse et al. [81], the detailed characterization of the electrophysiological properties of these different channels shows that they differ in their permeation and gating properties (activation threshold, conductance, inactivation). They can therefore trigger distinct signaling pathways and potentially be activated differentially, depending on the magnitude of the mechanical stress.

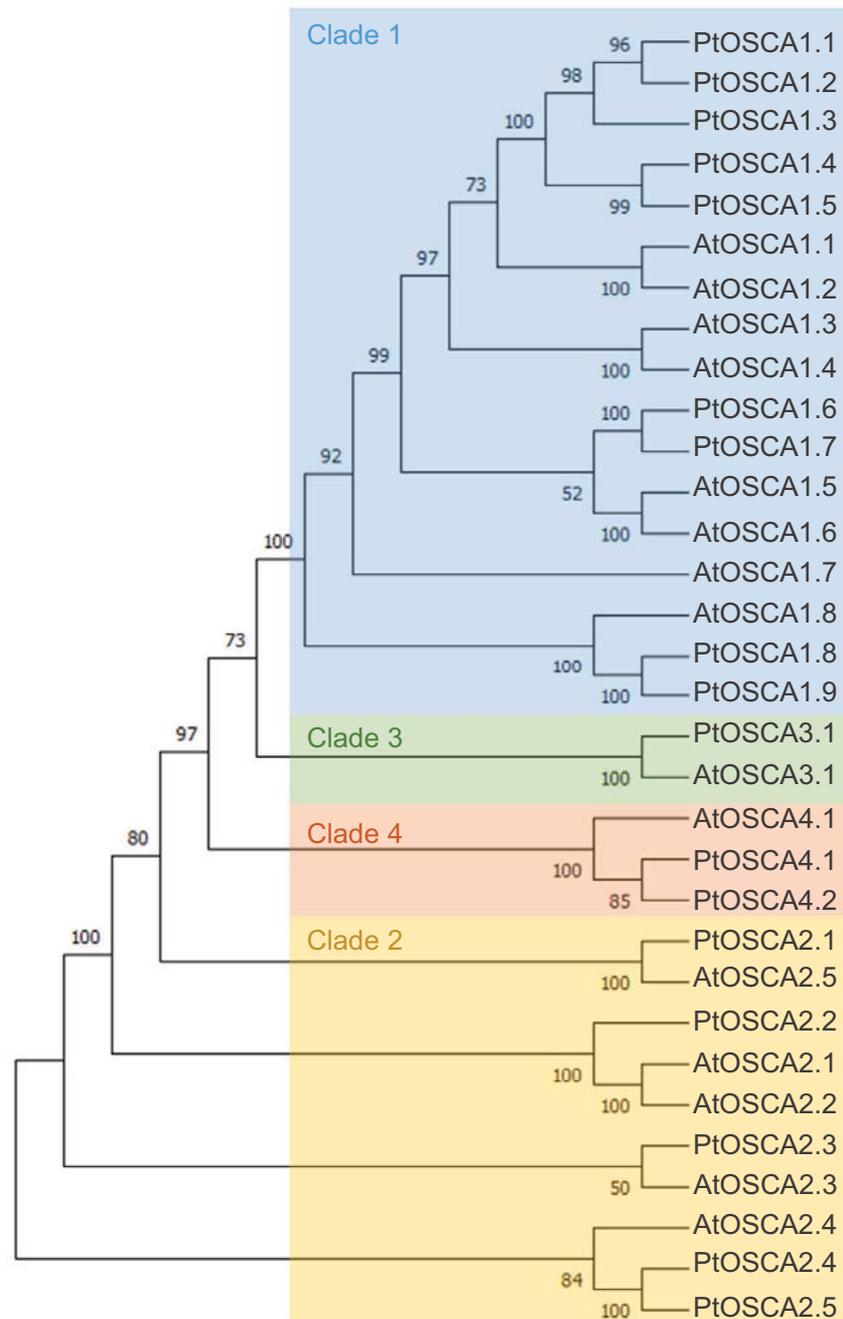


Figure 3. Maximum-likelihood phylogenetic tree of OSCA of *Arabidopsis thaliana* and *Populus trichocarpa*. The percentage of trees in which the associated taxa clustered together is shown next to the branches. Initial trees for the heuristic search were obtained automatically by applying Neighbor-Join and BioNJ algorithms to a matrix of pairwise distances estimated using the JTT model, and then selecting the topology with a superior log-likelihood value. The tree is drawn to scale, with branch lengths measured in number of substitutions per site. This analysis involved 22 amino acid sequences. All positions with less than 50% site coverage were eliminated, i.e., fewer than 50% alignment gaps, missing data, and ambiguous bases were allowed at any position (partial deletion option). There were a total of 770 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA X. The four clades are colored: blue (Clade 1), yellow (Clade 2), green (Clade 3), and orange (Clade 4).

3. Mechanosensitive Channels in Tissues and Organs

The functions of the different families of MS channels are far from being fully understood. Several questions remain to be answered regarding their role during either development or acclimation to external mechanical stress. Are there relationships between the localization of MS channels and the localization of stress and responses? Is the number of different types of these channels in a membrane responsible for a difference in the sensitivity of cells to membrane stretch? Within a multigene family, is there redundancy between proteins or are they specifically localized in tissues? Do these different channels interact in the same signalization pathways? In relation to these questions, the most-studied family of MS channels is the anion-preferring MSL family [88]. Within this MSL family, consisting of 10 members in *Arabidopsis*, some isoforms localize in membranes of different cell compartments (plasma membrane, tonoplast, mitochondrial membrane) and are expressed in a tissue-specific manner. Concerning calcium-permeable channels, MCA and OSCA channels are located in the plasma membrane [97,123], whereas Piezo1 is located in the tonoplast [115]. However, information is incomplete regarding the location of their expression.

Studying the regulation and the localization of the expression of these genes could help to design new hypotheses on their function. In this section, through data mining and visualization, we compare the tissue-specific expression of these three families of MS channels in plants, focusing on root and stem tissues. In *Arabidopsis*, recent studies using RNA-seq approaches carried out on single cells have revealed the expression of thousands of genes in different root tissues [127] or in tissues of the floral stem [128]. We also studied the expression profiles of members of these families in poplar using RNA-seq data obtained by Sundell et al. [129] from laser dissection of stems comprising developing phloem and secondary xylem.

3.1. Mechanosensitive Channel Expression in the Root Tip

As root cap cells are the first to encounter obstacles, this tissue is a potential mechanosensing site. Therefore, the molecular mechanisms underlying root-obstacle avoidance has been the subject of much research in recent years. To mimic the progression of the root in the face of mechanical stresses related to soil impedance, studies were conducted using several in vitro systems: artificial root barrier systems or experimental setups consisting of two layers of growth medium containing Phytigel at different concentrations to modify the physical strength of the medium [69]. The typical responses of roots encountering an obstacle are a reduction of root growth and a resulting “step-like” growth pattern, with only the root tip remaining in contact with the barrier surface. By RNA-seq approaches performed on whole roots of *Arabidopsis* seedlings collected either 6 or 30 h after barrier contact, combined with reporter line and mutant studies, Jacobsen et al. [130] showed significant changes in reactive oxygen species (ROS), ethylene and auxin signaling pathways, confirming several previous studies. In particular, they demonstrated that when ethylene signaling is perturbed in ethylene-insensitive mutants, the root growth is less inhibited than in WT after barrier contact. In the same way, auxin transport effects were observed through altered bending responses, which is consistent with other studies using PIN-mutants, pharmacological assays and image analysis [131].

Meanwhile, in the last fifteen years, several studies have evidenced the role of MS channels in root responses to mechanical impedance stress. However, tissue-specific mechanosensing and the role of the different MS channels are far from being well-understood. So far, no link between the activation of auxin, ROS and ethylene signaling pathways and the activation of MS channels have been demonstrated during the root response to substrate impedance. Furthermore, in vivo root growth dynamics and the root trajectory following the contact of the root apex have not been finely analyzed in *mca*-mutants or *piezo*-mutant of *Arabidopsis thaliana*. Using different root-cap development mutants, this type of approach has shown that the shape of the root cap and the growth rate of the root are parameters that strongly influence the mechanical resistance of the root to buckling or the magnitude of the

force applied by the root on the substrate [69]. If such anatomical or growth defects were found in these mutants, these parameters could influence the ability of *Arabidopsis* roots to progress in a medium with varying strength. In addition, the growth arrest observed following contact of the root with the substrate suggests a change in cell elongation, at a distance from the contact point, in the elongation zone. How is the signal transmitted? Are the innermost cells deformed and respond to this mechanical stress? Could the *OSCA* genes play a role in this response?

To study the location of the expression of these different genes in different cell types of the root, we compared their tissue-specific expression using novel visualizations of data obtained by Ryu et al. [127] with the single-cell RNA-seq method.

When using a common scale to compare the expression levels of all tested genes (Figure A1), it appears clearly that *AtOSCA2.4* and *AtOSCA3.1* reach the highest level of expression in the tissues composing the root. While *AtOSCA2.4* is most highly expressed in the outermost tissues (epidermis, cortex, lateral cap and columella), *AtOSCA3.1* expression is high in the phloem and cortex and at a lower level in the columella and epidermis. The genes *AtMCA2*, *AtOSCA1.4*, *AtOSCA1.5*, *AtOSCA1.6*, *AtOSCA1.7*, *AtOSCA2.5*, *AtOSCA4.1* and *AtPiezo* show a 10-fold lower expression level than the other genes. However, when the expression levels of these genes are plotted on a scale specific to each gene (Figure 4), very distinct expression profiles emerge. For example, *AtOSCA2.5* appears to be expressed in cap tissues, *AtOSCA1.5* in the pericycle, *AtOSCA1.7* in the phloem, *AtMCA2* in the endodermis and *AtOSCA1.4* in epidermal cells developing a root hair. Although low, the tissues with the highest amount of *AtPiezo* transcripts are the cortex, lateral cap, and xylem. These data are in agreement with the histochemical approaches using the GUS reporter gene highlighted by Mousavi et al. [111], although this transcriptomic approach, which allows a stronger differentiation of expression levels, shows that *AtPiezo* expression in the columella is relatively low. Similarly, the tissue-specific expression of *AtMCA1* in the columella and xylem was revealed by Yamanaka et al. [103]. Regarding the vascular tissues of the stem, apart from *AtOSCA2.1*, the genes of the *OSCA* family show a higher expression in the phloem in contrast to *AtMCA1* and *AtPiezo*. Concerning the *OSCA* gene family, it is interesting to observe that genes that are very close in sequence and probably originate from the same duplication event (see the phylogenetic tree Figure 3) can present very different expression profiles (e.g., *AtOSCA1.1* and *AtOSCA1.2*, or *AtOSCA2.1* and *AtOSCA2.2*). These results suggest that these proteins may be involved in different physiological functions. The expression of many *OSCA* genes in the lateral cap or columella (*AtOSCA1.1*, *AtOSCA1.3*, *AtOSCA2.3*, *AtOSCA2.5*) could encourage studies on their role in root penetration or in the perception of water stress at the root level. In the context of mechanosensing, it would also be interesting to study *AtOSCA2.4* and *AtOSCA1.4*, which show, respectively, strong and specific expression in rapidly-expanding epidermal cells. In contrast, the expression level of all these genes encoding MS channels is very low in the meristematic zone.

