

# 11<sup>ES</sup> JOURNÉES DU RÉSEAU FRANÇAIS DES PAROIS

du 27 au 29 juin 2017 à Orléans

Centre Inra Val de Loire



<https://journées.inra.fr/jrfp2017>

# 11<sup>es</sup> journées du Réseau Français des Parois

du 27 au 29 juin 2017  
à Orléans sur le Centre INRA Val de Loire

Depuis plus de 30 ans, le Réseau Français des Parois (RFP) regroupe les chercheurs étudiant les parois végétales, sous leurs différents aspects et par différentes approches disciplinaires.

Tous les 2 à 3 ans, le RFP pilote l'organisation de journées scientifiques, rassemblant des chercheurs issus d'instituts de recherches publics (CNRS, INRA), d'Universités et de groupes industriels. Moment fort pour la communauté scientifique concernée, ces journées ont pour objectif de favoriser les échanges interdisciplinaires et de permettre aux jeunes chercheurs, doctorants et post-docs, de se faire connaître au sein de la communauté par la présentation de leurs travaux.

Les 11<sup>es</sup> journées du Réseau Français des Parois sont organisées du 27 au 29 juin 2017 à Orléans par l'Unité AGPF (Inra, Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières), conjointement avec l'USC ARCHE (Inra – Université d'Orléans, Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales).

<https://journées.inra.fr/jrfp2017>

## Comité scientifique

Annabelle Déjardin (AGPF, INRA Val de Loire)  
Régis Fichot (Université d'Orléans, LBLGC)  
Elisabeth Jamet (UPS CNRS, LRSV, Toulouse)  
Françoise Laurans (AGPF, INRA Val de Loire)  
Jérôme Pelloux (Université de Picardie, BIOPI)  
Gilles Pilate (AGPF, INRA Val de Loire)  
Marie-Christine Ralet (BIA, INRA Pays de la Loire)

## Comité local d'organisation

Olivier Bertel  
Annabelle Déjardin  
Armelle Delile  
Régis Fichot  
Jean-Charles Gaudin  
Camille Grand-Perret

Véronique Lainé-Prade  
Françoise Laurans  
Marie-Claude Lesage-Descauses  
Patricia Montes  
Gilles Pilate  
Brigitte Viguié

## Nos partenaires



# Programme des journées

## Mardi 27 juin 2017

11:00 - 12:00 : Accueil des participants, mise en place des posters

12:00 - 13:30 : Buffet

### 13:30 - 13:45 Introduction des 11es JRFP

### 13:45 - 14:45 Conférence invitée

**Olivier Hamant** (RDP ENS Lyon)

MechanoDevo: How growth and form derived mechanical forces channel plant morphogenesis

### 14:50 - 19:00 Session 1 : Développement, biosynthèse et propriétés des parois

**Modérateurs : Valérie Lefebvre (BIOPI, Amiens) et Arnaud Lehner (Glyco-MEV, Rouen)**

- 14:50 **Fabien Miart** (IJPB, Versailles) - L'imagerie dynamique et ratiométrique pour l'étude *in vivo* du pH apoplastique dans l'hypocotyle d'*Arabidopsis thaliana*
- 15:20 **Christoph Ringli** (Université de Zurich, Suisse) - LRR-extensins influence physical properties of cell walls by establishing a link between the cell wall and the plasma membrane
- 15:40 **Tian Zhang** (IJPB, Versailles) - Nanoscale movements of cellulose microfibrils in primary cell walls
- 16:00 **Martine Gonneau** (IJPB, Versailles) - The role of cell wall integrity signaling and mechano-perception in growth regulation
- 16:20 **Jérôme Pelloux** (BIOPI, Amiens) - Defect in the expression of a pectin methylesterase triggers compensation mechanisms with consequent effects on cell wall mechanics

16:40 - 17:40 : Pause café et session de posters

- 17:40 **Ludivine Hocq** (BIOPI, Amiens) - AtPGLR, une endopolygalacturonase d'*Arabidopsis thaliana* : caractérisation biochimique et rôle *in vivo*
- 18:00 **Catherine Rayon** (BIOPI, Amiens) - Functional characterization of two Arabidopsis pectin acetylerases *AtPAE7* and *AtPAE11* and their deletion mutants
- 18:20 **Julien Sechet** (JBEI, Berkeley, USA) - Control of plant development through Golgi localized GDP-L-Galactose transport
- 18:40 **Valérie Pacquit** (LRSV, Toulouse) - AtLTP2, a Lipid Transfer Protein dually localized in both the cell wall and plastids, is involved in cell wall-cuticle interface integrity -

19:00 - 20:00 : *Cocktail de bienvenue*

## **Mercredi 28 juin 2017**

### **08:30 - 13:30 Session 1 suite : Développement, biosynthèse et propriétés des parois**

**Modérateurs : Julien Ruelle (LERFOB, Nancy) et Estelle Goulas (UGSF, Lille)**

- 08:30        **Cécile Hervé** (IBMM, Roscoff) - Occurrence of AGPs in brown algae and their role in the cell wall assembly and normal development of *Fucus* embryos
- 09:00        **Yves Verherbruggen** (BIA, Nantes) - Does mannan interact with arabinogalactan proteins and impact wheat endosperm development?
- 09:20        **Grégory Mouille** (IJPB, Versailles) - Genetic and chemical genomic dissection of the cell adhesion mechanisms in Plants
- 09:40        **Ferdousse Laggoun** (Glyco-MEV, Rouen) - Characterization of Arabidopsis pollen tube adhesion matrix using an enzymatic approach
- 10:00        **Bruno Clair** (ECOFOG, Kourou) - Couche G ou couche tertiaire : quel nom pour la couche interne des fibres du bois de tension ?
- 10 :20        **Paul Marchand** (AGPF, Orléans) - L'imagerie spectrale en spectroscopie ATR-FTIR, une méthode intéressante pour la caractérisation fine du bois de peuplier à l'échelle cellulaire

10:40 - 11:40 : *Pause café et session de posters*

- 11 :40        **Marc Behr** (ERID, LIST, Luxembourg) – Influence de l'acide jasmonique sur la lignification de l'hypocotyle de chanvre
- 12:10        **Godfrey Neutelings** (UGSF, Lille) - Sweet talk to phenylpropanoids may prevent their incorporation in lignins
- 12:30        **Marie Baucher** (LBV, Bruxelles) - Functional characterisation of *PtaUGT72E1* during development, growth and lignification in poplar
- 12:50        **Anne-Laure Chateigner-Boutin** (BIA, Nantes) - Developing pericarp of maize: a model to study arabinoxylan synthesis and feruloylation
- 13:10        **Hua Cassan Wang** (LRSV, Toulouse) - New auxin transcription factors regulating lignified secondary cell wall formation

13:30 - 14:30 : *Pause Déjeuner*

**14:30 - 16:10 Session 3 : Utilisation des parois : biomasse, bioénergie, matériaux, aliments, santé.**

**Modérateurs : Sophie Le Gall (BIA, Nantes) et Gabriel Paës (FARE, Reims)**

- 14 :30 **Fabienne Guillon** (BIA, Nantes) - L'imagerie multispectrale en macrofluorescence, une approche prometteuse pour identifier l'origine tissulaire de particules dans des broyats provenant de tiges de graminées
- 14 :50 **David Legland** (BIA, Nantes) - Cartographies paramétriques de la morphologie cellulaire de tissus végétaux par granulométrie en niveaux de gris
- 15 :10 **Jean-Paul Charpentier** (AGPF, Orléans) - Mise au point et validation d'un procédé miniaturisé pour le criblage à haut débit du potentiel de saccharification de biomasses lignocellulosiques : application sur des clones de peuplier
- 15 :30 **Fadi El Hage** (IJPB, Versailles) - Facteurs histologiques et biochimiques expliquant les variations de la dégradabilité de paroi chez le maïs et impact des conditions d'irrigation
- 15 :50 **Laetitia Virlovet** (IJPB, Versailles) – Neuf régions du génome sont impliquées dans la composition et la dégradabilité de la paroi dans des scénarios d'irrigation contrastés chez une population de maïs précoce
- 16 :10 *Temps libre*
- 17:45 - 20:15 *Visite guidée du vieil Orléans avec l'Office de Tourisme*
- 20:30 - 23:30 *Repas convivial au Garden Ice Café, place de la Loire, Orléans*

**Jeudi 29 juin 2017**

**09:00 - 12:30 Session 2 : Impacts des contraintes biotiques et abiotiques sur les parois**

**Modérateurs de session : Valérie Pacquit (LRSV, Toulouse) et Matthieu Reymond (IJPB, Versailles)**

- 9:00 **Harold Duruflé** (LRSV, Toulouse) - Cell wall adaptation to sub-optimal growth conditions of natural population of Arabidopsis
- 9:30 **Amandine Siméon** (IBMM, Roscoff) - Imaging cell-wall dynamics and morphological changes in the brown alga *Ectocarpus subulatus* in response to salinity variations
- 9:50 **Catalina Duran Garzon** (BIOPI, Amiens) - Photosynthesis and cell wall metabolism in maize biomass production in response to chilling
- 10:10 **Sylvie Coursol** (IJPB, Versailles) – MYB31 triggers water stress memory responses in maize

*10:30 - 11:30 : Pause café et session de posters*

- 11 :30      **Grégory Hoff** (MiPI, Université Liège) - Rôle des composants de la paroi végétale dans la colonisation des racines par les bactéries phyto-bénéfiques du genre *Bacillus*
- 11:50      **Romain Castilleux** (Glyco-MEV, Rouen) - Involvement of extensin arabinosylation in root defence
- 12:10      **Aline Voxeur** (IJPB, Versailles) – Understanding of the oligosaccharide production during *Botrytis cinerea* infection

**12:30 - 13:30 Assemblée générale du RFP**

**Remise des prix "Meilleur poster" et "Meilleure communication orale"**

13:30 - 14:30    *Pause Déjeuner*

# Workshop StressInTrees

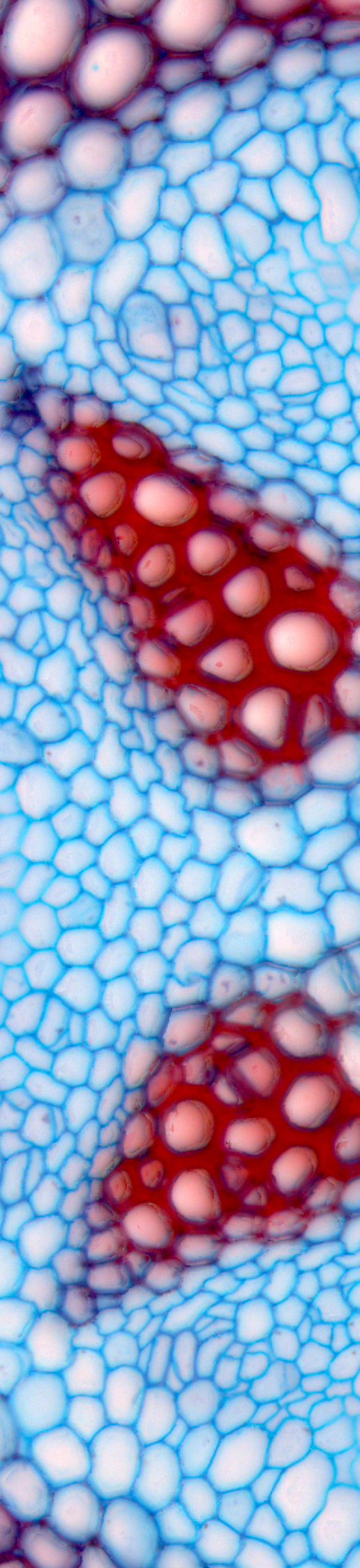
Workshop final du Projet ANR StressInTrees '**Approches couplées physiologique et micro-mécanique de la génération des contraintes de maturation dans le bois de tension**'

La capacité des arbres à générer de fortes contraintes mécaniques dans la partie externe du bois est un élément clé leur permettant de contrôler l'orientation de leurs axes, au cours de leur développement en hauteur et en réponse aux contraintes environnementales. Ces contraintes mécaniques sont générées dans la paroi des fibres de bois durant leur maturation.