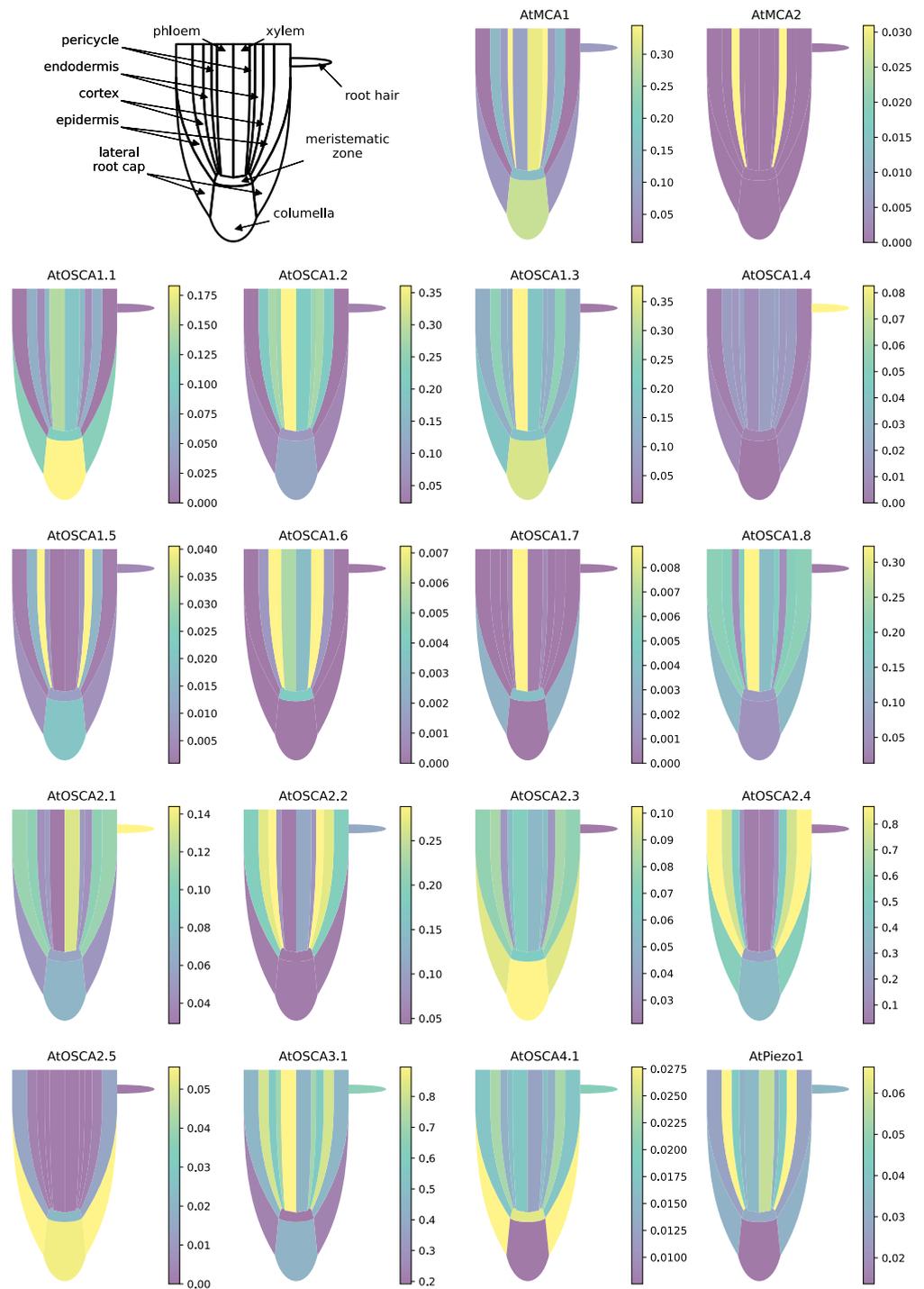


Figure 4. Expression patterns of MCA, Piezo and OSCA genes in different tissues of the *Arabidopsis* root. Data for each gene were retrieved from the BAR ePlantArabidopsis website (<https://bar.utoronto.ca/eplant>, accessed on 23 February 2021). To facilitate the graphical representation of expression levels in tissues, only expression values from sub-clusters containing differentiated (not differentiating) cells were used. In the stele, only the expression data from xylem- and phloem-cell types are shown. In the meristematic zone, we represented the expression mean of dividing cells and cells from the quiescent center. See Appendix B.1 for details and Table S1 for the relationships between gene names and accession numbers.

3.2. Mechanosensitive Channels Expression in the Stem

Like in the root, cells in the plant stem are sensitive to external mechanical stress during primary or secondary growth. Numerous studies showed that repeated bending of the stem triggers an increase in stem diameter growth and anatomical changes in internal stem tissues, affecting especially the development of secondary tissues [55,56,61]. However, studying the spatio-temporal responses in vivo in the tissues of a secondary-growing stem is complex and molecular studies seeking to reveal the mechanisms underlying this acclimation response to external mechanical stimuli are underdeveloped. In poplar, Pomiès et al. [132] showed that the stem transcriptome is massively remodeled in response to a single transient-bending stimulus. A total of 2663 genes, representing 6% of the genome, were found to be regulated after bending, with a large proportion (75%) of these genes being regulated within the first 2 h after bending. Short-term transcriptomic responses entailed a rapid stimulation of plant defense and abiotic stress signaling pathways, including ethylene and jasmonic acid signaling [132]. Late transcriptomic responses affected genes involved in cell wall organization and/or wood development. By studying more specifically, the stretched and compressed zones of the bent stem, Roignant et al. [56] demonstrated that some genes (e.g., *MYB69* transcription factor, microtubule-associated protein encoding gene *MAP70*) were regulated in the same way in both zones, while *FLA* genes, encoding fasciclin-like arabinogalactan proteins known to accumulate during tension wood formation, were specifically expressed in the stretched zone. These data suggest that cells sense differentially stretch and compression induced by stem bending. To date, the role of MS channels in this type of response has not been studied. However, the growth and anatomical differences that have been established show that this sensitivity to bending modifies the cambial activity within the stem. Are all living cells in the stem mechanosensitive or is the sensing localized and secondary signals are transmitted remotely to the cambium?

As in the case of the root, we took advantage of recent RNA-seq data on single cells or isolated tissues to compare the expression of the *MCA*, *Piezo* and *OSCA* genes. As shown in Figure 5, *AtOSCA4.1*, *AtOSCA2.5* and *AtMCA2* are very weakly expressed in the *Arabidopsis* stem. Within the *OSCA* family, no clade-specific expression pattern emerges from these data. Whatever the tissue analyzed, the expression of some *AtOSCA* genes is higher than *Piezo* or *AtMCA1*. In particular, *AtOSCA1.3* and *AtOSCA3.1* are highly expressed. While *AtPiezo* shows a homogeneous expression profile in the different stem tissues, *AtOSCA 3.1*, *1.3* and *2.2* have particular expression patterns with a very high level in the endodermis and the differentiating vessel elements. Interestingly, *AtMCA1* is expressed more strongly in the differentiating vessel elements than in the endodermis, a tissue involved in graviperception, while recent studies showed a role of this channel in hypergravity [104].

In order to investigate whether these tissue-specific expression patterns are found in other plant species, we also performed data mining and visualization on expression data obtained by RNA-seq after cryodissection of stem sections at the level of phloem and differentiating xylem tissues in *Populus tremula* [129]. As in *Arabidopsis*, *PtPiezo1* shows a homogeneous expression pattern in the different tissues (Figure 6). No data were found for the *PtPiezo2* and *PtOSCA2.1* genes, and the level of *PtOSCA1.4* and *1.5* expression is very low compared to the other genes. Among the genes encoding MS channels, *PtMCA1* is the most strongly expressed in the regions of expanding xylem and secondary wall development, whereas *PtMCA2* is very weakly expressed in these same regions. As in *Arabidopsis*, in the *OSCA* multigene family, the *PtOSCA3.1* isoform has the highest level of expression in the stem, but with a lower level in xylem cells during secondary wall differentiation. In clade 2, the genes are homogeneously expressed in all tissues except *PtaOSCA2.5*, for which the expression level is very low during the secondary wall differentiation phase. Finally, heterogeneous expression profiles are observed within clade 1 of the *OSCA* family: isoforms *1.1* and *1.2* show a peak of expression in the secondary wall formation zone while isoforms *1.3* and *1.7* in the phloem and isoforms *1.8* and *1.7* are more strongly expressed in the expanding xylem. Similarly, a peak of expression is detected for *PtOSCA1.9* in mature xylem cells. Note that no cambium-specific expression

profile is observed for any of these genes. This study reveals more disparate expression levels between genes in the xylem expansion zone in poplar. It is interesting to note that in *Arabidopsis*, some genes also have a very specific expression profile in the differentiating xylem vessels.

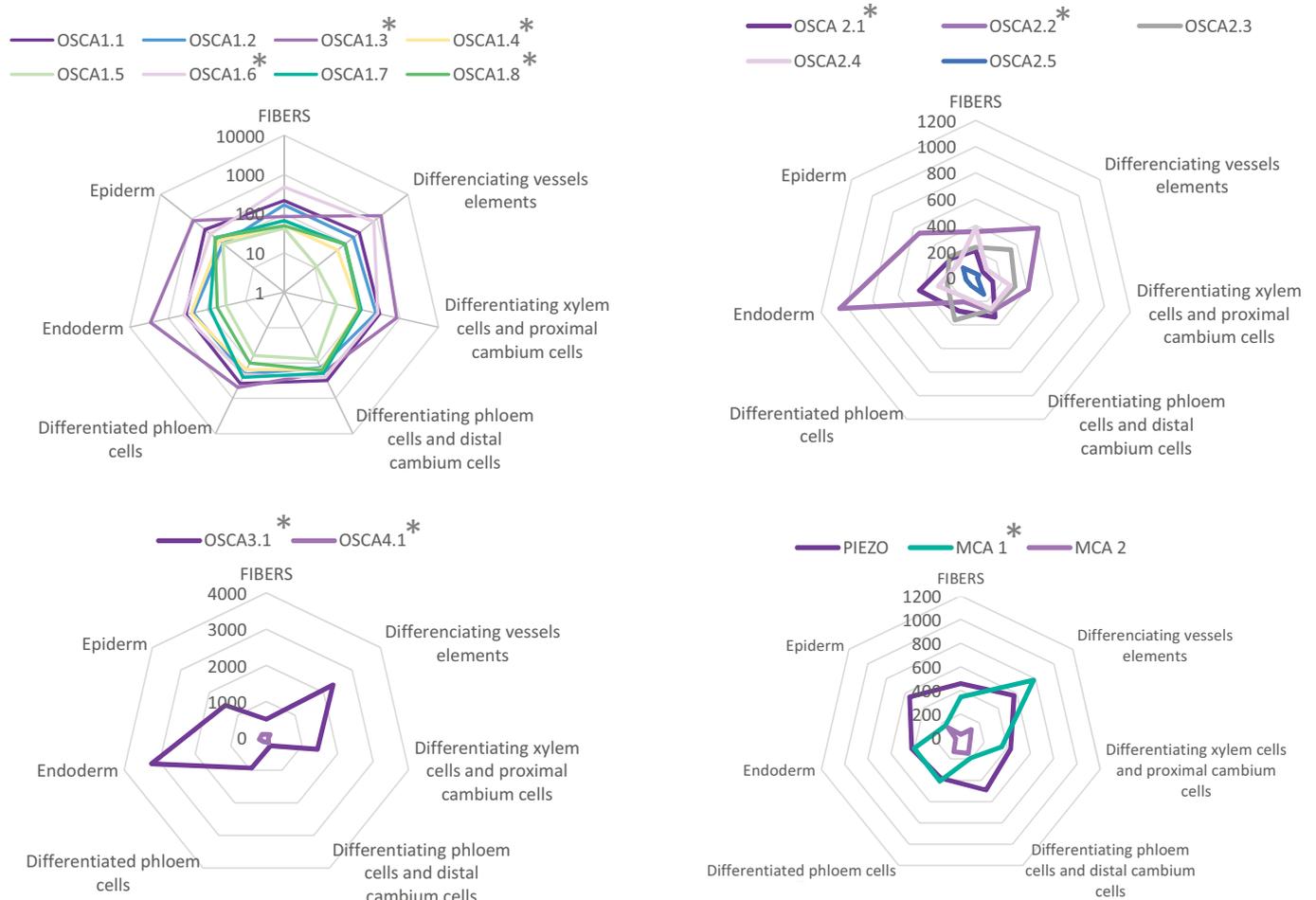


Figure 5. Expression patterns of *MCA*, *Piezo* and *OSCA* genes in different tissues of *Arabidopsis* mature inflorescence stem. Data were retrieved from the tissue-specific transcriptome study of the mature inflorescence stem of *Arabidopsis thaliana* [128] realized by analyzing mRNA from specifically labeled- nuclei covering a comprehensive set of distinct tissues (FANS/RNA-seq). Data are available at <https://arabidopsis-stem.cos.uni-heidelberg.de> (accessed on 20 June 2021). The values of expression levels (0 to 10,000) correspond to the mean of normalized read count values (by DESeq2). $n = 3$ for each population. * indicates a p -value < 0.01 in a Likelihood Ratio Test (LRT) results (by DESeq2) testing if genes have similar expression among the seven different tissues. See Appendix B.2 for details.

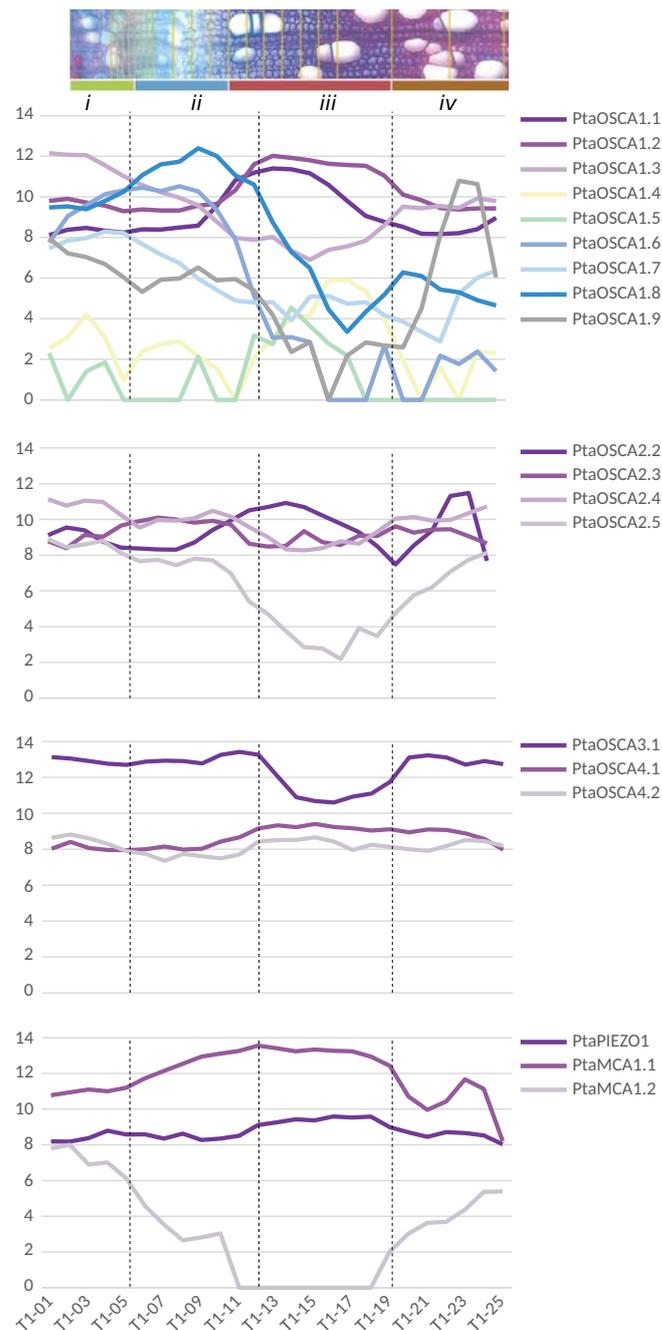


Figure 6. Expression patterns of *MCA*, *Piezo* and *OSCA* genes in the wood-forming tissues of a wild-growing aspen genotype (*Populus tremula*). Data were retrieved from Sundell et al. ([129]; Supplementary Dataset 2). Pooled longitudinal tangential cryosections were used to obtain a continuous sequence of samples extending from differentiated phloem to mature xylem, with values of expression levels ranging from 0 to 16 (see Appendix B.3 for details). To better illustrate the location of the different tangential cryosections pooled to produce an RNA-seq sample, we showed the transverse cross-section image from the sampled tree T1 from ([129], Figure 1). The pooled samples are visualized by overlaying them on the transverse cross-section and are grouped into four clusters (from *i* to *iv*). These clusters separate key reprogramming events represented by the dashed lines: (*i/ii*) occurs between phloem and xylem differentiation, in the middle of the dividing cambial cells; (*ii/iii*) marks the end of cell expansion and the onset of secondary cell wall formation; (*iii/iv*) marks the end of secondary cell wall deposition and the late maturation of xylem cells. The cambium zone is located in cryosections T1-04, T1-05 and T1-06.

4. Conclusions

4.1. Unraveling the Functions of Mechanosensitive Channels

Although major advances have been made in recent years demonstrating the essential role of mechanical stresses during a plant's life cycle, how cells perceive these signals and which signaling pathways trigger the physiological or developmental responses are questions that still require exciting research. While the dwarfing phenotype of *fer* loss-of-function mutants made it possible to establish the link between these proteins, cell growth and/or maintenance of cell wall integrity, no particular phenotype has been reported yet, for example, in the *piezo* loss-of-function mutants under normal growth conditions. More careful investigation, possibly under stressful conditions, could reveal the altered phenotype at either the macroscopic or molecular level. In this respect, the progress made in transcriptomic studies within a cell type opens new perspectives. Indeed, knowing in which tissue an MS channel gene is specifically expressed could allow a more specific targeting of the analysis of this tissue in KO-mutants to detect phenotypes. A further option could even be to modify the expression of the MS gene specifically in this tissue.

The creation of plants simultaneously mutated for several of these channels in the same tissue should also be tested to see if these proteins have redundant functions. This type of approach would be particularly interesting in the case of the multigenic *OSCA* family comprising a large number of genes. However, the immense number of possible combinations makes a systematic exploration of multiple mutants extremely laborious (for instance, there are 6188 possible quintuple KO-mutants with the 17 *OSCA* genes of *Populus trichocarpa*). Correlations in the tissue-specific expression of MS channel genes could be used as criteria to narrow down the candidates and focus on the most promising combinations.

Finally, the respective importance of these channels during mechanosensing would require the ability to correlate their activation with the magnitude of membrane tension. In this context, pioneer studies using fluorescent nano-probe reporters of membrane tension are very promising [133].

4.2. Transcriptional Regulation of Mechanosensitive Channel Genes Following a Mechanical Stress

In addition to the tissue-specific expressions shown here, the transcriptional regulation of the MS channel genes has been poorly studied. Some results suggest that mechanical stress stimulates the transcription of these genes. For example, Mousavi et al. [111] showed that *Arabidopsis thaliana* seedlings grown inside the Murashige and Skoog medium show a threefold higher expression of *AtPiezo* in the upper root and root cap than seedlings grown on the top of this medium. Zhang et al. [113] observed that the inoculation of a virus led to a significant increase in the expression of *AtPiezo* in petioles. In the carnivorous plant Venus flytrap, a transcriptomic study revealed that two *MSL* genes and an *OSCA* gene are upregulated in the touch-sensitive trigger hair following touch [126]. *Arabidopsis thaliana* seedlings under hypergravity conditions show upregulation of *AtMCA1* and *AtMCA2* in the hypocotyl compared to seedlings under the 1g condition [104]. Since those mechanics-related gene expression patterns can suggest a gene function in the mechanosensing pathways, it could be interesting to reproduce our data-mining approach on previous transcriptome data obtained after a mechanical stress such as those performed after a transient stem/shoot bending [132,134], after a load has been placed on a tree stem [135] or after touching rosette leaves [136]. The expression dynamics of MS channel genes would probably give precious insight into their role in the physiological response, in short and long term. This kind of approach, combining mining and visualization of large molecular datasets with mechanical analyses at the tissue level, is a good illustration of the flourishing field of quantitative plant biology [137].

If the transcriptional regulation of MS channel genes after mechanical stress is to be confirmed, what are the implications for the amount of these proteins in the membranes? Is the transcriptional regulation just a way to maintain a constant concentration of MS channels, or could it modulate the mechanosensitivity of stimulated tissues?

4.3. Practical Applications of Thigmomorphogenesis

The ability of plants to respond to mechanical stress is more than a theoretical curiosity. For centuries, Japanese farmers have taken advantage of this phenomenon in a practice called “mugifumi”, which consists in treading young wheat or barley plants to reduce the risk of lodging and increase yield [138]. This practical application of thigmomorphogenesis *avant la lettre* is bound to generalize and diversify as environmentally-friendly substitutes for current chemical treatments. For instance, mechanostimulating garden roses under greenhouse conditions increases branching and compactness [139], and could become an alternative to hormonal treatments in horticulture. In Poaceae, exposure to wind and imposed flexure have an impact on agronomic traits [140]. Furthermore, as several studies showed that various forms of mechanical stimuli enhanced plants’ basal defense responses (see [141] for a review), mechanostimulation could be a potential priming method for sustainable agriculture, alternative to chemical-based priming. Developing efficient applications requires new phenotyping techniques for measuring mechanical traits such as the resistance to lodging [142], but also a deeper understanding of the actors involved in the mechanosensing pathways.