Le principal objectif du projet StressInTrees est de suivre les processus biologiques et les modifications mécaniques intervenant pendant la phase de maturation des fibres, afin d'identifier les acteurs moléculaires importants dans la génération des contraintes de maturation dans les arbres et d'en déduire un modèle micro-mécanique réaliste.

- 14:30        **Bruno Clair** (ECOFOG, Kourou) - Objectifs et enjeux du projet StressInTrees
- 14:45        **Olivier Arnould** (LMGC, Montpellier) - Mesures physiques et mécaniques des propriétés de la paroi pendant la maturation
- 15:15        **Gilles Pilate** (AGPF, Orléans) - Distribution des polysaccharides non cellulosiques dans les parois de fibres de bois de tension
- 15:45 – 16:00    *Pause café*
- 16:00        **Tancrede Alméras** (LMGC, Montpellier) - Modèles mécaniques de la mise sous tension pendant la maturation : quels mécanismes crédibles ?
- 16:30        **Bruno Clair** - Regard sur la diversité : y a-t-il universalité du mécanisme de mise en tension chez les arbres ?
- 17:00        **Bruno Clair et Gilles Pilate** - Bonus et perspectives
- 17:15        **Table ronde - Perspectives de recherche et rôle de la communauté française dans la compréhension des mécanismes moteurs chez les plantes**
- 18:15        Fin du Workshop





## **CONFÉRENCE INVITÉE**

# MechanoDevo: How mechanical signals channel plant morphogenesis

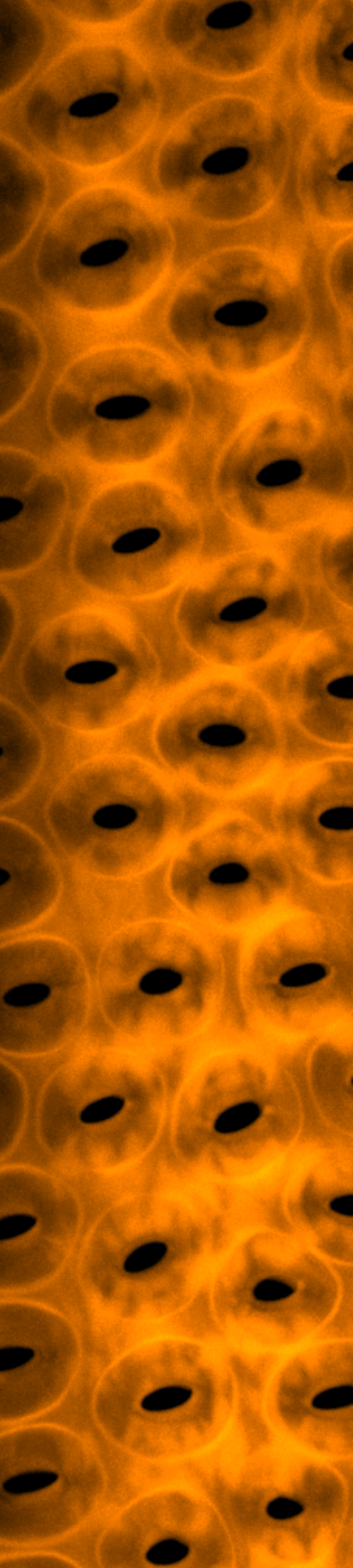
Olivier Hamant

*RDP, INRA, CNRS, UCBL, ENS Lyon, France*

In “On growth and forms” (1917), D’Arcy Thompson stresses the inevitable interactions between physics and biology. Thanks to ongoing developments in live imaging and modeling, this field of study has been rejuvenated: the relation between mechanics and shape changes can now be addressed more comprehensively, notably in plants in which morphogenesis is mainly determined by cell walls. In past work, we showed that shape- and growth-derived forces act as signals that orient plant microtubules [1]. This response channels key biological features, such as cell shape [2], cell division plane orientation [3] and final organ shape [4]. Beyond microtubules, such forces also contribute to cell polarity [5] and to the expression patterns of master regulators of meristem maintenance [6]. The implications of this work are numerous and include a role of mechanical conflicts emerging from growth heterogeneity in the reproducibility of shapes. Altogether, this provides a picture in which mechanical forces add robustness to plant morphogenesis, by channeling the dynamics of cell effectors and molecular pathways.

## Références bibliographiques

- [1] Hamant et al. (2008) *Science* 322, 1650–1655
- [2] Sampathkumar et al. (2014) *eLife* 3:e01967.
- [3] Louveaux et al., (2016) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, E4294–4303
- [4] Hervieux et al., (2015) *Curr. Biol.* 26, 1019–1028
- [5] Heisler, et al., (2010) *PLoS Biol.* 8(10):e1000516
- [6] Landrein et al., (2015) *eLife* 4, e07811 (2015).



## **SESSION 1**

**Développement, biosynthèse et propriétés des parois**

## L'imagerie dynamique et ratiométrique pour l'étude in vivo du pH apoplastique dans l'hypocotyle d'*Arabidopsis thaliana*

Fabien Miart, Bertrand Dubreucq, Herman Höfte and Samantha Vernhettes

INRA, UMR1318, Institut Jean-Pierre Bourgin, Saclay Plant Sciences, AgroParisTech, RD 10, F-78000 Versailles, France

Chez les plantes, l'élongation cellulaire et le développement des organes reposent sur l'existence d'une balance fine entre la pression de turgescence et l'intégrité de la paroi cellulaire [1]. Cette intégrité est intimement liée aux variations de pH au sein de la paroi, ce qui est supporté par la « théorie de la croissance acide » [2]. L'étude de l'allongement des poils racinaires chez *Arabidopsis* a mis en évidence que la croissance de type apicale se fait sous forme d'oscillations, elles-mêmes associées à des oscillations de pH à la pointe du poil racinaire [3]. Concernant l'hypocotyle, la croissance cellulaire est de type diffuse et également liée à des variations de pH apoplastique [4] bien que la régulation précise de ces variations reste à élucider. L'idée centrale de ces travaux est de caractériser les modulations fines du pH apoplastique lors de l'élongation cellulaire dans l'hypocotyle d'*Arabidopsis*, de l'échelle macroscopique à l'échelle subcellulaire, afin de mettre en évidence de potentiels micro-domaines de variation de pH et/ou des profils d'oscillations spécifiques. Pour répondre à cette problématique, nous avons couplé deux approches récentes en imagerie du vivant : les indicateurs de pH génétiquement encodés (ou nanosenseurs du pH) comme l'Apo-pHusion [5] et de l'imagerie dynamique par microscopie à épifluorescence, confocale et spinning disk. En parallèle, nous avons conçu par impression 3D deux systèmes permettant l'acquisition de longues séquences d'images sur des hypocotyles en cours de croissance soit à l'échelle macroscopique soit à l'échelle microscopique en concevant une cuve permettant d'immobiliser les hypocotyles et de réaliser des traitements en temps réel. Ces techniques nous ont permis de mettre en évidence pour la première fois des modulations localisées du pH apoplastique dans l'hypocotyle d'*Arabidopsis*. Des expériences sont en cours pour comprendre l'impact de différents traitements pharmaceutiques et de mutations affectant l'intégrité de la paroi cellulaire sur la dynamique du pH apoplastique.

### Références bibliographiques

- [1] H. Höfte (2015) *Plant and Cell Physiology*, 56, 224-231
- [2] D.L. Rayle and R.E. Cleland (1992) *Plant Physiology*, 99, 1271-1274.
- [3] G.B. Monshausen et al. (2007) *Proc. Natl Acad. Sci.*, 104, 20996-21001
- [4] M. Fendrych et al. (2016) *eLife*, 5:e19048
- [5] K.S.K Gjetting et al. (2012) *Journal of Experimental Botany*, 63, 3207-3218

### Mots-clés

apoplaste, pH, dynamique, ratiométrique, biosenseurs, *Arabidopsis*

## **LRR-extensins influence physical properties of cell walls by establishing a link between the cell wall and the plasma membrane**

Tohnyui Ndinyanka Fabrice<sup>a</sup>, Hannes Vogler<sup>a</sup>, Gautam Munglani<sup>a,b</sup>, Christian Draeger<sup>a</sup>, Christof Eichenberger<sup>a</sup>, Dimitri Felekis<sup>c</sup>, Paul Knox<sup>d</sup>, Brad Nelson<sup>c</sup>, Hans J. Herrmann<sup>b</sup>, Ueli Grossniklaus<sup>a</sup>, and Christoph Ringli<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich, Zurich, Switzerland*

<sup>b</sup> *Computational Physics for Engineering Materials, Institute for Building Materials, ETH Zurich, Zurich, Switzerland*

<sup>c</sup> *Institute of Robotics and Intelligent Systems, ETH Zurich – Mechanical and Process Engineering, Zurich, Switzerland*

<sup>d</sup> *University of Leeds, School of Biology, Leeds, UK*

Cell growth depends on the balance between turgor pressure as the driving force and the cell wall that resist this internal turgor pressure. We are using pollen tubes (PTs) as a single-cell model system to investigate the impact of changes in cell wall structures on cell growth properties. Micro-indentation using Cellular Force Microscopy was used to assess physical properties of PTs of the wild type and *lrx* mutants that are affected in LRR-extensins (LRXs), extracellular proteins that are involved in cell wall formation. Triple and quadruple mutants of PT-expressed LRX genes develop severe defects in tube growth. An efficient method was developed for the detailed analysis of Arabidopsis PTs by transmission electron microscopy, which revealed alterations in the cell wall ultrastructure and thickness in the *lrx* mutants compared with the wild type. These data were combined in an ameliorated finite-element model that allows to assess physical properties of the cell walls as well as the internal turgor pressure in the PTs and revealed that the defects in *lrx* mutant PT growth is caused by changes in the mechanical properties of the cell wall as well as changed turgor pressure. On the functional level, evidence is provided that the extracellular LRX proteins establish a link between the cell wall and the plasma membrane and are involved in membrane-associated processes which are crucial for proper development of the cell wall.

### **Mots-clés**

cell wall, LRX, Cellular Force Microscopy, turgor pressure, mechanics, TEM

## Nanoscale movements of cellulose microfibrils in primary cell walls

Tian Zhang<sup>a</sup>, Dimitrios Valvylonis<sup>b</sup>, Daniel M. Durachko<sup>c</sup>, Daniel J. Cosgrove<sup>c</sup>

<sup>a</sup>INRA-IJPB, Versailles 78000, France

<sup>b</sup>Department of Physics, Lehigh University, Bethlehem, PA 18015 USA

<sup>c</sup>Department of Biology and Center for Lignocellulose Structure and Formation, 208 Mueller Laboratory, Penn State University, University Park, PA 16802 USA

The growing plant cell wall is commonly considered to be a fibre-reinforced structure whose strength, extensibility and anisotropy depend on the orientation of crystalline cellulose microfibrils, their bonding to the polysaccharide matrix and matrix viscoelasticity. Structural reinforcement of the wall by stiff cellulose microfibrils is central to contemporary models of plant growth, mechanics and meristem dynamics. Although passive microfibril reorientation during wall extension has been inferred from theory and from bulk measurements nanometre-scale movements of individual microfibrils have not been directly observed. Here we combined nanometre-scale imaging of wet cell walls by atomic force microscopy (AFM) with a stretching device and endoglucanase treatment that induces wall stress relaxation and creep, mimicking wall behaviours during cell growth. Microfibril movements during forced mechanical extensions differ from those during creep of the enzymatically loosened wall. In addition to passive angular reorientation, we observed a diverse repertoire of microfibril movements that reveal the spatial scale of molecular connections between microfibrils. Our results show that wall loosening alters microfibril connectivity, enabling microfibril dynamics not seen during mechanical stretch. These insights into microfibril movements and connectivities need to be incorporated into refined models of plant cell wall structure, growth and morphogenesis.