The relevance of thigmomorphogenesis to tree growth in non-controlled conditions [60] also opens new avenues for forest management, especially given the current increase in frequency of extreme windstorms [143]. At the macroscopic level, the functional biomechanical traits quantifying the strength and safety of trees against wind and self-buckling are well-established [144]. Trees acclimate to their mechanical environment by constantly adjusting these traits thanks to mechanosensing. However, the molecular actors involved in this feedback loop are largely unknown. Indeed, while many molecular studies have focused on the outermost tissues of organs (root cap, epidermis of the shoot apical meristem), few studies targeted the xylem, phloem or endodermis of stems, even though some of the MS channels genes are highly expressed in these tissues. The difficulty of performing *in vivo* spatio-temporal analyses in secondary tissues partly explains this lack of data. A future solution could be experimental setups for growing cambium *in vitro*, mimicking the mechanical and hormonal environment of the cambium in trees. In any case, perennial plants are the systems in which investigating the localization and functions of MS channels is the most ecologically relevant.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms222011043/s1>.

Author Contributions: Conceptualization, F.P.H., E.T. and N.L.-F.; methodology, F.P.H., E.T. and N.L.-F.; software, F.P.H.; formal analysis, E.T. and N.L.-F.; investigation, F.P.H., E.T. and N.L.-F.; writing—original draft preparation, F.P.H., E.T. and N.L.-F.; writing—review and editing, J.-L.J.; visualization, F.P.H., E.T. and N.L.-F. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was funded by the I-SITE CAP 20-25 (ANR grant 16-IDEX-0001) Emergence 2019 from the University of Clermont-Auvergne, France. Erwan Tinturier benefits from a PhD grant funded by the French Ministry of Higher Education, Research and Innovation. Funding bodies were not implied in the design and analysis of the study.

Data Availability Statement: Expression patterns of *MCA*, *Piezo* and *OSCA* genes were retrieved from the BAR ePlantArabidopsis website (<https://bar.utoronto.ca/eplant> (accessed on 23 February 2021) for the *Arabidopsis* root, from <https://arabidopsis-stem.cos.uni-heidelberg.de> (accessed on 20 June 2021) for the *Arabidopsis* mature inflorescence stem, and from <http://aspwood.popgenie.org> (accessed on 20 June 2021) for wood-forming tissues in *Populus tremula*.

Acknowledgments: We thank Mélanie Decourteix, Jean-Stéphane Venisse and Marylou Mantova for advice on phylogenetic trees, and Valérie Legué for comments on the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Appendix A. Phylogeny

Coding sequences for *Piezo*, *MCA* and *OSCA* families were isolated using TBLASTX searches (Phytozome v12.1), in which *Arabidopsis thaliana* family members were used as query sequences against the coding sequences of *Populus trichocarpa* V3.0. Sequence alignments were generated using MAFFT version 7 with auto-option [145]. Maximum-likelihood trees were reconstructed from translated protein sequences using MEGA with an LG substitution model. Bootstrapping with 1000 replicates was performed to evaluate the credibility of tree topology. *MCA* and *OSCA* unrooted trees were obtained. The *Piezo* unrooted tree was obtained without bootstrap because it contained only three sequences.

The three illustrations of the tree of life in Figure 2 were based on the taxonomy of the National Center for Biotechnology Information, with simplifications for the sake of clarity.

Appendix B. Tissue-Specific Expression Data

Appendix B.1. Data from Single-Cell RNA-seq of Tissue/Cell-Types from *Arabidopsis* Roots

Biological data were retrieved from a single-cell RNA-sequencing (scRNA-seq) experiment performed by Ryu et al. [127] from protoplasts of more than 10,000 *Arabidopsis* root cells issued of 5-day-old seedlings primary root tips. ScRNA-seq was performed using commercially available droplet-based microfluidics. The authors obtained a total of 7522 single-cell transcriptomes from three biological replicates of protoplasts from wild-type (Columbia ecotype) *Arabidopsis* root tips. Approximately 75,000 reads were obtained per cell, which generated a median of 24,000 unique molecular identifiers per cell, 5000 expressed genes per cell, and more than 22,000 total genes detected in the population. An unsupervised clustering was performed on, using Seurat, which yielded nine major clusters of cell transcriptomes. To enable tissue/cell type assignment to particular clusters, the authors used the analysis of differentially expressed genes, gene ontology and the analysis of transcript accumulation of 86 marker genes known to be preferentially expressed in particular root tissue/cell types. Each dataset was log-normalized, scaled, and corrected for dataset-specific batch effects using ComBat (sva v3.26.00; [146]). In their article, the authors represent their data usually by plotting the single-cell transcriptomes via t-distributed stochastic neighbor embedding (tSNE) projection. This yielded largely overlapping distributions of cells from each of the biological replicates, indicating a high degree of reproducibility.

For the construction of our Figure 4 and Appendix B.1, the data for each gene were retrieved from the BAR ePlantArabidopsis website available at <https://bar.utoronto.ca/eplant> (accessed on 23 February 2021). For example, to retrieve data for *AtOSCA1.1*, we entered its accession number AT4G04340 in the search bar (see Table S1 for the relationships between gene names and accession numbers), then clicked on *Tissue and Experiment eFP viewers*, then on *Single Cell eFP (RNA-Seq data)*. The resulting view can be accessed directly from the URL <https://bar.utoronto.ca/eplant/?ActiveSpecies=Arabidopsis%20thaliana&Genes=AT4G04340&ActiveGene=AT4G04340&ActiveView=SingleCellView> (accessed on 23 February 2021). The raw data were then downloaded as JSON files.

For the different tissue/cell types, to facilitate the graphical representation of expression levels in tissues, only expression values from sub-clusters containing differentiated (not differentiating) cells were used. In the stele, only the expression data from xylem- and phloem-cell types are shown. In the meristematic zone, we represented the expression mean of dividing cells and cells from the quiescent center.

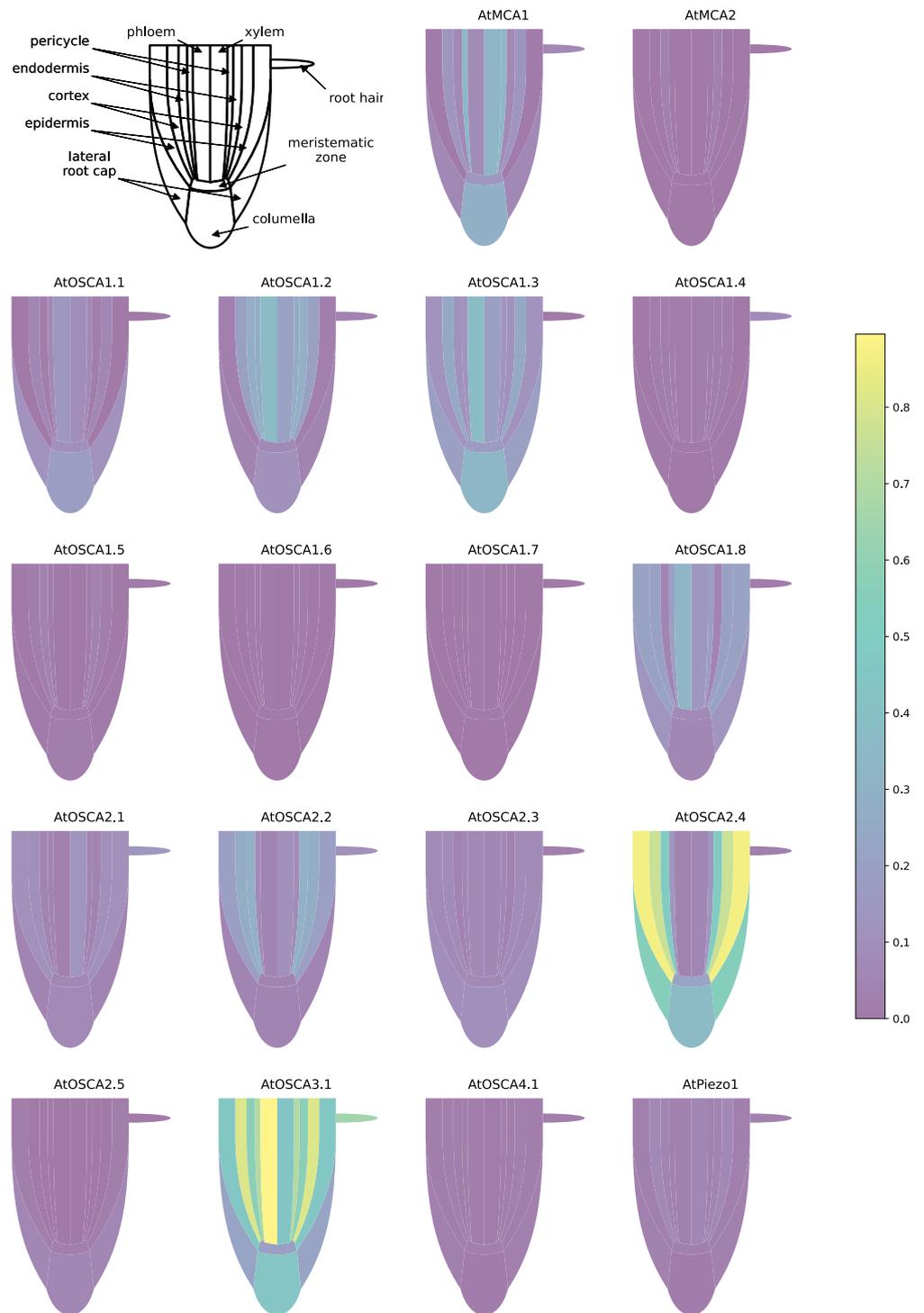


Figure A1. Expression patterns of *MCA*, *Piezo* and *OSCA* genes in different tissues of the *Arabidopsis* root using a common scale. Unlike Figure 4, which shows an individual scale for each gene, this figure allows comparisons between expression levels of different genes.

Appendix B.2. RNA-seq Experiments from Nuclei of Different Cell-Types in Mature Inflorescence Stem of *Arabidopsis thaliana*

To distinguish between the different cell types in mature inflorescence stems of *Arabidopsis*, Shi et al. [128] produced transgenic *Arabidopsis* plants transformed with construction containing tissue-specific promoters controlling the expression of the GFP fluorescent reporter. The different promoter chosen by the authors were: the *NAC SECONDARY*

WALL THICKENING PROMOTING3 (NST3) promoter to label fibers; the *VASCULAR-RELATED NAC DOMAIN PROTEIN7 (VND7)* promoter for differentiating vessel elements; the *PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM (PXY)/TDIF RECEPTOR (TDR)* promoter for differentiating xylem cells and proximal cambium cells; the *SMAX1-LIKE5 (SMXL5)* promoter for differentiating phloem cells and distal cambium cells; the *ALTERED PHLOEM DEVELOPMENT (APL)* promoter for differentiated phloem cells; the *SCARECROW (SCR)* promoter for starch sheath cells; and the *LIPID TRANSFER PROTEIN1 (LTP1)* promoter for epidermis cells. The nuclei were isolated from the second internodes of *Arabidopsis* inflorescence stems. By combining fluorescence-activated nucleus sorting and laser-capture microdissection with next-generation RNA sequencing, the authors characterized and classified more than 15,000 genes as being differentially expressed in xylem vessels, fibers, the proximal and distal cambium, phloem, phloem cap, pith, starch sheath, and epidermis cells.

To prepare the spider-graphs in Figure 5, tissue-specific gene expression values were retrieved from <https://arabidopsis-stem.cos.uni-heidelberg.de> (accessed on 20 June 2021) by successively entering the accession numbers of MS genes into the search bar. We computed the average expression levels of the three biological replicates.

Appendix B.3. RNA-seq Experiments from Cryosections Spanning the Secondary Phloem, Vascular Cambium, and Wood-Forming Tissues of Populus tremula

Biological data were retrieved from the RNA-seq experiment performed by Sundell et al. ([129], Supplementary Dataset 2) and also available on the interactive web resource <http://aspwood.popgenie.org> (accessed on 20 June 2021). In this study, the authors collected and cut longitudinal tangential cryosections (15 µm thick) using a cryo-microtome in the stem zone covering the entire current-year radial growth zone of poplar trees. The total number of sections varied from 105 to 135 in the four different 45-year old aspen trees sampled during the middle of the growing season. For RNA-seq experiments, these sections were pooled into 25 to 28 samples for each replicate tree, thanks to images taken with a light microscope during the process of sectioning. The pooling was based on the estimated tissue composition from anatomical inspection. Details of the composition of the 25 samples are given in ([129], Supplementary Dataset 1). After RNA-seq, the values of expression levels were estimated after normalization of the read counts using a variance-stabilizing transformation as implemented in DESeq [129].

To prepare the Figure 6, we retrieved data directly from the Supplementary Dataset 2 of [129], which is a Microsoft Excel file. To simplify the illustration of expression profiles (the number of sections composing the 4 clusters can be separated from several sections between the 4 tree replicates), we showed only the results obtained on the sampled tree T1 since similar expression profiles are obtained when the three other samples trees are analyzed. By a hierarchical clustering from mRNA expression values for all expressed genes, Sundell et al. [129] identified four sample clusters of expression. The authors describe that these gene expression clusters were found to separate key reprogramming events: (i/ii) occurs between phloem and xylem differentiation, in the middle of the dividing cambial cells; (ii/iii) marks the end of cell expansion and the onset of secondary cell wall formation; (iii/iv) marks the end of secondary cell wall deposition and the late maturation of xylem cells.

References

1. Moulia, B.; Coutand, C.; Julien, J.L. Mechanosensitive control of plant growth: Bearing the load, sensing, transducing and responding. *Front. Plant Sci.* **2015**, *6*, 52. [CrossRef]
2. Gardiner, B.; Berry, P.; Moulia, B. Review: Wind impacts on plant growth, mechanics and damage. *Plant Sci.* **2016**, *245*, 94–118. [CrossRef]
3. Alméras, T.; Gril, J.; Costes, E. Bending of apricot-tree branches under the weight of axillary productions: confrontation of a mechanical model to experimental data. *Trees* **2002**, *16*, 5–15. [CrossRef]
4. Moulia, B.; Bastien, R.; Chauvet-Thiry, H.; Leblanc-Fournier, N. Posture control in land plants: growth, position sensing, proprioception, balance, and elasticity. *J. Exp. Bot.* **2019**, *70*, 3467–3494. [CrossRef] [PubMed]

5. Kolb, E.; Legué, V.; Bogeat-Triboulot, M.B. Physical root-soil interactions. *Phys. Biol.* **2017**, *14*, 065004. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Puijalón, S.; Bouma, T.J.; Douady, C.J.; van Groenendael, J.; Anten, N.P.R.; Martel, E.; Bornette, G. Plant resistance to mechanical stress: evidence of an avoidance–tolerance trade-off. *New Phytol.* **2011**, *191*, 1141–1149. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Denny, M.; Gaylord, B. The mechanics of wave-swept algae. *J. Exp. Biol.* **2002**, *205*, 1355–1362. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Green, P.B. Mechanism for plant cellular morphogenesis. *Science* **1962**, *138*, 1404–1405. [[CrossRef](#)]
9. Lockhart, J.A. An analysis of irreversible plant cell elongation. *J. Theor. Biol.* **1965**, *8*, 264–275. [[CrossRef](#)]
10. Weber, A.; Braybrook, S.; Huflejt, M.; Mosca, G.; Routier-Kierzkowska, A.L.; Smith, R.S. Measuring the mechanical properties of plant cells by combining micro-indentation with osmotic treatments. *J. Exp. Bot.* **2015**, *66*, 3229–3241. [[CrossRef](#)]
11. Mosca, G.; Sapala, A.; Strauss, S.; Routier-Kierzkowska, A.L.; Smith, R.S. On the micro-indentation of plant cells in a tissue context. *Phys. Biol.* **2017**, *14*, 015003. [[CrossRef](#)]
12. Sampathkumar, A.; Krupinski, P.; Wightman, R.; Milani, P.; Berquand, A.; Boudaoud, A.; Hamant, O.; Jönsson, H.; Meyerowitz, E.M. Subcellular and supracellular mechanical stress prescribes cytoskeleton behavior in *Arabidopsis* cotyledon pavement cells. *eLife* **2014**, *3*, e01967. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Sapala, A.; Runions, A.; Routier-Kierzkowska, A.L.; Gupta, M.D.; Hong, L.; Hofhuis, H.; Verger, S.; Mosca, G.; Li, C.B.; Hay, A.; et al. Why plants make puzzle cells, and how their shape emerges. *eLife* **2018**, *7*, e32794. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Kierzkowski, D.; Routier-Kierzkowska, A.L. Cellular basis of growth in plants: geometry matters. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2019**, *47*, 56–63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Long, Y.; Cheddadi, I.; Mosca, G.; Mirabet, V.; Dumond, M.; Kiss, A.; Traas, J.; Godin, C.; Boudaoud, A. Cellular heterogeneity in pressure and growth emerges from tissue topology and geometry. *Curr. Biol.* **2020**, *30*, 1504–1516.e8. [[CrossRef](#)]
16. Verger, S.; Long, Y.; Boudaoud, A.; Hamant, O. A tension-adhesion feedback loop in plant epidermis. *eLife* **2018**, *7*, e34460. [[CrossRef](#)]
17. Hejnowicz, Z. Gravitropism in herbs and trees: a major role for the redistribution of tissue and growth stresses. *Planta* **1997**, *203*, S136–S146. [[CrossRef](#)]
18. Vandiver, R.; Goriely, A. Tissue tension and axial growth of cylindrical structures in plants and elastic tissues. *EPL Europhys. Lett.* **2008**, *84*, 58004. [[CrossRef](#)]
19. Moulia, B.; Fournier, M. The power and control of gravitropic movements in plants: A biomechanical and systems biology view. *J. Exp. Bot.* **2009**, *60*, 461–486. [[CrossRef](#)]
20. Moulia, B. Plant biomechanics and mechanobiology are convergent paths to flourishing interdisciplinary research. *J. Exp. Bot.* **2013**, *64*, 4617–4633. [[CrossRef](#)]
21. Kierzkowski, D.; Nakayama, N.; Routier-Kierzkowska, A.L.; Weber, A.; Bayer, E.; Schorderet, M.; Reinhardt, D.; Kuhlemeier, C.; Smith, R.S. Elastic domains regulate growth and organogenesis in the plant shoot apical meristem. *Science* **2012**, *335*, 1096–1099. [[CrossRef](#)]
22. Hamant, O.; Heisler, M.G.; Jönsson, H.; Krupinski, P.; Uyttewaal, M.; Bokov, P.; Corson, F.; Sahlin, P.; Boudaoud, A.; Meyerowitz, E.M.; et al. Developmental patterning by mechanical signals in *Arabidopsis*. *Science* **2008**, *322*, 1650–1655. [[CrossRef](#)]
23. Beauzamy, L.; Louveaux, M.; Hamant, O.; Boudaoud, A. Mechanically, the shoot apical meristem of *Arabidopsis* behaves like a shell inflated by a pressure of about 1 MPa. *Front. Plant Sci.* **2015**, *6*, 1038. [[CrossRef](#)]
24. Hejnowicz, Z.; Sievers, A. Tissue stresses in organs of herbaceous plants: II. Determination in three dimensions in the hypocotyl of sunflower. *J. Exp. Bot.* **1995**, *46*, 1045–1053. [[CrossRef](#)]
25. Kutschera, U.; Niklas, K.J. The epidermal-growth-control theory of stem elongation: An old and a new perspective. *J. Plant Physiol.* **2007**, *164*, 1395–1409. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Archer, R.R. *Growth Stresses and Strains in Trees*; Springer: Berlin, Germany, 1987.
27. Alméras, T.; Clair, B. Critical review on the mechanisms of maturation stress generation in trees. *J. R. Soc. Interface* **2016**, *13*, 20160550. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Alméras, T.; Fournier, M. Biomechanical design and long-term stability of trees: Morphological and wood traits involved in the balance between weight increase and the gravitropic reaction. *J. Theor. Biol.* **2009**, *256*, 370–381. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Clair, B.; Ghislain, B.; Prunier, J.; Lehnebach, R.; Beauchêne, J.; Alméras, T. Mechanical contribution of secondary phloem to postural control in trees: The bark side of the force. *New Phytol.* **2018**, *221*, 209–217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Telewski, F.W. A unified hypothesis of mechanoperception in plants. *Am. J. Bot.* **2006**, *93*, 1466–1476. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Bidhendi, A.J.; Altartouri, B.; Gosselin, F.P.; Geitmann, A. Mechanical stress initiates and sustains the morphogenesis of wavy leaf epidermal cells. *Cell Rep.* **2019**, *28*, 1237–1250.e6. [[CrossRef](#)]
32. Reinhardt, D.; Pesce, E.R.; Stieger, P.; Mandel, T.; Baltensperger, K.; Bennett, M.; Traas, J.; Friml, J.; Kuhlemeier, C. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* **2003**, *426*, 255–260. [[CrossRef](#)]
33. Smith, R.S.; Guyomarc’h, S.; Mandel, T.; Reinhardt, D.; Kuhlemeier, C.; Prusinkiewicz, P. A plausible model of phyllotaxis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 1301–1306. [[CrossRef](#)]
34. Bayer, E.M.; Smith, R.S.; Mandel, T.; Nakayama, N.; Sauer, M.; Prusinkiewicz, P.; Kuhlemeier, C. Integration of transport-based models for phyllotaxis and midvein formation. *Genes Dev.* **2009**, *23*, 373–384. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Hartmann, F.P.; Barbier de Reuille, P.; Kuhlemeier, C. Toward a 3D model of phyllotaxis based on a biochemically plausible auxin-transport mechanism. *PLoS Comput. Biol.* **2019**, *15*, e1006896. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Arsuffi, G.; Braybrook, S.A. Acid growth: An ongoing trip. *J. Exp. Bot.* **2018**, *69*, 137–146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