### Mots-clés

nano-scale structure, microfibril movement, AFM

## The role of cell wall integrity signaling and mechanoperception in growth regulation

Martine Gonneau, Thierry Desprez, Rodnay Sormani, Marjolaine Martin, Julien Renou, Renaud Bastien, Alexis Peaucelle, Fabien Miart, Fan Xu, Samantha Vernhettes and Herman Höfte

*Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, RD10, 78026 Versailles Cedex France*

The walls of growing cells can be considered as fiber-gel networks, the rheology of which is regulated by cell wall-associated enzymes and modifying agents, but also by the delivery and incorporation of new cell wall polymers. Over the last decade it has been shown that wall rheology is precisely controlled during growth and morphogenesis through feedback signaling involving receptor kinases of the CrRLKL1 family. One key component is FERONIA (FER), a receptor for Rapid Alkalinisation Factor (RALF23), which is required for mechanosensing, intra-organ growth coordination (1, 2) and the regulation of PAMP-Triggered Immunity (PTI) (3). The closely-related receptor THE1 appears to sense the integrity of the cell wall since it triggers growth inhibition and stress responses upon cell damage (4). Here we show that THE1 is a receptor for another RALF-like peptide, which acts upstream of FER. We propose a conceptual framework for the regulation of growth, which integrates mechano-sensing, cell wall pH control and ROS production and which accounts for the balance between maintaining the rheological homeostasis during cell expansion and the elicitation of stress responses.

### Références bibliographiques

- [1] Höfte, H. (2015). *Plant Cell Physiol* 56, 224-231.
- [2] Bastien, R. et al (2016). *Plant J*, 88, 468-475.
- [3] Stegmann, M. et al (2017). *Science*, 355, 287-289.
- [4] Hematy, K. et al (2007). *Curr Biol* 17, 922-931.

### Mots-clés

cell wall integrity, mechanoperception, receptor kinases, CrRLKL1 family

## Defect in the expression of a pectin methylesterase triggers compensation mechanisms with consequent effects on cell wall mechanics

Fabien Sénéchal<sup>a</sup>, Olivier Habrylo<sup>a</sup>, Ludivine Hocq<sup>a</sup>, François Jobert<sup>a,b</sup>, Sophie Bouton<sup>a</sup>, Alexis Peaucelle<sup>c</sup>, Yves Assoumou Ndong<sup>a</sup>, Françoise Fournet<sup>a</sup>, Hervé Demailly<sup>b</sup>, Paulo Marcelo<sup>d</sup>, Alain Mareck<sup>e</sup>, Patrice Lerouge<sup>e</sup>, Brett Savary<sup>f</sup>, Herman Höfte<sup>c</sup>, Grégory Mouille<sup>c</sup>, Laurent Gutierrez<sup>b</sup>, Valérie Lefebvre<sup>a</sup>, Jérôme Pelloux<sup>a</sup>

<sup>a</sup> EA3900-BIOPI Biologie des Plantes et Innovation, Amiens, France.

<sup>b</sup> Centre de Ressources Régionales en Biologie Moléculaire Amiens, France.

<sup>c</sup> INRA, Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, Versailles, France.

<sup>d</sup> Plateforme d'Ingénierie Cellulaire & Analyses des Protéines ICAP, Amiens, France.

<sup>e</sup> Normandie Univ, Laboratoire Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA 4358, Mont-Saint-Aignan, France.

<sup>f</sup> Arkansas State University, Jonesboro, USA.

Changes in plant cell wall structure are key elements that control plant growth. However, the way it is spatially and temporally achieved remains poorly documented. Here we report biochemical and functional characterization of *PME32*, a pectin methylesterase strongly expressed in Arabidopsis dark-grown hypocotyl. We showed that *PME32* encodes an enzyme that has an acidic pH optimum. Mutants impaired in the expression of *PME32* displayed an increase in hypocotyl length that was related to a decrease in cell wall stiffness. In these mutants, an unexpected increase in total PME activity lead to increased demethylesterification of the cell wall pectins, which could induce changes in stiffness. This suggests that putative compensation mechanisms among the large PME and PME1 multigenic families can be triggered in the context of a *pme* mutant. We identified two PME1s, *PME14* and *PME17*, whose decrease in gene expression in the context of *pme32* mutant could play a key role in the observed increased PME activity. We further showed that the decrease in stiffness is unlikely to be related to the increased expression of pectin degrading enzymes polygalacturonases and pectin/pectate lyases. Other wall components might therefore play a role in the phenotype of the *pme32* mutants. This work highlights the complexity of the regulation of pectin structure affecting growth. Our model proposes the identification/existence of possible compensating isoforms in PME-mutant backgrounds as well as the probable interplay between cell wall components.

### Mots-clés

pectins, pectin methylesterase, hypocotyl, mechanics



## AtPGLR, une endopolygalacturonase d'*Arabidopsis thaliana* : caractérisation biochimique et rôle *in vivo*

Ludivine Hocq<sup>a</sup>, Olivier Habrylo<sup>a</sup>, Valérie Lefebvre<sup>a</sup>, Aline Voxeur<sup>b</sup>, Françoise Fournet<sup>a</sup>, Jean-Marc Domon<sup>a</sup>, Corinne Pau-Roblot<sup>a</sup>, et Jérôme Pelloux<sup>a</sup>

<sup>a</sup> EA3900 BIOPI-Université de Picardie Jules Verne, 33 Rue Saint Leu, 80039 Amiens, France

<sup>b</sup> UMR1318 IJPB INRA Centre de Versailles Grignon, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex, France

La paroi primaire des végétaux est une structure complexe composée essentiellement de polysaccharides. Les pectines représentent jusqu'à un tiers de la masse pariétale, et sont majoritairement représentés par les homogalacturonanes (HG), composées d'acides galacturoniques (Gal-A) reliés entre eux par des liaisons  $\alpha$ -(1-4). Lors des processus de croissance et de développement de la plante, les HG sont la cible d'enzymes de dégradation, les polygalacturonases (PGs, GH28), capables de cliver la liaison entre deux Gal-A pour former des oligogalacturonides. Cette modification de la structure des HG entraîne des modifications de la chimie et de la mécanique de la paroi. Deux types de PGs sont décrites : (i) les endopolygalacturonases (endoPG, EC 3.2.1.15) qui hydrolysent les liaisons à l'intérieur de la chaîne d'HG, et (ii) les exopolygalacturonases (exoPG, EC 3.2.1.67), qui hydrolysent le Gal-A terminal. Chez *Arabidopsis thaliana*, 68 gènes codant pour des PGs ont été identifiés. Dans cette étude, la caractérisation d'AtPGLR d'*Arabidopsis thaliana* est présentée. La production de la protéine en système hétérologue *Pichia pastoris* nous a permis de montrer que PGLR est une endopolygalacturonase, agissant préférentiellement à pH acide et ayant une affinité pour des substrats non méthylés. En parallèle, une approche de génomique fonctionnelle a permis de montrer (i) la localisation pariétale de la protéine, (ii) l'activité du promoteur au niveau des racines de la plante, et (iii) que la modification d'expression du gène AtPGLR entraîne des conséquences sur le développement du système racinaire chez *Arabidopsis thaliana*

### Mots-clés

pectine, polygalacturonase, *Pichia pastoris*

## Functional characterization of two *Arabidopsis* pectin acetylsterases AtPAE7 and AtPAE11 and their deletion mutants

Florian Philippe<sup>a</sup>, Maïté Lechevin<sup>a</sup>, Françoise Fournet<sup>a</sup>, Michelle Lequart<sup>a</sup>, Hervé Demailly<sup>b</sup>, Olivier Habrylo<sup>a</sup>, Solène Bassard<sup>a</sup>, Paulo Marcelo<sup>c</sup>, Marie-Jeanne Crépeau<sup>d</sup>, Sophie Bouton<sup>a</sup>, Estelle Bonnin<sup>d</sup>, Valérie Lefebvre<sup>a</sup>, Jérôme Pelloux<sup>a</sup>, Catherine Rayon<sup>a</sup>

<sup>a</sup> EA3900-BIOPI, Biologie des Plantes et Innovation Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France

<sup>b</sup> CRRBM - Bâtiment Serres Transfert, Université de Picardie Jules Verne, 33 Rue St Leu, 80039 Amiens, France

<sup>c</sup> Plateforme d'Ingénierie Cellulaire & Analyses des Protéines ICAP Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France

<sup>d</sup> INRA, UMR 1268 - Biopolymères - Interactions - Assemblages, BP 71627, 44316 Nantes

Pectin is a major component of the primary cell wall in dicotyledonous plants. The pectic polysaccharides are primarily composed of homogalacturonan (HG) and branched rhamnogalacturonan I (RGI). Pectic polysaccharides have a galacturonic acid (GalA) rich backbone. The GalA residues can be acetylated at positions O-2 and/or O-3 in both RGI and HG. The biological function of pectin acetylation is not well understood. Parceled studies have, however, shown that the degree of acetylation (DA) of pectin changes during plant growth and development and in response to environmental stress [1-3]. The DA can be modulated by pectin acetylsterase (EC 3.1.1.6; PAE) which belongs to CE13 family. In *Arabidopsis*, 12 putative *PAE* genes have been annotated [3].

To get new insights in the function of PAE, we studied two PAEs from *Arabidopsis*, AtPAE7 and AtPAE11 which have 83% amino acid identity. Using RT-qPCR analysis and promoter GUS reporter construct, we first showed that AtPAE7 and AtPAE11 are ubiquitously expressed. However *AtPAE11* seems to be more expressed in young tissues while *AtPAE7* is more abundant in mature tissues. AtPAE7-YFP and AtPAE11-YFP fusion protein localized to cell wall compartment. AtPAE7 and AtPAE11 were overexpressed in heterologous system and purified by affinity chromatography. The activity of recombinant AtPAE7 and AtPAE11 were characterized. The knock-out mutants lacking *AtPAE7* or *AtPAE11* expression displayed effects on root growth. PAE enzyme activity in these mutants will be discussed.

### Références bibliographiques

- [1] Pogorelko et al., Plant Signal Behav. 2013, 8.
- [2] Gou et al., Plant Cell. 2012, 24 :50-65.
- [3] de Souza et al., Planta, 2014, 240 : 1123-1138.