37. Heisler, M.G.; Hamant, O.; Krupinski, P.; Uyttewaal, M.; Ohno, C.; Jönsson, H.; Traas, J.; Meyerowitz, E.M. Alignment between PIN1 polarity and microtubule orientation in the shoot apical meristem reveals a tight coupling between morphogenesis and auxin transport. *PLoS Biol.* **2010**, *8*, e1000516. [[CrossRef](#)]
38. Nakayama, N.; Smith, R.; Mandel, T.; Robinson, S.; Kimura, S.; Boudaoud, A.; Kuhlemeier, C. Mechanical regulation of auxin-mediated growth. *Curr. Biol.* **2012**, *22*, 1468–1476. [[CrossRef](#)]
39. Landrein, B.; Kiss, A.; Sassi, M.; Chauvet, A.; Das, P.; Cortizo, M.; Laufs, P.; Takeda, S.; Aida, M.; Traas, J.; et al. Mechanical stress contributes to the expression of the *STM* homeobox gene in *Arabidopsis* shoot meristems. *eLife* **2015**, *4*, e07811. [[CrossRef](#)]
40. Hejnowicz, Z.; Rusin, A.; Rusin, T. Tensile tissue stress affects the orientation of cortical microtubules in the epidermis of sunflower hypocotyl. *J. Plant Growth Regul.* **2000**, *19*, 31–44. [[CrossRef](#)]
41. Robinson, S.; Kuhlemeier, C. Global compression reorients cortical microtubules in *Arabidopsis* hypocotyl epidermis and promotes growth. *Curr. Biol.* **2018**, *28*, 1794–1802.e2. [[CrossRef](#)]
42. Burian, A.; Ludynia, M.; Uyttewaal, M.; Traas, J.; Boudaoud, A.; Hamant, O.; Kwiatkowska, D. A correlative microscopy approach relates microtubule behaviour, local organ geometry, and cell growth at the *Arabidopsis* shoot apical meristem. *J. Exp. Bot.* **2013**, *64*, 5753–5767. [[CrossRef](#)]
43. Hamant, O.; Moulia, B. How do plants read their own shapes? *New Phytol.* **2016**, *212*, 333–337. [[CrossRef](#)]
44. Kabir, A.M.R.; Inoue, D.; Hamano, Y.; Mayama, H.; Sada, K.; Kakugo, A. Biomolecular motor modulates mechanical property of microtubule. *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 1797–1805. [[CrossRef](#)]
45. Mirabet, V.; Krupinski, P.; Hamant, O.; Meyerowitz, E.M.; Jönsson, H.; Boudaoud, A. The self-organization of plant microtubules inside the cell volume yields their cortical localization, stable alignment, and sensitivity to external cues. *PLoS Comput. Biol.* **2018**, *14*, e1006011. [[CrossRef](#)]
46. Hamant, O.; Inoue, D.; Bouchez, D.; Dumais, J.; Mjolsness, E. Are microtubules tension sensors? *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 1–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Paredez, A.R.; Somerville, C.R.; Ehrhardt, D.W. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science* **2006**, *312*, 1491–1495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Hervieux, N.; Dumond, M.; Sapala, A.; Routier-Kierzkowska, A.L.; Kierzkowski, D.; Roeder, A.; Smith, R.; Boudaoud, A.; Hamant, O. A mechanical feedback restricts sepal growth and shape in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* **2016**, *26*, 1019–1028. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Hervieux, N.; Tsugawa, S.; Fruleux, A.; Dumond, M.; Routier-Kierzkowska, A.L.; Komatsuzaki, T.; Boudaoud, A.; Larkin, J.C.; Smith, R.S.; Li, C.B.; et al. Mechanical shielding of rapidly growing cells buffers growth heterogeneity and contributes to organ shape reproducibility. *Curr. Biol.* **2017**, *27*, 3468–3479.e4. [[CrossRef](#)]
50. Stokes, A.; Nicoll, B.C.; Coutts, M.P.; Fitter, A.H. Responses of young Sitka spruce clones to mechanical perturbation and nutrition: effects on biomass allocation, root development, and resistance to bending. *Can. J. For. Res.* **1997**, *27*, 1049–1057. [[CrossRef](#)]
51. Nicoll, B.C.; Gardiner, B.A.; Peace, A.J. Improvements in anchorage provided by the acclimation of forest trees to wind stress. *For. Int. J. For. Res.* **2008**, *81*, 389–398. [[CrossRef](#)]
52. Telewski, F.W.; Pruyn, M.L. Thigmomorphogenesis: A dose response to flexing in *Ulmus americana* seedlings. *Tree Physiol.* **1998**, *18*, 65–68. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Coutand, C.; Dupraz, C.; Jaouen, G.; Ploquin, S.; Adam, B. Mechanical stimuli regulate the allocation of biomass in trees: Demonstration with young *Prunus avium* trees. *Ann. Bot.* **2008**, *101*, 1421–1432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Niez, B.; Dlouhá, J.; Moulia, B.; Badel, E. Water-stressed or not, the mechanical acclimation is a priority requirement for trees. *Trees* **2019**, *33*, 279–291. [[CrossRef](#)]
55. Telewski, F.W. Structure and function of flexure wood in *Abies fraseri*. *Tree Physiol.* **1989**, *5*, 113–121. [[CrossRef](#)]
56. Roignant, J.; Badel, É.; Leblanc-Fournier, N.; Brunel-Michac, N.; Ruelle, J.; Moulia, B.; Decourteix, M. Feeling stretched or compressed? The multiple mechanosensitive responses of wood formation to bending. *Ann. Bot.* **2018**, *121*, 1151–1161. [[CrossRef](#)]
57. Niez, B.; Dlouhá, J.; Gril, J.; Ruelle, J.; Toussaint, E.; Moulia, B.; Badel, E. Mechanical properties of “flexure wood”: Compressive stresses in living trees improve the mechanical resilience of wood and its resistance to damage. *Ann. For. Sci.* **2020**, *77*, 17. [[CrossRef](#)]
58. Jaffe, M.J. Thigmomorphogenesis: The response of plant growth and development to mechanical stimulation. *Planta* **1973**, *114*, 143–157. [[CrossRef](#)]
59. Fournier, M.; Stokes, A.; Coutand, C.; Fourcaud, T.; Moulia, B. Tree biomechanics and growth strategies in the context of forest functional ecology. In *Ecology and Biomechanics: A Mechanical Approach to the Ecology of Animals and Plants*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2006; pp. 1–34.
60. Bonnesoeur, V.; Constant, T.; Moulia, B.; Fournier, M. Forest trees filter chronic wind-signals to acclimate to high winds. *New Phytol.* **2016**, *210*, 850–860. [[CrossRef](#)]
61. Paul-Victor, C.; Rowe, N. Effect of mechanical perturbation on the biomechanics, primary growth and secondary tissue development of inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*. *Ann. Bot.* **2010**, *107*, 209–218. [[CrossRef](#)]
62. Zhdanov, O.; Blatt, M.R.; Zare-Behtash, H.; Busse, A. Wind-evoked anemotropism affects the morphology and mechanical properties of *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* **2021**, *72*, 1906–1918. [[CrossRef](#)]
63. Anten, N.P.R.; Alcalá-Herrera, R.; Schieving, F.; Onoda, Y. Wind and mechanical stimuli differentially affect leaf traits in *Plantago major*. *New Phytol.* **2010**, *188*, 554–564. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

64. Schoelynck, J.; Puijalon, S.; Meire, P.; Struyf, E. Thigmomorphogenetic responses of an aquatic macrophyte to hydrodynamic stress. *Front. Plant Sci.* **2015**, *6*, 43. [[CrossRef](#)]
65. Ditengou, F.A.; Teale, W.D.; Kochersperger, P.; Flittner, K.A.; Kneuper, I.; van der Graaff, E.; Nziengui, H.; Pinosa, F.; Li, X.; Nitschke, R.; et al. Mechanical induction of lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 18818–18823. [[CrossRef](#)]
66. Richter, G.L.; Monshausen, G.B.; Krol, A.; Gilroy, S. Mechanical stimuli modulate lateral root organogenesis. *Plant Physiol.* **2009**, *151*, 1855–1866. [[CrossRef](#)]
67. Monshausen, G.B.; Bibikova, T.N.; Weisenseel, M.H.; Gilroy, S. Ca²⁺ regulates reactive oxygen species production and pH during mechanosensing in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell* **2009**, *21*, 2341–2356. [[CrossRef](#)]
68. Bizet, F.; Bengough, A.G.; Hummel, I.; Bogeat-Triboulot, M.B.; Dupuy, L.X. 3D deformation field in growing plant roots reveals both mechanical and biological responses to axial mechanical forces. *J. Exp. Bot.* **2016**, *67*, 5605–5614. [[CrossRef](#)]
69. Roué, J.; Chauvet, H.; Brunel-Michac, N.; Bizet, F.; Moulia, B.; Badel, E.; Legué, V. Root cap size and shape influence responses to the physical strength of the growth medium in *Arabidopsis thaliana* primary roots. *J. Exp. Bot.* **2020**, *71*, 126–137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Coutand, C.; Julien, J.; Moulia, B.; Mauget, J.; Guitard, D. Biomechanical study of the effect of a controlled bending on tomato stem elongation: Global mechanical analysis. *J. Exp. Bot.* **2000**, *51*, 1813–1824. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Moulia, B.; Der Loughian, C.; Bastien, R.; Martin, O.; Rodriguez, M.; Gourcilleau, D.; Barbacci, A.; Badel, E.; Franchel, J.; Lenne, C.; et al. Integrative mechanobiology of growth and architectural development in changing mechanical environments. In *Mechanical Integration of Plant Cells and Plants; Signaling and Communication in Plants*; Wojtaszek, P., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2011; Volume 9, pp. 269–302. [[CrossRef](#)]
72. Lopez, R.; Badel, E.; Peraudeau, S.; Leblanc-Fournier, N.; Beaujard, F.; Julien, J.L.; Cochard, H.; Moulia, B. Tree shoot bending generates hydraulic pressure pulses: A new long-distance signal? *J. Exp. Bot.* **2014**, *65*, 1997–2008. [[CrossRef](#)]
73. Louf, J.F.; Guéna, G.; Badel, E.; Forterre, Y. Universal poroelastic mechanism for hydraulic signals in biomimetic and natural branches. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2017**, *114*, 11034–11039. [[CrossRef](#)]
74. Tinturier, E.; Badel, E.; Leblanc-Fournier, N.; Julien, J.L. Stem bending generates electrical response in poplar. *Physiol. Plant.* **2021**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Chauvin, A.; Caldelari, D.; Wolfender, J.L.; Farmer, E.E. Four 13-lipoxygenases contribute to rapid jasmonate synthesis in wounded *Arabidopsis thaliana* leaves: A role for lipoxygenase 6 in responses to long-distance wound signals. *New Phytol.* **2013**, *197*, 566–575. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Chehab, E.; Yao, C.; Henderson, Z.; Kim, S.; Braam, J. *Arabidopsis* touch-induced morphogenesis is jasmonate mediated and protects against pests. *Curr. Biol.* **2012**, *22*, 701–706. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Farmer, E.E.; Gasperini, D.; Acosta, I.F. The squeeze cell hypothesis for the activation of jasmonate synthesis in response to wounding. *New Phytol.* **2014**, *204*, 282–288. [[CrossRef](#)]
78. Tixier, A.; Badel, E.; Franchel, J.; Lakhal, W.; Leblanc-Fournier, N.; Moulia, B.; Julien, J.L. Growth and molecular responses to long-distance stimuli in poplars: Bending vs flame wounding. *Physiol. Plant.* **2014**, *150*, 225–237. [[CrossRef](#)]
79. Fal, K.; Korsbo, N.; Alonso-Serra, J.; Teles, J.; Liu, M.; Refahi, Y.; Chabouté, M.E.; Jönsson, H.; Hamant, O. Tissue folding at the organ-meristem boundary results in nuclear compression and chromatin compaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2021**, *118*. [[CrossRef](#)]
80. Bacete, L.; Hamann, T. The role of mechanoperception in plant cell wall integrity maintenance. *Plants* **2020**, *9*, 574. [[CrossRef](#)]
81. Frachisse, J.M.; Thomine, S.; Allain, J.M. Calcium and plasma membrane force-gated ion channels behind development. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2020**, *53*, 57–64. [[CrossRef](#)]
82. Guo, H.; Li, L.; Ye, H.; Yu, X.; Algreen, A.; Yin, Y. Three related receptor-like kinases are required for optimal cell elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 7648–7653. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Shih, H.W.; Miller, N.D.; Dai, C.; Spalding, E.P.; Monshausen, G.B. The receptor-like kinase FERONIA is required for mechanical signal transduction in *Arabidopsis* seedlings. *Curr. Biol.* **2014**, *24*, 1887–1892. [[CrossRef](#)]
84. Li, E.; Wang, G.; Zhang, Y.; Kong, Z.; Li, S. FERONIA mediates root nutating growth. *Plant J.* **2020**, *104*, 1105–1116. [[CrossRef](#)]
85. Dong, Q.; Zhang, Z.; Liu, Y.; Tao, L.; Liu, H. FERONIA regulates auxin-mediated lateral root development and primary root gravitropism. *FEBS Lett.* **2019**, *593*, 97–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Wang, K.; Yang, Z.; Qing, D.; Ren, F.; Liu, S.; Zheng, Q.; Liu, J.; Zhang, W.; Dai, C.; Wu, M.; et al. Quantitative and functional posttranslational modification proteomics reveals that TREPH1 plays a role in plant touch-delayed bolting. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, E10265–E10274. [[CrossRef](#)]
87. Hamilton, E.S.; Schlegel, A.M.; Haswell, E.S. United in diversity: Mechanosensitive ion channels in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2015**, *66*, 113–137. [[CrossRef](#)]
88. Basu, D.; Haswell, E.S. Plant mechanosensitive ion channels: An ocean of possibilities. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2017**, *40*, 43–48. [[CrossRef](#)]
89. White, P.J.; Broadley, M.R. Calcium in plants. *Ann. Bot.* **2003**, *92*, 487–511. [[CrossRef](#)]
90. Knight, M.R.; Smith, S.M.; Trewavas, A.J. Wind-induced plant motion immediately increases cytosolic calcium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 4967–4971. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