### Mots-clés

Cell wall, pectin acetylsterase (PAE), *Arabidopsis*, root, PAE enzyme activity, heterologous expression

## Control of plant development through Golgi localized GDP-L-Galactose transport

Julien Sechet, Soe Htwe and Jenny Mortimer

*Joint BioEnergy Institute, Lawrence Berkeley National Laboratory, 1 Cyclotron Rd. MS: 978-4121, Berkeley, CA 94720, USA.*

The JBEI Feedstocks division aims to understand cell wall complexity and to translate its knowledge in plant biomass engineering to improve plants for bioenergy production. My work focuses on the characterization of nucleotide sugar transporters, proteins that are key for provision of the nucleotide sugar substrates for cell wall biosynthesis to the correct sub-cellular compartment. The synthesis of non-cellulosic polysaccharides occurs in the Golgi apparatus but most of the substrates are synthesized in the cytosol. Therefore, we are investigating these nucleotide sugar transporters in order to understand the control of substrate availability for cell wall biosynthetic enzymes. The GONST (Golgi-localized nucleotide sugar transporter) protein family is predicted to transport GDP-sugars (GDP-D-mannose, GDP-D-glucose, GDP-L-fucose and GDP-L-galactose). They are related to one of the first nucleotide sugar transporter described in Arabidopsis, GONST1 a GDP-D-mannose transporter [1, 2, 3]. This work emphasized the importance of GONST1 in plant growth and development, since the *gonst1* mutant shows strong dwarfism and enhanced stress responses [3]. My project focuses on GONST3, one of the last uncharacterized members of this family.

To investigate the role of this protein *in planta*, RNAi silenced lines were produced, since null mutants were lethal. *GONST3* silenced lines exhibit strong growth phenotypes which included reduced rosette size and an impaired etiolation response. Since transporters for GDP-mannose and GDP-fucose have previously been identified, our primary hypothesis was that GONST3 was a GDP-L-galactose transporter. This sugar is present in one of the side-chains of the pectin Rhamnogalacturonan II (RGII), which forms boron-linked dimers in the plant cell wall. The growth phenotypes of *GONST3* RNAi lines could be complemented by the addition of borate to the plant growth medium. Loss of RGII L-galactose may alter the stability of this polysaccharide. To further confirm a role for GONST3 in GDP-L-galactose transport, we are now measuring RGII dimerization ratios, and testing whether the RGII specifically lacks the L-Galactose residue. Cytosolic GDP-L-Galactose is also required for the ascorbic acid biosynthesis pathway, and the *GONST3* RNAi lines accumulated ascorbate, suggesting that a loss of GONST3 makes more substrate available for this pathway. These results will increase understanding of cell wall properties and polysaccharide production. Furthermore, they will contribute to our ability to engineer plant development and environmental adaptability, a vital consideration in the production of sustainable, improved lignocellulosic biomass.

### Références bibliographiques

- [1] T.C. Baldwin et al. (2001) *The Plant Cell*, 13, 2283-2295.
- [2] M.G. Handford et al. (2004) *Mol. Gen. Genomics*, 272, 397-410
- [3] J.C. Mortimer et al. (2013) *The Plant Cell*, 25, 1881-1894

### Mots-clés

Nucleotide sugars, Pectin, Rhamnogalacturonan II, Golgi apparatus

## AtLTP2, a Lipid Transfer Protein dually localized in both the cell wall and plastids, is involved in cell wall-cuticle interface integrity

Adélaïde Jacq<sup>a</sup>, Yves Martinez<sup>b</sup>, David Landry<sup>a</sup>, Frédéric Domergue<sup>c</sup>, Vincent Burlat<sup>a</sup>, Elisabeth Jamet<sup>a</sup> and Valérie Pacquit<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Castanet Tolosan, France*

<sup>b</sup> *Plateforme Imagerie-Microscopie, CNRS, Université de Toulouse, UPS, Fédération de Recherche FR3450 - Agrobiosciences, Interactions et Biodiversité, Castanet-Tolosan, France*

<sup>c</sup> *Laboratoire de Biogenèse Membranaire, UMR 5200 CNRS Université de Bordeaux-INRA Bordeaux Aquitaine, Villenave d'Ornon.*

Plant non-specific Lipid Transfer Proteins (nsLTPs), initially defined by their capability of transferring lipids between lipid bilayers *in vitro*, constitute large multigene families involved in variable and complex physiological functions. However, the molecular mechanisms by which nsLTPs achieved these diverse functions remain unclear, probably due to functional redundancy [1]. AtLTP2, was previously found to be the only nsLTP member abundantly accumulated in the *Arabidopsis thaliana* etiolated hypocotyls cell wall proteome (among 79 members in *A. thaliana*) [2], thus this appeared as an interesting model to investigate its function. Moreover, *AtLTP2* (*At2g38530*) was shown to have an expression restricted to epidermal cells of aerial organs of dark-grown seedlings suggesting that *AtLTP2* could take part in the cuticle protective role [3]. The cuticle, a hydrophobic layer located at the external periclinal cell wall of the epidermal cells, indeed constitutes the first barrier to the aerial biotic and abiotic environment [4].

In agreement with cell wall proteomic studies, transient AtLTP2-TagRFP over-expression in *Nicotiana benthamiana* leaf epidermal cells resulted in its localization to the cell wall. But surprisingly AtLTP2-TagRFP was also located to plastids, indicating an original dual trafficking for a nsLTP, never described before. Interestingly, the mechanism of AtLTP2 transport into plastids was unconventional as AtLTP2, was targeted to the plastids through the secretory pathway [3]. Preliminary results of sub-cellular localization of truncated versions of AtLTP2 suggested that its tertiary structure was crucial for plastidial localization.

By reverse genetics, it was shown that the *atlt2-1* mutant displayed remarkable modifications in cuticle permeability. A deep disorganized ultra-structure at the cuticle-cell wall interface was observed but with only slight modifications in cuticular biochemical composition in comparison to wild type or complemented lines [3]. These results suggested that instead of the historical purported nsLTP lipid shuttling role across the cell wall, AtLTP2 could play a novel structural role by maintaining the accurate sealing between the hydrophobic cuticle and the hydrophilic underlying cell wall. By preserving the integrity of the cuticle-cell wall interface, AtLTP2 could act on the barrier function of the cuticle, thus limiting water loss.

The elucidation of the molecular mechanisms by which AtLTP2 establishes cell wall-cuticle adhesion and the exact function of the dual targeting will be challenging tasks in the future to better identify the main actors implicated in the homeostasis of this lipidized epidermal cell wall surface.

### Références bibliographiques

- [1] F. Liu et al. (2015) *J. Exp. Bot.*, 66, 5663-5681.
- [2] M. Irshad et al. (2008) *BMC Plant Biol.*, 8, 94.
- [3] A. Jacq et al. (2017) *Front. Plant Sci.*, 8, 263.
- [4] V. Fernandez et al. (2016) *Front. Plant Sci.*, 7, 427

### Mots-clés

*Arabidopsis thaliana*, AtLTP2, At2g38530, cell wall, cuticle, plastid, non-specific lipid transfer protein

## Occurrence of AGPs in brown algae and their role in the cell wall assembly and normal development of *Fucus* embryos

Cécile Hervé<sup>a</sup>, Amandine Siméon<sup>a</sup>, Murielle Jam<sup>a</sup>, Andrew Cassin<sup>b</sup>, Kim L. Johnson<sup>b</sup>, Armando A. Salmeán<sup>c</sup>, William G.T. Willats<sup>c</sup>, Monika S. Doblin<sup>b</sup>, Anthony Bacic<sup>b</sup>, Bernard Kloareg<sup>a</sup>

<sup>a</sup> CNRS/UPMC, UMR 8227 Integrative Biology of Marine Models, Station Biologique de Roscoff, CS 90074, 29688 Roscoff, France

<sup>b</sup> ARC Centre of Excellence in Plant Cell Walls, University of Melbourne, Melbourne, Australia

<sup>c</sup> School of Agriculture, Food and Rural Development, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom

Arabinogalactan proteins (AGPs) are highly glycosylated, hydroxyproline-rich proteins found at the cell surface of plants, where they form one of the most complex families of macromolecules found in plants. AGPs are proposed to be involved in a range of biological functions and many are specifically associated with plant development and reproduction. Brown algae are marine, multicellular, photosynthetic eukaryotes. Together with the oomycetes, diatoms and several protists, they belong to the phylum of Stramenopiles, unrelated to land plants and green algae (Chloroplastida). Brown algae share common evolutionary features with other multicellular organisms, including a carbohydrate-rich cell wall. They differ markedly from plants in their cell wall composition, and AGPs have not been reported in brown algae. However, our investigations showed the presence of chimeric AGP-like core proteins in this lineage. We report that the genome sequence of the brown algal model *Ectocarpus siliculosus* encodes AGP protein backbone motifs, in a gene context that differs considerably from what is known in land plants [1]. We showed the occurrence of AGP glycan epitopes in a range of brown algal cell wall extracts. We demonstrated that these chimeric AGP-like core proteins are developmentally regulated in embryos of the order Fucales and showed that AGP loss of function seriously impairs the course of early embryogenesis. Additionally, imaging studies, based on the use of our specific monoclonal antibodies towards a variety of sulfated fucans and alginate epitopes [2], show that the assembly of cell-wall polysaccharides is also altered [3]. In particular, our results indicate that AGPs influence alginate modelling and would therefore contribute to regulate wall rigidity. Our findings shine a new light on the role of AGPs in cell wall sensing and raise questions about the origin and evolution of AGPs in eukaryotes [1,4].

### Références bibliographiques

- [1] C. Hervé et al. (2016) *New Phytologist*. 209, 1428-1441.
- [2] T. Torode et al. (2015) *PLoS One*. 10(2), e0118366.
- [3] T. Torode et al. (2016) *Journal of Experimental Botany*, 67, 6089–6100.
- [4] P. Knox (2016) *New Phytologist*. 209, 1341-1343.

### Mots-clés

arabinogalactan proteins (AGPs), brown algae, *Fucus* embryo, monoclonal antibody, alginates, fucans, cell wall evolution

## Does mannan interact with arabinogalactan proteins and impact wheat endosperm development?

Yves Verhertbruggen<sup>a</sup>, Camille Alvarado<sup>a</sup>, Sylviane Daniel<sup>a</sup>, Axelle Boudier<sup>a</sup>, Mark Wilkinson<sup>b</sup>, Rowan Mitchell<sup>b</sup>, Fabienne Guillon<sup>a</sup>, Anne-Laure Chateigner-Boutin<sup>a</sup>, Luc Saulnier<sup>a</sup>

<sup>a</sup>INRA UR 1268 BIA, rue de la Géraudière, 44300 Nantes, France

<sup>b</sup>Rothamsted Research, West Common, Harpenden AL5 2JQ, United Kingdom

In wheat endosperm, the two major cell wall polysaccharides, arabinoxylans and beta-glucans, have been extensively studied. By contrast, mannan, the third most abundant polysaccharide, is still poorly documented. Nevertheless, this hemicellulosic polysaccharide might have a determinant role in wheat grain development since, in *Arabidopsis thaliana*, mutants with a reduced amount of mannan show an altered seed development. Our project aims to decipher the biochemical structure and the biological function of mannan. Currently, we are purifying this polysaccharide to determine its fine structure. Former studies have speculated that the class of mannan present in wheat endosperm was glucomannan. However, our preliminary data suggest that, in mature wheat endosperm, this class of hemicelluloses is only represented by short unsubstituted chains of 1,4 linked D-mannose residues. Co-precipitations and co-elutions of mannan with arabinogalactan-proteins (AGPs) suggest the two cell wall components might interact together in the cell walls of wheat endosperm. To confirm this, we are examining the possible presence of linkages in between mannan and AGPs. To study the biological function of mannan, we have studied its occurrence during wheat grain development. The detection of mannan using monoclonal antibodies show that the deposition of this hemicellulosic polysaccharide starts at an intermediate step of endosperm cellularization. Mutant lines targeting genes involved in the mannan synthesis are being generated to further investigate the biological function of mannan. Our current results raise questions regarding the structure of mannan in wheat endosperm, its possible interactions with other cell wall components and its contribution to cell wall formation.

### Mots-clés

Mannan, Arabinogalactan-proteins, Wheat Endosperm

## Genetic and chemical genomic dissection of the cell adhesion mechanisms in Plants

Stéphane Verger<sup>a</sup>, Henning Muehlenbeck<sup>b</sup>, Sophie Bouton<sup>c</sup>, Aline Voxeur<sup>b</sup>, Emilie Gineau<sup>b</sup>, Salem Chabout<sup>b</sup>, Jérôme Pelloux<sup>c</sup>, Grégory Mouille<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Laboratoire de Reproduction et Développement des Plantes, Université de Lyon, ENS de Lyon, UCBL, INRA, CNRS, 46 Allée d'Italie, 69364 Lyon Cedex 07, France*

<sup>b</sup>*Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, RD10, 78026 Versailles Cedex, France Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay Cedex, France*

<sup>c</sup>*BIOPI Biologie des Plantes et Innovation EA3900, Université de Picardie Jules Verne, 33 Rue Saint Leu, 80039 Amiens Cedex, France*

Cell to cell adhesion in plants is mediated by the cell wall and the presence of a pectin-rich middle lamella. However, we know very little about what actually controls the state of cell adhesion. We carried out a genetic and chemical genomic suppressor screen of cell adhesion defective mutants. The suppressor mutation affects a putative O-fucosyltransferase and altered the pectin related signaling pathway. We hypothesized that this O-fucosyltransferase directly affects the function of pectin sensing receptor-like kinases. Our results strongly suggest that cell adhesion is under the control of a feedback loop influenced by the state of the pectins in the cell wall. Such a mechanism could be necessary for the maintenance of the cell adhesion in order to deal with the cell wall remodeling occurring during growth and development (Verger et al, 2016). I will present the recent work we performed to better understand the molecular mechanisms underlying the control of cell adhesion in plants.

### Mots-clés

Cell Adhesion, Pectins

## Characterization of *Arabidopsis* pollen tube adhesion matrix using an enzymatic approach

Ferdousse Laggoun, Flavien Dardelle, Azeddine Driouich, Patrice Lerouge, Arnaud Lehner, Jean-Claude Mollet

EA4358 Laboratoire de Glycobiologie et matrice extracellulaire végétale, Université de Rouen, rue Lucien Tesnière, Mont Saint-Aignan

During sexual reproduction of flowering plants, pollen grains land on the stigma, rehydrate and produce pollen tubes that grow through the cell wall of the female transmitting tract tissue by perceiving different signals promoting their adhesion and guidance. This allows a correct delivery of the male gametes to the ovules and ensures the proper fertilization. The study aims in understanding this pollen tube adhesion process. An *in vitro* adhesion bioassay was developed in 96 well-plates based on the work developed on lily pollen tubes [1]. Briefly, the cell wall extracts were deposited in the wells and air dried forming a matrix. Several cell wall fractions sequentially extracted from *Arabidopsis thaliana* pistils were tested on their abilities to promote pollen tube adhesion. Among them, only the pectin-enriched fraction allowed pollen tube adhesion. In order to check if the pectin structure able to promote adhesion was specific of the female part, other sources of pectins (commercial pectins with different degrees of methylesterification [DM], pectin-enriched fractions from *Arabidopsis* leaves, seed mucilage ...) were tested. The data indicate that several fractions were also able to induce high rates of pollen tube adhesion suggesting the presence of similar adhesive structures in these extracts. Based on the monosaccharide compositions of the extracts, it was suggested that homogalacturonan (HG) and/or rhamnogalacturonan-1 (RG-1) were important pectin motifs for adhesion. In order to determine the minimal structure required for pollen tube adhesion, different enzyme treatments and size exclusion chromatography were performed on the pectin-enriched extracts. When the pectin-enriched fraction from *Arabidopsis* leaves were treated with an *endo*-polygalacturonase (PGase), adhesion was completely inhibited. In contrast, adhesion assays with PGase-treated lemon pectins with a DM of 85% which are less susceptible to PGase cleavage, allowed partial adhesion. Pectin treatment with an *endo*-arabinanase that removes arabinan side-chains of RG-1, slightly increases pollen tube adhesion. Moreover, the non-adherent seed mucilage extract, almost exclusively composed of RG-1 backbone, did not promote pollen tube adhesion. These data suggest that HG and not RG-1 is the most important structure for promoting the pollen tube adhesion. Other enzyme treatments are underway to determine more precisely the minimum structure (motifs and molecular weight) required to promote pollen tube adhesion.

### Références bibliographiques

[1] JC. Mollet et al. (2000) A lily stylar pectin is necessary for pollen tube adhesion to an *in vitro* stylar matrix. *Plant Cell*, 12, 1737-1749.

### Mots-clés

Adhesion, *Arabidopsis*, enzyme treatment, pectin, pollen tube,



**Couche G ou couche tertiaire : quel nom pour la couche interne des fibres du bois de tension ?**

Bruno Clair<sup>a</sup>, Annabelle Déjardin<sup>b</sup>, Gilles Pilate<sup>b</sup>

<sup>a</sup> *CNRS, EcoFoG, Kourou, France*

<sup>b</sup> *Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, INRA Val de Loire*

Le mécanisme moteur chez les angiospermes s'effectue grâce à un bois de nature différente appelé « bois de tension ». Le bois de tension se caractérise par des modifications importantes des fibres et notamment chez certaines espèces, la paroi secondaire est fortement modifiée avec l'apparition d'une couche dite gélatineuse (ou couche G) remplaçant la couche S3 et tout ou partie de la couche S2 de la paroi secondaire. Le nom de couche gélatineuse est proposé à la fin des années 1860 par Hartig (d'après [1] cité par [2]) à cause de son aspect gélatineux. En 1948, Wardrop et Dadswell [3], utilisent le terme « couche tertiaire » avant de l'abandonner plus tard. Ce nom de couche tertiaire avait déjà été utilisé pour la fibre de lin par Anderson en 1927[4]. Depuis quelques années, certains groupes [5,6] proposent à nouveau l'utilisation du terme « couche tertiaire » à la place de « couche G ». Est-ce vraiment correct ? Peut-on appeler la couche G, couche tertiaire ? L'objet de cette courte intervention est de présenter quelques contre-arguments sur cette appellation et d'ouvrir un débat de nomenclature.

**Références bibliographiques**

- [1] Sanio C (1860) *Botanische Zeitung* 18, 201-204
- [2] Potter M C (1904) *Annals of botany* 18, 121-140
- [3] Wardrop A B & Dadswell H E (1948) *Australian journal of scientific research, series B, Biological sciences* 1, 3-16
- [4] Anderson D B (1927) *American Journal of Botany* 14, 187-211
- [5] Gorshkova T, et al. (2015) *Plant Physiol* 169: 2048-2063
- [6] Mellerowicz E J & Gorshkova T A (2012) *Journal of Experimental Botany* 63, 551-565

**Mots-clés**

couche G, couche tertiaire, bois de tension

## L'imagerie spectrale en spectroscopie ATR-FTIR, une méthode intéressante pour la caractérisation fine du bois de peuplier à l'échelle cellulaire

Paul Marchand, Camille Grand-Perret, Vincent Segura, Gilles Pilate, Annabelle Déjardin, Françoise Laurans

*Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, INRA Val de Loire*

Le peuplier est une essence très appréciée dans l'industrie forestière française. De par sa forte croissance en biomasse et ses propriétés mécaniques et chimiques, son bois est utilisé essentiellement en déroulage et en sciage (fabrication d'emballages légers, contreplaqué) ou alternativement, comme source d'énergie (plaquettes forestières, biocarburants de seconde génération – en cours de développement-). Le bois de peuplier est un bois hétéroxylé, qui présente différents types cellulaires (fibres, vaisseaux et rayons parenchymateux) impliqués dans le soutien mécanique, la conduction et le stockage des nutriments [1]. La structure du bois de Peuplier est variable : par exemple, face à certaines contraintes environnementales, l'arbre produit un bois dit de tension, caractérisé par la présence de fibres G, présentant une couche surnuméraire d'aspect gélatineux, très riche en cellulose [2]. Alternativement, par génie génétique, il est possible de modifier les propriétés mécaniques et chimiques du bois. Pour pouvoir prendre en compte l'hétérogénéité tissulaire qui existe au sein du bois, nous avons développé une approche de spectroscopie infra-rouge par ATR-FTIR liée à de l'imagerie spectrale. La technique de spectroscopie utilisée repose sur la vibration des liaisons chimiques entre les différents atomes des molécules organiques [3]. L'ATR-FTIR permet à la fois d'obtenir des images spectrales et les spectres d'absorbance correspondant aux images. L'imagerie spectrale met en évidence la présence de couches G dans les fibres de bois de tension, dont le profil spectral est très différent de celui des parois secondaires. Cette différence s'explique par les différences de composition entre ces deux types de parois. Ces premiers résultats sont similaires aux travaux de Olsson et al. [4]. Des outils d'analyses supplémentaires ont été mise en place tels que l'Analyse en Composantes Principales (ACP) pour confirmer ces premiers résultats et permettre, de manière plus précise, de détecter des différences dans les données spectrales. Utilisé également chez des peupliers transgéniques dont la lignification a été altérée, les résultats de l'ACP ont pu discriminer ces individus d'individus du génotype sauvages. D'autres études sont actuellement mises en place pour caractériser plus finement ces différences. L'ATR-FTIR est une méthode intéressante pour discriminer différents individus entre eux mais aussi une méthode prometteuse pour permettre une caractérisation fine des différents types cellulaires du bois.

### Références bibliographiques

- [1] M-C. Trouy (2015) Anatomie du bois: Formation, fonctions et identification. Editions Quae; 186 p
- [2] G. Pilate et al. (2004) C.R.Biol., 327(9–10), 889–901.
- [3] D. Bertrand et al. (2006) "Chapitre 2 : Introduction à la spectroscopie infrarouge," in : La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, 2ème édition. Tec & Doc Lavoisier. 31-74p.
- [4] A-M. Olsson et al. (2011) Planta., 233(6), 1277–86.