91. Legué, V.; Blancaflor, E.; Wymer, C.; Perbal, G.; Fantin, D.; Gilroy, S. Cytoplasmic free Ca^{2+} in *Arabidopsis* roots changes in response to touch but not gravity. *Plant Physiol.* **1997**, *114*, 789–800. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Kurusu, T.; Kuchitsu, K.; Nakano, M.; Nakayama, Y.; Iida, H. Plant mechanosensing and Ca^{2+} transport. *Trends Plant Sci.* **2013**, *18*, 227–233. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Monshausen, G.B.; Haswell, E.S. A force of nature: Molecular mechanisms of mechanoperception in plants. *J. Exp. Bot.* **2013**, *64*, 4663–4680. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
94. Fromm, J.; Lautner, S. Electrical signals and their physiological significance in plants. *Plant Cell Environ.* **2007**, *30*, 249–257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Choi, W.G.; Hilleary, R.; Swanson, S.J.; Kim, S.H.; Gilroy, S. Rapid, long-distance electrical and calcium signaling in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2016**, *67*, 287–307. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
96. Braam, J.; Davis, R.W. Rain-, wind-, and touch-induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in *Arabidopsis*. *Cell* **1990**, *60*, 357–364. [[CrossRef](#)]
97. Nakagawa, Y.; Katagiri, T.; Shinozaki, K.; Qi, Z.; Tatsumi, H.; Furuichi, T.; Kishigami, A.; Sokabe, M.; Kojima, I.; Sato, S.; et al. *Arabidopsis* plasma membrane protein crucial for Ca^{2+} influx and touch sensing in roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 3639–3644. [[CrossRef](#)]
98. Nakano, M.; Iida, K.; Nyunoya, H.; Iida, H. Determination of structural regions important for Ca^{2+} uptake activity in *Arabidopsis* MCA1 and MCA2 expressed in yeast. *Plant Cell Physiol.* **2011**, *52*, 1915–1930. [[CrossRef](#)]
99. Shigematsu, H.; Iida, K.; Nakano, M.; Chaudhuri, P.; Iida, H.; Nagayama, K. Structural characterization of the mechanosensitive channel candidate MCA2 from *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e87724. [[CrossRef](#)]
100. Kamano, S.; Kume, S.; Iida, K.; Lei, K.J.; Nakano, M.; Nakayama, Y.; Iida, H. Transmembrane topologies of Ca^{2+} -permeable mechanosensitive channels MCA1 and MCA2 in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* **2015**, *290*, 30901–30909. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
101. Nishii, K.; Möller, M.; Iida, H. Mix and match: Patchwork domain evolution of the land plant-specific Ca^{2+} -permeable mechanosensitive channel MCA. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0249735. [[CrossRef](#)]
102. Furuichi, T.; Iida, H.; Sokabe, M.; Tatsumi, H. Expression of *Arabidopsis* MCA1 enhanced mechanosensitive channel activity in the *Xenopus laevis* oocyte plasma membrane. *Plant Signal. Behav.* **2012**, *7*, 1022–1026. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Yamanaka, T.; Nakagawa, Y.; Mori, K.; Nakano, M.; Imamura, T.; Kataoka, H.; Terashima, A.; Iida, K.; Kojima, I.; Katagiri, T.; et al. MCA1 and MCA2 that mediate Ca^{2+} uptake have distinct and overlapping roles in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **2010**, *152*, 1284–1296. [[CrossRef](#)]
104. Hattori, T.; Otomi, Y.; Nakajima, Y.; Soga, K.; Wakabayashi, K.; Iida, H.; Hoson, T. MCA1 and MCA2 are involved in the response to hypergravity in *Arabidopsis* hypocotyls. *Plants* **2020**, *9*, 590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Coste, B.; Mathur, J.; Schmidt, M.; Earley, T.J.; Ranade, S.; Petrus, M.J.; Dubin, A.E.; Patapoutian, A. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science* **2010**, *330*, 55–60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Guo, Y.R.; MacKinnon, R. Structure-based membrane dome mechanism for piezo mechanosensitivity. *eLife* **2017**, *6*, e33660. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Saotome, K.; Murthy, S.E.; Kefauver, J.M.; Whitwam, T.; Patapoutian, A.; Ward, A.B. Structure of the mechanically activated ion channel Piezo1. *Nature* **2018**, *554*, 481–486. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Zhao, Q.; Zhou, H.; Chi, S.; Wang, Y.; Wang, J.; Geng, J.; Wu, K.; Liu, W.; Zhang, T.; Dong, M.Q.; et al. Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel. *Nature* **2018**, *554*, 487–492. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
109. Wang, Y.; Xiao, B. The mechanosensitive Piezo1 channel: Structural features and molecular bases underlying its ion permeation and mechanotransduction. *J. Physiol.* **2018**, *596*, 969–978. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Fang, X.Z.; Zhou, T.; Xu, J.Q.; Wang, Y.X.; Sun, M.M.; He, Y.J.; Pan, S.W.; Xiong, W.; Peng, Z.K.; Gao, X.H.; et al. Structure, kinetic properties and biological function of mechanosensitive Piezo channels. *Cell Biosci.* **2021**, *11*, 1–20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
111. Mousavi, S.A.R.; Dubin, A.E.; Zeng, W.Z.; Coombs, A.M.; Do, K.; Ghadiri, D.A.; Keenan, W.T.; Ge, C.; Zhao, Y.; Patapoutian, A. PIEZO ion channel is required for root mechanotransduction in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2021**, *118*, e2102188118. [[CrossRef](#)]
112. Wu, J.; Lewis, A.H.; Grandl, J. Touch, tension, and transduction—The function and regulation of Piezo ion channels. *Trends Biochem. Sci.* **2017**, *42*, 57–71. [[CrossRef](#)]
113. Zhang, Z.; Tong, X.; Liu, S.Y.; Chai, L.X.; Zhu, F.F.; Zhang, X.P.; Zou, J.Z.; Wang, X.B. Genetic analysis of a Piezo-like protein suppressing systemic movement of plant viruses in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 3187. [[CrossRef](#)]
114. Fang, X.; Liu, B.; Shao, Q.; Huang, X.; Li, J.; Luan, S.; He, K. Atpiezo plays an important role in root cap mechanotransduction. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 467. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
115. Radin, I.; Richardson, R.A.; Coomey, J.H.; Weiner, E.R.; Bascom, C.S.; Li, T.; Bezanilla, M.; Haswell, E.S. Plant PIEZO homologs modulate vacuole morphology during tip growth. *Science* **2021**, *373*, 586–590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
116. Dünser, K.; Gupta, S.; Herger, A.; Feraru, M.I.; Ringli, C.; Kleine-Vehn, J. Extracellular matrix sensing by FERONIA and Leucine-Rich Repeat Extensins controls vacuolar expansion during cellular elongation in *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J.* **2019**, *38*, e100353. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
117. Hou, C.; Tian, W.; Kleist, T.; He, K.; Garcia, V.; Bai, F.; Hao, Y.; Luan, S.; Li, L. DUF221 proteins are a family of osmosensitive calcium-permeable cation channels conserved across eukaryotes. *Cell Res.* **2014**, *24*, 632–635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