### Mots-clés

Spectroscopie ATR-FTIR, imagerie spectrale, parois cellulaires, bois, Peuplier

## Influence de l'acide jasmonique sur la lignification de l'hypocotyle de chanvre

Marc Behr <sup>a,b</sup>, Sylvain Legay <sup>a</sup>, Eva Žižková <sup>c</sup>, Václav Motyka <sup>c</sup>, Petre I. Dobrev <sup>c</sup>, Audrey Lenouvel <sup>a</sup>, Cédric Guignard <sup>a</sup>, Stanley Lutts <sup>b</sup>, Jean-Francois Hausman <sup>a</sup>, Gea Guerriero <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Environmental Research and Innovation Department, Luxembourg Institute of Science and Technology, Esch-sur-Alzette, Luxembourg;*

<sup>b</sup> *Groupe de Recherche en Physiologie Végétale, Earth and Life Institute-Agronomy, Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium;*

<sup>c</sup> *Institute of Experimental Botany, The Czech Academy of Sciences, Prague, Czechia.*

Le chanvre (*Cannabis sativa* L.) est une plante à fibre utilisée dans l'industrie textile et la construction. Nous montrons que les principaux processus moléculaires accompagnant la croissance secondaire et la lignification de l'hypocotyle de chanvre correspondent à une augmentation de la concentration en acide jasmonique et en isoleucine de jasmonate. Des analyses du transcriptome, de la lignine et des phytohormones ont été réalisées sur des hypocotyles de 6 à 20 jours après semis. Les gènes impliqués dans le dépôt de la cellulose (cellulose synthases de la paroi secondaire), la biosynthèse des monolignols (*CAD*, *COMT*, *CCoAOMT*) et la polymérisation de la lignine (laccase, peroxydase de classe III) sont plus exprimés dans les hypocotyles de 15 et 20 jours tandis que la teneur maximale en jasmonates bioactifs est observée 15 jours après le semis. La teneur en lignine augmente linéairement au cours du temps; des différences en termes de composition monomérique sont observées. Les jeunes hypocotyles sont caractérisés par une teneur plus haute en *p*-hydroxybenzaldehyde (unité H) et le ratio syringil / guaiacyl augmente au fur et à mesure du développement. Cette évolution est mise en perspective avec les activités laccase et peroxydase *in situ* sur des coupes microscopiques d'hypocotyles de 15 et 20 jours. L'influence de l'acide jasmonique sur la lignification a été étudiée plus en détail en appliquant ce régulateur de croissance sur des hypocotyles de 15 jours. L'acide jasmonique augmente l'expression de certains gènes impliqués dans la lignification [1] et favorise la croissance secondaire en stimulant l'activité cambiale [2]. Trois jours après le traitement, une augmentation de la teneur en lignine est observée, ainsi qu'une augmentation du diamètre de l'hypocotyle. La composition monomérique de la lignine a été évaluée par oxydation au nitrobenzène et par pyrolyse couplée à une séparation par chromatographie gazeuse et détection par spectromètre de masse. Les expressions de gènes impliqués dans la lignification (biosynthèse des monolignols) et la croissance secondaire (facteurs de transcription) ont été déterminées par PCR quantitative sur des hypocotyles 1 à 5 jour(s) après application d'acide jasmonique. Des analyses transcriptomiques et métabolomiques seront réalisées sur une sélection d'échantillons.

### Références bibliographiques

[1] L. Pauwels et al. (2008), PNAS, 105, 1380-1385.

[2] E. Sehr et al. (2010), Plant J., 63, 811-822.

### Mots-clés

Chanvre, paroi, lignine, phytohormone, transcriptomique.

**Sweet talk to phenylpropanoids may prevent their incorporation in lignins**

Julien Le Roy<sup>a</sup>, Brigitte Huss<sup>a</sup>, Anne Creacha<sup>a</sup>, Coralie Bompard<sup>a</sup>, Marianne Delporte<sup>b</sup>, David Gagneul<sup>b</sup>, Simon Hawkins<sup>a</sup> and Godfrey Neutelings<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Univ. Lille, CNRS, UMR 8576 – UGSF – Villeneuve d’Ascq – France

<sup>b</sup> Univ. Lille, Institut Charles Viollette – Villeneuve d’Ascq – France

Lignification of plant cell walls requires the biosynthesis of high levels of hydroxycinnamic derivatives that have potential deleterious effects on the plant cells themselves. In order to limit the contact between these molecules and the metabolic machinery present in the cytoplasm, plant cells have developed different regulatory mechanisms that are still not completely understood. The transfer of a glycosyl moiety to these molecules has previously been shown to change their bioactivity, solubility and subcellular localization. The synthesis of these glucosides is controlled by specific UDP-glycosyltransferases (UGTs, CAZy family 1 GTs) that can produce glycosyl conjugates from most of the hydroxycinnamic acids, aldehydes and alcohols. We are currently evaluating the potential cross-talk between the metabolic channels leading to the production of glycosylated or aglycone intermediates of the lignin biosynthetic pathway in the stems of flax (*Linum usitatissimum*) plants. Flax stems contain both externally-positioned, long fiber cells with thick secondary cell walls containing very low amounts of lignin, as well as internal lignified xylem tissues that show a more classical lignification pattern. The hypolignification of flax fibers is associated with an accumulation of free mono- and oligo-lignol glycosylated compounds, which suggests a possible relation between these compounds and lignin. Several candidate genes were identified and further characterized by different approaches including transcriptomics, recombinant protein production and transgenesis. In parallel, we also evaluated the impact of environmental modifications on *Arabidopsis* UGT mutants to gain a better understanding of their role in the general physiology of the plant.

**Mots-clés**

lignin, UGTs, flax, glycosylation

## Functional characterisation of PtaUGT72E1 during development, growth and lignification in poplar

Speeckaert N.<sup>a</sup>, Baldacci-Cresp F.<sup>a</sup>, Twyffels L.<sup>b</sup>, Le Roy J.c, Van Acker, R.,<sup>d</sup> Creach A.<sup>c</sup>, Huss B.<sup>c</sup>, Mol A.<sup>a</sup>, Mahamadou Adamou N.<sup>a</sup>, El Jaziri M.a, Boerjan W.<sup>d</sup>, Neutelings G.<sup>c</sup> and Baucher M.<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université libre de Bruxelles, Gosselies, Belgium

<sup>b</sup>Center for Microscopy and Molecular Imaging-CMMI, Université libre de Bruxelles, Gosselies, Belgium

<sup>c</sup>UMR 8576-Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, Université de Lille 1, Lille, France

<sup>d</sup>Department of Plant Systems Biology, Vlaams Instituut voor Biotechnologie, Gent, Belgium.

Monolignols are the precursors of essential compounds involved in plant growth and development processes and lignin is the most abundant of these compounds. Lignin polymer, further to its incorporation into the cell wall, has a role in plant support and allows, thanks to its hydrophobic character, the conduction of water and solutes in the xylem. Currently, our knowledge on the regulation mechanisms of the monolignol biosynthesis and the associated metabolic pathways (lignification, lignan biosynthesis ...) remains limited. The glycosylation of monolignols and their storage in the vacuole is proposed as a mechanism for monolignol homeostasis. In *Arabidopsis thaliana*, it has been shown that glycosyltransferases of the 72E family (UGT72E) glycosylate monolignols. The role of the UGT72E has not been investigated yet in woody plants that produce large amounts of lignin. The purpose of this work is to gain a better knowledge on the role of UGT72E in *Populus tremula x P. alba* (clone INRA 717-1B4) by characterizing PtaUGT72E1. Immunolocalization indicates that PtaUGT72E1 is associated with the cambium and young developing xylem and phloem. At the subcellular level, the protein is associated with the endoplasmic reticulum, the nucleus and the plasma membrane. The overexpression of PtaUGT72E1 in poplar seems to increase the glycosylation of coniferyl alcohol, suggesting a specificity of PtaUGT72E1 for this substrate. Finally, we have shown that the alteration of PtaUGT72E1 expression (overexpression and down-regulation) affects cell wall lignification in both phloem and xylem. These results highlight a possible role for PtaUGT72E1 in the regulation of the lignification of vascular tissues in poplar.

Acknowledgements: N.S is a PhD student recipient of a FRIA grant of the FRS-FNRS. F.B. is a postdoctoral researcher of the FRS-FNRS. M.B. is a senior research associate of the FRS-FNRS.

### Mots-clés

Poplar, UGT72E, monolignol glycosylation

**Developing pericarp of maize: a model to study arabinoxylan synthesis and feruloylation**

Anne-Laure Chateigner-Boutin<sup>a</sup>, José Juan Ordaz-Ortiz<sup>a,b</sup>, Camille Alvarado<sup>a</sup>, Brigitte Bouchet<sup>a</sup>, Sylvie Durand<sup>a</sup>, Yves Verhertbruggen<sup>a</sup>, Yves Barrière<sup>c</sup> and Luc Saulnier<sup>a</sup>

<sup>a</sup> BIA, INRA, 44316, Nantes, France

<sup>b</sup> National Laboratory of Genomics for Biodiversity (Langebio-CINVESTAV), Mass Spectrometry and Metabolomics Lab, 36821, Irapuato, Guanajuato, Mexico

<sup>c</sup> UGAPF, INRA, 86600, Lusignan, France

Cell walls are comprised of networks of entangled polymers that differ considerably between species, tissues and developmental stages. The cell walls of grasses, a family that encompasses major crops, contain specific polysaccharide structures such as xylans substituted with feruloylated arabinose residues. Ferulic acid is involved in the grass cell wall assembly by mediating linkages between xylan chains and between xylans and lignins. Ferulic acid contributes to the physical properties of cell walls, it is a hindrance to cell wall degradability (thus biomass conversion and silage digestibility) and may contribute to pest resistance. Many steps leading to the formation of grass xylans and their cross-linkages remain elusive. One explanation might originate from the fact that many studies were performed on lignified stem tissues. Pathways leading to lignins and feruloylated xylans share several steps, and lignin may impede the release and thus the quantification of ferulic acid. To overcome these difficulties, we used the pericarp of the maize B73 line as a model to study feruloylated xylan synthesis and crosslinking. Using Fourier-transform infra-red spectroscopy and biochemical analyses, we show that this tissue has a low lignin content and is composed of approximately 50% heteroxylans and approximately 5% ferulic acid. Our study shows that, to date, maize pericarp contains the highest level of ferulic acid reported in plant tissue. The detection of feruloylated xylans with a polyclonal antibody shows that the occurrence of these polysaccharides is developmentally regulated in maize grain. We used the genomic tools publicly available for the B73 line to study the expression of genes within families involved or suggested to be involved in the phenylpropanoid pathway, xylan formation, feruloylation and their oxidative crosslinking. Our analysis supports the hypothesis that the feruloylated moiety of xylans originated from feruloylCoA and is transferred by a member of the BAHD acyltransferase family. We propose candidate genes for functional characterization that could subsequently be targeted for grass crop breeding [1].

**Références bibliographiques**

[1] A.-L. Chateigner-Boutin et al. (2016) *Frontiers Plant Science* 7, 1476.

**Mots-clés**

grass cell walls; maize grain; arabinoxylan synthesis and feruloylation

## New auxin transcription factors regulating lignified secondary cell wall formation

Hua Cassan-Wang<sup>a</sup>, Hong Yua, Zhengrong Yao<sup>a</sup>, Mingjun Liu<sup>a</sup>, Lydie Lemonnier<sup>b</sup>, Dominique Saint-Martin<sup>b</sup>, Julien Pirrello<sup>b</sup>, Mondher Bouzayen<sup>b</sup> and Jacqueline Grima-Pettenati<sup>a</sup>

<sup>a</sup> LRSV, UMR5546 Université Toulouse III /CNRS, 31326 Castanet Tolosan, France. wang@lrsv.upstlse.fr

<sup>b</sup> GBF UMR990 ENSAT-INP Toulouse 31320 Castanet Tolosan, France

Wood, also called secondary xylem, draws attention worldwide for its pivotal role in economy and environment. Wood is made of lignified secondary cell walls whose structure and composition determine wood end-uses. SCW formation is tightly regulated both by developmental signals such as hormones and by environmental stimuli. Auxin is known to regulate wood formation, but the molecular mechanisms involved in this regulation remain obscure. With the aim to identify key auxin regulators in wood formation, we decided to focus on the Aux/IAA and ARF families, two major components of the auxin-signaling pathway. Taking advantage of the availability of the *Eucalyptus grandis* genome [2], the most planted hardwood tree in the world, we performed a genome-wide survey of the members of these two transcription factors families. We then combined comparative phylogenetic analysis and large-scale gene expression studies in a large panel of organs, tissues and environmental conditions to identify the candidates the most likely involved in the regulation of wood formation [3, 4]. We used reverse genetic approaches to investigate the function of these candidates. As the transformation of *Eucalyptus* is both time and space consuming and not a routine procedure, we first used *Arabidopsis* that develops wood like cells in the basal part of inflorescence stems and in hypocotyls of adult plant [1]. Up to now, we obtained interesting xylem phenotypes when overexpressing three genes (*IAA9*, *IAA4* and *IAA20*) in *Arabidopsis*. Overexpression of *EgrIAA4m* (mutated version of *EgrIAA4* encoding stabilized protein) strongly inhibited lignification of interfascicular fiber cells [4]. Overexpression of *EgrIAA9Am* promoted the development of vessels while dramatically inhibiting the formation or maturation of fiber cells. *EgrIAA20* overexpressing transgenic plants showed severe inhibition of fibers development. These phenotypes strongly support that these genes are key auxin-dependent regulators during formation of xylem in *Eucalyptus*. To further characterize these genes as well as other candidates, we decided to use tomato as a novel system to investigate the role of auxin in xylem development. In contrast to *Arabidopsis*, tomato present a true secondary growth with the development of secondary xylem. A large panel of genomic resources are available for tomato including a unique local collection of mutants affected in auxin signaling (over and down regulated Aux/IAA and ARF genes). We are currently performing histochemical analyses to identify and characterize mutant lines showing alteration in secondary cell wall development of xylem cells. The results of this screening will be discussed.

### Références bibliographiques

- [1] Chaffey N, et al. 2002. *Physiol Plant* 114(4): 594-600.
- [2] Myburg AA, et al. 2014. *Nature* 510(7505): 356-362.
- [3] Yu H, et al. 2014. *PLoS One* 9(9): e108906.
- [4] Yu H, et al. 2015. *Plant Cell Physiol* 56(4): 700-714.

### Mots-clés

Secondary cell wall, auxin, Aux/IAA, wood formation, xylem, *Eucalyptus*, tomato



## **SESSION 3**

**Utilisation des parois :  
biomasse, bioénergie,  
matériaux, aliments, santé**



## **L'imagerie multispectrale en macrofluorescence, une approche prometteuse pour identifier l'origine tissulaire de particules dans des broyats provenant de tiges de graminées**

Barron C<sup>b</sup>, Corcel M<sup>a</sup>, Guillon F<sup>a</sup>, Devaux M-F<sup>b</sup>

<sup>a</sup> UR 1268 BIA, INRA, Rue de la Géraudière, 44 316 Nantes, France

<sup>b</sup> UMR 1208 IATE, INRA, 2 Place Pierre Viala, 34 000 Montpellier, France

La biomasse lignocellulosique est un matériel hétérogène constitué de différents organes végétaux qui eux-mêmes sont composés de tissus incluant différents types cellulaires. La composition chimique, l'organisation et la proportion des différents tissus influent sur les valeurs d'usage de la biomasse. Optimiser les procédés de transformation de la biomasse nécessite de prendre en compte l'hétérogénéité de la biomasse et de comprendre comment les différents tissus se comportent lors des procédés. Les tissus dans des coupes d'organes peuvent être facilement identifiés sur des critères morphologiques ou par leur réactivité vis-à-vis de colorants. Dans des échantillons déstructurés sous forme particulaire, l'identification des tissus est plus délicate. L'objectif du projet était d'évaluer l'intérêt de l'imagerie multispectrale en fluorescence pour discriminer différents types cellulaires ou tissus dans les graminées en se basant sur les propriétés d'autofluorescence des composés phénoliques des parois cellulaires. Le but final est d'identifier l'origine tissulaire de particules dans des broyats en ne s'appuyant que sur les propriétés d'autofluorescence. L'entrenœud sous épi de la tige de maïs a été utilisé comme modèle d'organe. Le microscope à fluorescence a été choisi car il permet d'acquérir rapidement des images multispectrales avec champ de vue relativement large de l'ordre du cm<sup>2</sup> et avec une bonne résolution spatiale (1 pixel = 2,67 x 2,67 μm<sup>2</sup>). Des images multispectrales de coupes d'entrenœuds, et de tissus isolés et broyés ont été acquises. Le modèle de prédiction a été construit à partir d'une classification non supervisée des pixels de 40 images de coupes d'entrenœuds de 10 tiges d'un même génotype afin de prendre en compte sans a priori toute la variabilité de fluorescence des tissus. Le grand nombre de pixels a conduit à développer une méthode de classification multiéchelle basée sur la méthode des K-means en utilisant des pyramides d'images. Le modèle a permis de discriminer les principaux tissus constitutifs de la tige : parenchymes lignifiés et non lignifiés, gaines de sclérenchyme des faisceaux dans la moelle et dans l'écorce, épiderme, fibres de xylème. A chacun de ces tissus correspond des profils d'intensité de fluorescence qui se retrouvent également dans les poudres analysées, suggérant que l'imagerie multispectrale basée sur l'autofluorescence des parois est une approche prometteuse pour identifier l'origine tissulaire des particules dans des poudres complexes.

### Mots-clés

multispectral image analysis, cell wall autofluorescence, grasses, chemometry, histology

## Cartographies paramétriques de la morphologie cellulaire de tissus végétaux par granulométrie en niveaux de gris

David Legland, Marie-Françoise Devaux, Fabienne Guillon

*UR1268 Biopolymers, Interactions and Assemblies, INRA, Nantes*

Les propriétés d'usage des végétaux, notamment leur dégradabilité par des processus enzymatiques, dépendent en grande partie de leur composition chimique, mais aussi de la morphologie cellulaire ainsi que de l'organisation spatiale des différents tissus qui les composent. Les techniques d'imagerie (microscopie, macroscopie) permettent d'observer la morphologie des cellules ou des tissus à différentes échelles représentatives. S'il est possible de quantifier la morphologie cellulaire dans une image représentative, peu d'outils existent pour cartographier les variations de morphologie en fonction de la position dans la coupe ou dans un organe. Nos précédents travaux ont permis de décrire les variations sous la forme de profils en fonction de la distance au bord de la structure étudiée [1][2][3].

Nous présentons ici une démarche de cartographie paramétrique de la morphologie cellulaire dans des tissus, qui permet de quantifier de manière automatisée la taille des cellules à partir d'images acquises en macroscopie, et de représenter les variations de taille à l'échelle d'une coupe. La morphologie cellulaire est quantifiée en utilisant la granulométrie par morphologie mathématique, et en calculant une taille caractéristique à partir de la courbe granulométrique [2][4]. Afin de localiser la mesure de taille, la région d'intérêt correspondant à la coupe est partitionnée en un grand nombre de régions plus petites. Nous avons pour cela mis en œuvre un algorithme de Voronoï centroïdal contraint dans le contour de la coupe [5]. Après convergence de l'algorithme, les régions obtenues forment une partition régulière de la région d'intérêt de départ. Le calcul des courbes de granulométrie est alors adapté pour calculer les variations de niveaux de gris dans chaque région de la partition, et estimer une taille caractéristique des cellules pour chaque région.

Une cartographie paramétrique est finalement construite en associant à chaque région d'intérêt la valeur de la taille moyenne des structures (ici des cellules) mesurée dans la région d'intérêt. Les mesures obtenues peuvent ainsi être comparées avec des images obtenues par coloration histochimique, des images obtenues à une résolution différente, ou des cartographies de composition chimique.

### Références bibliographiques

- [1] M.F. Devaux et al. (2008) *Postharvest Biol. Technol.*, 47, 199-209
- [2] M.F. Devaux MF and D. Legland (2014) *Microscopy: advances in scientific research and education*. Formatex Research Center, 681-688
- [3] D. Legland et al. (2012) *J. Microsc.*, 247, 78-93.
- [4] P. Soille (2003) *Morphological Image Analysis*.
- [5] Q. Du et al. (1999) *SIAM Review*, 41, 637-676

### Mots-clés

morphologie cellulaire, histologie quantitative, dégradabilité,

## Mise au point et validation d'un procédé miniaturisé pour le criblage à haut débit du potentiel de saccharification de biomasses lignocellulosiques : Application sur des clones de peuplier

Nassim Belmokhtar<sup>a,b</sup>, Vincent Segura<sup>a</sup>, Brigitte Chabbert<sup>c</sup>, Nathalie Boizot<sup>a,b</sup>, Kevin Ader<sup>a,b</sup>, Jean-Charles Bastien<sup>a</sup>, Catherine Bastien<sup>a</sup>, Jean Paul Charpentier<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> INRA, UR 0588 AGPF, 45075 Orléans, France

<sup>b</sup> INRA, plateforme régionale GénoBois, 45075 Orléans, France

<sup>c</sup> INRA, UMR 0614 FARE, 51100 Reims, France

L'exploration du potentiel de saccharification d'une large gamme de biomasses lignocellulosiques est l'une des clés pouvant garantir la pérennité de la filière de production de bioéthanol de seconde génération. En effet, l'identification des candidats les moins récalcitrants issus des programmes d'améliorations variétales peut permettre de réduire considérablement les coûts de production. Le criblage de ces biomasses devant être réalisé dans des conditions expérimentales proches du procédé de production utilisé au niveau industriel, nous avons développé un outil permettant de réaliser les étapes de prétraitement et de saccharification en microplaques 96-puits afin d'étudier le potentiel de saccharification de la biomasse en absence et en présence d'un prétraitement hydrothermique, s'inspirant du test développé par Selig et al. au NREL [1,2]. La quantité de glucose cellulosique libéré après hydrolyse enzymatique en présence de quantités saturantes d'enzymes cellulolytiques permettra de déterminer le potentiel intrinsèque de chaque variété.

Notre étude du potentiel de saccharification de biomasses de peuplier hybride (*Populus deltoides x trichocarpa*) a révélé un impact significatif du prétraitement sur la variabilité de potentiel de conversion de la fraction cellulosique. En effet, les quantités de glucose cellulosique libéré variaient entre 64 et 98 mg.g-1 MS sans prétraitement et entre 182 et 375 mg.g-1 MS après prétraitement hydrothermique. De plus, cette approche comparative nous a permis de démontrer la meilleure digestibilité enzymatique des biomasses de peupliers cultivés en Taillis à Courte Rotation (TCR) en comparaison avec une culture en Taillis à Très Courte Rotation (TTCR) et dans quelle mesure celle-ci dépendait de l'étape de prétraitement. Des corrélations du potentiel de saccharification de chaque génotype avec la structure chimique des parois ont été établies, apportant des éléments sur les déterminants de la récalcitrance de la biomasse. La mise au point de cet outil fiable et précis et relativement modulable ouvre la voie à une large possibilité d'applications pour apprécier l'impact de la variabilité biochimique entre différentes biomasses sur leur éventuelle valorisation en bioraffinerie.

Remerciements : ce travail a été soutenu par BPI France dans le cadre du projet R&D Futurool et a été réalisé en étroite collaboration avec Steve Decker du NREL, USA.

### Références bibliographiques

- [1] Belmokhtar N et al. (2017). *Frontiers in Plant Science*, 8:740 (in press).
- [2] Selig, M. J. et al. (2010) *Industrial Biotechnology* 6, 104-111.