118. Murthy, S.E.; Dubin, A.E.; Whitwam, T.; Jojoa-Cruz, S.; Cahalan, S.M.; Mousavi, S.A.R.; Ward, A.B.; Patapoutian, A. OSCA/TMEM63 are an evolutionarily conserved family of mechanically activated ion channels. *eLife* **2018**, *7*, e41844. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
119. Jojoa-Cruz, S.; Saotome, K.; Murthy, S.E.; Tsui, C.C.A.; Sansom, M.S.; Patapoutian, A.; Ward, A.B. Cryo-EM structure of the mechanically activated ion channel OSCA1.2. *eLife* **2018**, *7*, e41845. [[CrossRef](#)]
120. Liu, X.; Wang, J.; Sun, L. Structure of the hyperosmolality-gated calcium-permeable channel OSCA1.2. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 1–9. [[CrossRef](#)]
121. Zhang, M.; Wang, D.; Kang, Y.; Wu, J.X.; Yao, F.; Pan, C.; Yan, Z.; Song, C.; Chen, L. Structure of the mechanosensitive OSCA channels. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2018**, *25*, 850–858. [[CrossRef](#)]
122. Maity, K.; Heumann, J.M.; McGrath, A.P.; Kopcho, N.J.; Hsu, P.K.; Lee, C.W.; Mapes, J.H.; Garza, D.; Krishnan, S.; Morgan, G.P.; et al. Cryo-EM structure of OSCA1.2 from *Oryza sativa* elucidates the mechanical basis of potential membrane hyperosmolality gating. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2019**, *116*, 14309–14318. [[CrossRef](#)]
123. Yuan, F.; Yang, H.; Xue, Y.; Kong, D.; Ye, R.; Li, C.; Zhang, J.; Theprungsirikul, L.; Shrift, T.; Krichilsky, B.; et al. OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca^{2+} increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*. *Nature* **2014**, *514*, 367–371. [[CrossRef](#)]
124. Thor, K.; Jiang, S.; Michard, E.; George, J.; Scherzer, S.; Huang, S.; Dindas, J.; Derbyshire, P.; Leitão, N.; DeFalco, T.A.; Köster, P.; et al. The calcium-permeable channel OSCA1.3 regulates plant stomatal immunity. *Nature* **2020**, *585*, 569–573. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
125. Cao, L.; Zhang, P.; Lu, X.; Wang, G.; Wang, Z.; Zhang, Q.; Zhang, X.; Wei, X.; Mei, F.; Wei, L.; et al. Systematic analysis of the maize OSCA genes revealing *ZmOSCA* family members involved in osmotic stress and *ZmOSCA2.4* confers enhanced drought tolerance in transgenic arabidopsis. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
126. Procko, C.; Murthy, S.; Keenan, W.T.; Mousavi, S.A.R.; Dabi, T.; Coombs, A.; Procko, E.; Baird, L.; Patapoutian, A.; Chory, J. Stretch-activated ion channels identified in the touch-sensitive structures of carnivorous droseraceae plants. *eLife* **2021**, *10*, e64250. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
127. Ryu, K.H.; Huang, L.; Kang, H.M.; Schiefelbein, J. Single-cell RNA sequencing resolves molecular relationships among individual plant cells. *Plant Physiol.* **2019**, *179*, 1444–1456. [[CrossRef](#)]
128. Shi, D.; Jouannet, V.; Agustí, J.; Kaul, V.; Levitsky, V.; Sanchez, P.; Mironova, V.V.; Greb, T. Tissue-specific transcriptome profiling of the *Arabidopsis* inflorescence stem reveals local cellular signatures. *Plant Cell* **2021**, *33*, 200–223. [[CrossRef](#)]
129. Sundell, D.; Street, N.R.; Kumar, M.; Mellerowicz, E.J.; Kucukoglu, M.; Johnsson, C.; Kumar, V.; Mannapperuma, C.; Delhomme, N.; Nilsson, O.; et al. Aspwood: High-spatial-resolution transcriptome profiles reveal uncharacterized modularity of wood formation in populus tremula. *Plant Cell* **2017**, *29*, 1585–1604. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
130. Jacobsen, A.G.; Jarvis, G.; Xu, J.; Topping, J.F.; Lindsey, K. Root growth responses to mechanical impedance are regulated by a network of ROS, ethylene and auxin signalling in *Arabidopsis*. *New Phytol.* **2021**, *231*, 225–242. [[CrossRef](#)]
131. Lee, H.J.; Kim, H.S.; Park, J.M.; Cho, H.S.; Jeon, J.H. PIN-mediated polar auxin transport facilitates root-obstacle avoidance. *New Phytol.* **2020**, *225*, 1285–1296. [[CrossRef](#)]
132. Pomiès, L.; Decourteix, M.; Franchel, J.; Moulia, B.; Leblanc-Fournier, N. Poplar stem transcriptome is massively remodelled in response to single or repeated mechanical stimuli. *BMC Genom.* **2017**, *18*, 300. [[CrossRef](#)]
133. Colom, A.; Derivery, E.; Soleimanpour, S.; Tomba, C.; Molin, M.D.; Sakai, N.; González-Gaitán, M.; Matile, S.; Roux, A. A fluorescent membrane tension probe. *Nat. Chem.* **2018**, *10*, 1118–1125. [[CrossRef](#)]
134. Xing, L.; Zhang, D.; Qi, S.; Chen, X.; An, N.; Li, Y.; Zhao, C.; Han, M.; Zhao, J. Transcription profiles reveal the regulatory mechanisms of spur bud changes and flower induction in response to shoot bending in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant Mol. Biol.* **2019**, *99*, 45–66. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
135. Alonso-Serra, J.; Safronov, O.; Lim, K.J.; Fraser-Miller, S.J.; Blokhina, O.B.; Campilho, A.; Chong, S.L.; Fagerstedt, K.; Haavikko, R.; Helariutta, Y.; et al. Tissue-specific study across the stem reveals the chemistry and transcriptome dynamics of birch bark. *New Phytol.* **2019**, *222*, 1816–1831. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
136. Lee, D.; Polisensky, D.H.; Braam, J. Genome-wide identification of touch- and darkness-regulated *Arabidopsis* genes: A focus on calmodulin-like and XTH genes. *New Phytol.* **2005**, *165*, 429–444. [[CrossRef](#)]
137. Autran, D.; Bassel, G.W.; Chae, E.; Ezer, D.; Ferjani, A.; Fleck, C.; Hamant, O.; Hartmann, F.P.; Jiao, Y.; Johnston, I.G.; et al. What is quantitative plant biology? *Quant. Plant Biol.* **2021**, *2*, e10. [[CrossRef](#)]
138. Iida, H. Mugifumi, a beneficial farm work of adding mechanical stress by treading to wheat and barley seedlings. *Front. Plant Sci.* **2014**, *5*, 453. [[CrossRef](#)]
139. Morel, P.; Crespel, L.; Galopin, G.; Moulia, B. Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. *Sci. Hortic.* **2012**, *135*, 59–64. [[CrossRef](#)]
140. Gladala-Kostarz, A.; Doonan, J.H.; Bosch, M. Mechanical stimulation in *Brachypodium distachyon*: Implications for fitness, productivity, and cell wall properties. *Plant Cell Environ.* **2020**, *43*, 1314–1330. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
141. Ghosh, R.; Barbacci, A.; Leblanc-Fournier, N. Mechanostimulation: A promising alternative for sustainable agriculture practices. *J. Exp. Bot.* **2021**, *72*, 2877–2888. [[CrossRef](#)]
142. De Langre, E.; Penalver, O.; Hémon, P.; Frachisse, J.M.; Bogeat-Triboulot, M.B.; Niez, B.; Badel, É.; Moulia, B. Nondestructive and fast vibration phenotyping of plants. *Plant Phenom.* **2019**, *2019*, 6379693. [[CrossRef](#)]

143. Hawcroft, M.; Walsh, E.; Hodges, K.; Zappa, G. Significantly increased extreme precipitation expected in Europe and North America from extratropical cyclones. *Environ. Res. Lett.* **2018**, *13*, 124006. [[CrossRef](#)]
144. Fournier, M.; Dlouhá, J.; Jaouen, G.; Alméras, T. Integrative biomechanics for tree ecology: beyond wood density and strength. *J. Exp. Bot.* **2013**, *64*, 4793–4815. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
145. Katoh, K.; Rozewicki, J.; Yamada, K.D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings Bioinform.* **2017**, *20*, 1160–1166. [[CrossRef](#)]
146. Leek, J.T.; Johnson, W.E.; Parker, H.S.; Jaffe, A.E.; Storey, J.D. The sva package for removing batch effects and other unwanted variation in high-throughput experiments. *Bioinformatics* **2012**, *28*, 882–883. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Résumé

Dans les conditions naturelles, les plantes sont soumises à des stress mécaniques non lésants comme le toucher et le vent. La sollicitation mécanique d'une plante entraîne une réponse locale avec notamment une modification de la croissance secondaire, et potentiellement une réponse à distance avec une modification de la croissance primaire. Cette réponse à distance suggère le transfert de l'information depuis la zone sollicitée. La nature du vecteur de l'information reste inconnue à ce jour, mais plusieurs hypothèses sont formulées dans la littérature.

Au cours de ces travaux de thèse, la propagation d'un signal électrique suite à la flexion de la tige de peuplier a été étudiée par des mesures d'électrophysiologie extracellulaire. Cette étude a permis de mettre en évidence la propagation d'un potentiel graduel (PG), une réponse électrique aux caractéristiques originales. En effet, bien qu'elle présente la forme d'un potentiel d'action (PA), son amplitude n'est pas constante et sa vitesse de propagation élevée présente une atténuation exponentielle. Ces caractéristiques la différencient du PA et de sa propagation électrotonique, poussant à imaginer un autre mode de propagation et à formuler l'hypothèse d'un couplage hydro-électrique. Dans cette hypothèse, l'onde de pression (OP) hydraulique générée par la flexion serait responsable, en se propageant dans les vaisseaux du xylème, d'activer des mécanorécepteurs dans les cellules voisines, initiant le PG. Afin de tester cette hypothèse, plusieurs expériences visant à caractériser le PG sous différentes modalités de flexions ont été menées. Les résultats montrent que la distance de propagation et la vitesse de propagation sont deux paramètres du PG impactés par l'intensité de la flexion, paramètres qui affectent l'amplitude de l'OP. En revanche, l'amplitude du PG à proximité de la zone sollicitée ne varie pas avec l'intensité de la flexion appliquée à la tige. Bien que plusieurs expériences montrent une corrélation entre ces 2 signaux, des expériences complémentaires sont nécessaires pour conforter l'hypothèse du couplage hydro-électrique et conclure sur l'origine du PG.

De plus, afin de déterminer si le PG est susceptible de déclencher une réponse biologique à distance de la zone fléchie, différentes expériences de RNA seq ont été entreprises. L'analyse des données a révélé une réponse transcriptionnelle importante à distance de la zone sollicitée semblant dépendre du passage d'un PG, puisque aucune modulation du transcriptome n'est révélée dans les zones où il n'est pas passé. La réponse transcriptionnelle à distance de la zone sollicitée se distingue de la réponse transcriptionnelle associée à une OL, à un PA ou à celle de la zone sollicitée lors de la flexion de tige. Ces résultats confirment une relation complexe entre sollicitation, signalisation et réponse à longue distance.

Mots-clés : peuplier, flexion de tige, signalisation électrique, onde de pression hydraulique, réponse transcriptionnelle.