### Mots-clés

Saccharification, prétraitement, criblage haut-débit, cellulose, cellulases, biomasse lignocellulosique, peuplier, TTTCR, TCR

## Facteurs histologiques et biochimiques expliquant les variations de la dégradabilité de paroi chez le maïs et impact des conditions d'irrigation

F. EL Hage<sup>a,b</sup>, M.-P. Jaquemot<sup>a</sup>, Y. Griveau<sup>a</sup>, N. Borrega<sup>a</sup>, B. Dubreucq<sup>a</sup>, D. Legland<sup>c</sup>, A. Baldy<sup>a</sup>, V. Méchin<sup>a</sup> and M. Reymond<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318 INRA-AgroParisTech, INRA Centre de Versailles-Grignon, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles, France ;

<sup>b</sup> Ecole Doctorale Sciences du Végétal, Bat. 360, Université Paris-Sud, 91405 Orsay, France ;

<sup>c</sup> INRA, UR1268 Biopolymères, Interactions et Assemblages, BP 71627, F-44316 Nantes, France

L'utilisation d'énergie fossile est majoritairement responsable de la production de gaz à effet de serre [1] et les ressources fossiles sont limitées. Il est donc nécessaire de se tourner vers des sources de carbone renouvelable non alimentaire tel que celui contenu dans la biomasse végétale. La dégradabilité de la biomasse est principalement limitée par la dégradabilité des parois et afin de l'améliorer il est nécessaire de comprendre quels facteurs expliquent cette limitation de dégradabilité. La teneur en lignine est connue pour être un facteur diminuant fortement la dégradabilité de paroi [2]. Chez les graminées, les acides férulique et p-coumarique limitent aussi la dégradabilité de paroi [3, 4]. Cependant, si la biochimie de la paroi permet d'expliquer une majeure partie des variations de la dégradabilité de paroi, il est difficile de réduire la teneur de certains composés comme la lignine sans impacter lourdement l'intégrité et les propriétés agronomiques des plantes. D'autre part plusieurs études ont montré que l'organisation tissulaire joue un rôle dans les variations de dégradabilité et suggèrent ainsi l'importance de la répartition de la lignification [5, 6, 7]. Enfin dans un contexte de réchauffement climatique où l'agriculture essaye de diminuer ses intrants, la réduction de l'apport en eau aux cultures est une question très actuelle.

Dans cette étude, au sein d'un panel de 11 lignées de maïs, nous nous sommes focalisé sur i) la part d'explication des facteurs biochimiques et histologiques dans les variations de la dégradabilité de paroi et sur ii) l'impact du déficit hydrique sur l'ensemble de ces facteurs. Pour cela, nous avons développés deux outils hauts débits: i) la caractérisation histologique sur coupes d'entrenœuds de maïs et ainsi pu quantifier 19 caractères histologiques (cf poster V. Méchin); ii) la prédiction des données biochimiques de l'entrenœud de maïs par des équations NIRS construites au sein de l'équipe pour quantifier jusqu'à 13 caractères biochimiques de composition et de structure pariétale chez l'entre-nœud de maïs (cf poster M. Reymond). La quantification de ces facteurs histologiques et biochimiques nous a permis d'étudier leurs relations avec la dégradabilité de paroi et l'impact du déficit hydrique sur ces caractères. Nous montrons ici que la combinaison de variables histologiques permet de rendre compte de 68% des variations de dégradabilité. De plus il apparaît que le déficit hydrique entraîne au sein des tiges une diminution de la surface lignifiée, ainsi qu'une diminution de la teneur en lignine et une augmentation de la dégradabilité de paroi. L'impact que certains types tissulaires ont dans les variations de la dégradabilité de paroi nous permet d'envisager des pistes d'investigations plus précises sur les liens histologiques et biochimiques avec la dégradabilité.

### Références bibliographiques

- [1] GIEC, Meyer, L. A. (2015), p 5.
- [2] Jung, HG, and Deetz, DA (1993), pp 315–346.
- [3] Grabber et al., (1998) J Agric Food Chem 46, 2609-2614.
- [4] Casler, MD, and Jung, H-JG (1999) Cop Sci, 39, 1866.
- [5] Jung, HG, and Casler, MD (2006), Crop Sci 46, 1801.
- [6] Méchin et al., (2000), J Science food Agr 80, 574–580.
- [7] Zhang et al., (2013), J Agric Food Chem 61, 3186–3192.

### Mots-clés

maize, cell wall, degradability, biochemistry, histology, water deficit.

## Neuf régions du génome sont impliquées dans la composition et la dégradabilité de la paroi dans des scénarios d'irrigation contrastés chez une population de maïs précoce

Laetitia Virlouvet<sup>a</sup>, Yves Griveau<sup>a</sup>, Pascal Sartre<sup>b</sup>, Serge Malavieille<sup>b</sup>, Cyril Bauland<sup>c</sup>, Valérie Combes<sup>c</sup>, Delphine Madur<sup>c</sup>, Matthieu Falque<sup>c</sup>, Marie-Pierre Jacquemot<sup>a</sup>, Aurélie Baldy<sup>a</sup>, Sylvain Legay<sup>a</sup>, Fadi El Hage<sup>a</sup>, Gladys Cloarec<sup>a</sup>, Sylvie Coursol<sup>a</sup>, Yves Barrière<sup>d</sup>, Valérie Méchin<sup>a</sup>, Matthieu Reymond<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, RD10, F-78026 Versailles Cedex, France

<sup>b</sup> Unité expérimentale Diascope, INRA, Chemin de Mezouls, Domaine expérimental de Melgueil, 34130 Mauguio, France.

<sup>c</sup> Génétique Quantitative et Évolution - Le Moulon, INRA, Université Paris Sud, CNRS, AgroParisTech, Ferme du Moulon, 91190 Gif-sur-Yvette, France

<sup>d</sup> Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, INRA, le Chêne, route de Saintes, F-86600 Lusignan, France

La valorisation de biomasses lignocellulosiques dans un système économiquement et écologiquement viable passe par la mise en culture de plantes produisant des biomasses au rendement suffisant et à la qualité adaptée à la valorisation visée, que ce soit de la digestibilité chez l'animal ou des procédés industriels, tels que la bioraffinerie, les biomatériaux et la chimie. Ces plantes doivent également pousser dans des systèmes de culture respectueux de l'environnement. Il a été rapporté que les variations de la qualité et de la composition de la biomasse sont impactées par des facteurs génétiques [1] mais aussi environnementaux, tel que le déficit hydrique [2]. De ce fait, la sélection variétale doit conduire à proposer des idéotypes associant le rendement, la qualité de la biomasse et la tolérance au déficit hydrique. L'approche retenue dans notre étude est l'identification de régions chromosomiques impliquées dans la variation de la dégradabilité et de la composition pariétales, ainsi que dans la réponse au déficit hydrique. Dans ce contexte, une population de lignées recombinantes (RILs ; environ 200 individus) issue du croisement entre deux lignées de maïs différant pour la dégradabilité des parois (F271 et Cm484), a été cultivée pendant trois années consécutives près de Montpellier en condition irriguée ou en condition de déficit hydrique par arrêt de l'irrigation à un stade précoce du développement des plantes et jusqu'à leur floraison. La dégradabilité et les composants pariétaux ont été estimés sur les 1300 échantillons récoltés en utilisant des équations NIRS disponibles au sein de l'équipe (cf poster M. Reymond). En combinant ces estimations et l'établissement d'une carte génétique, nous a permis d'identifier 286 QTLs dans les deux scénarios hydriques, localisés sur un nombre restreint de régions chromosomiques (9 régions principales). Ainsi, des QTLs de dégradabilité pariétale co-localisent avec des QTLs de la composition pariétale, telle que la teneur en lignine et/ou en acides p-hydroxycinnamiques. De plus, il apparaît que quatre régions chromosomiques présentent une co-localisation de QTLs spécifiques d'un scénario hydrique donné.

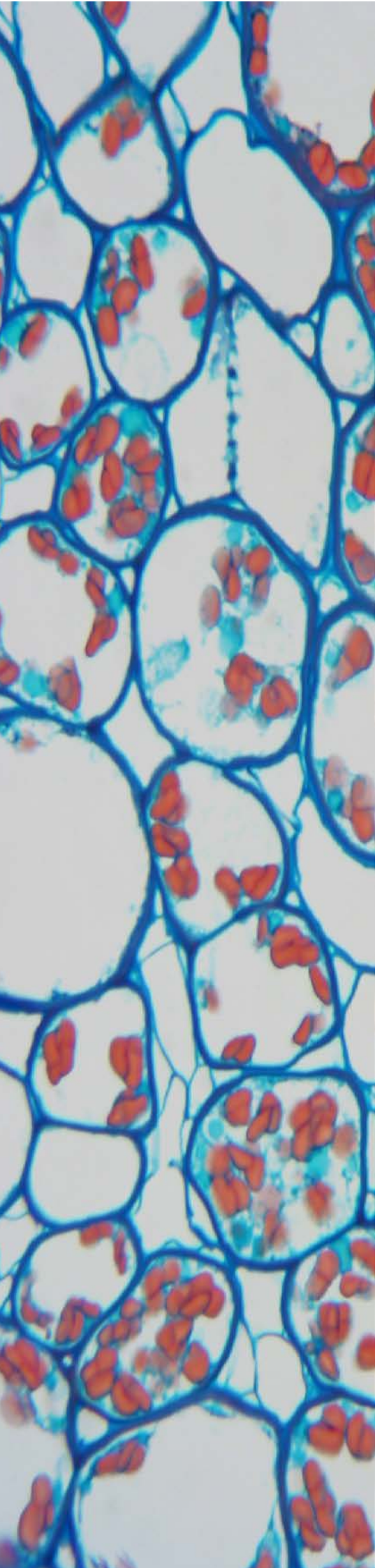
Remerciements : ces recherches sont soutenues financièrement par l'ANR (projet Biomasse pour le futur, ANR-11-BTBR-0006-BFF).

### Références bibliographiques

- [1] C. Riboulet et al. (2008) *Maydica*, 53, 11-19.
- [2] R. Emerson et al. (2015) *Biofuels*, 5, 275-291.

### Mots-clés

dégradabilité, parois, stress hydrique, maïs, QTL



## **SESSION 2**

**Impacts des contraintes  
biotiques et abiotiques sur les  
parois**

## Cell wall adaptation to sub-optimal growth conditions of natural population of *Arabidopsis*.

Harold Duruflé<sup>a</sup>, Philippe Ranocha<sup>a</sup>, Sébastien Déjean<sup>b</sup>, Thierry Balliau<sup>c,d</sup>, Michel Zivy<sup>c,d</sup>, Cécile Albenne<sup>a</sup>, Vincent Burlat<sup>a</sup>, Monique Burrus<sup>e</sup>, Elisabeth Jamet<sup>a</sup>, Christophe Dunand<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 24 chemin de Borde Rouge, Auzeville, BP42617, 31326 Castanet Tolosan, France

<sup>b</sup> Institut de Mathématique de Toulouse, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31062 Toulouse, France

<sup>c</sup> CNRS, PAPPSO, UMR 0320 / UMR 8120 Génétique Végétale, 91190 Gif sur Yvette, France

<sup>d</sup> INRA, PAPPSO, UMR 0320 / UMR 8120 Génétique Végétale, 91190 Gif sur Yvette, France;

<sup>e</sup> Laboratoire Evolution & Diversité Biologique EDB, Université Toulouse III Paul Sabatier, Toulouse, France CNRS, EDB, UMR 5174, Toulouse, France

With the global temperature change, plant adaptations are predicted, but molecular actors of plant adaptation are not well known. The model plant *Arabidopsis thaliana* is adapted to multiple environmental conditions with worldwide distribution. It is in particular able to develop along an altitudinal gradient [1]. Four new natural ecotypes of the model plant *A. thaliana* from the Pyrenean Mountains living in contrasted altitude were used in this study [2]. The analysis has been focused on cell walls (CWs) which are assumed to play a major role in response to environmental changes by the capacity to modify their structure and composition. Macro- and micro-phenotyping, cell wall monosaccharides analyses, cell wall proteomics [3, 4], and transcriptomics have been performed on rosette and stems at sub-optimal growth temperature (22°C vs 15°C). Overall, specific responses depending on the ecotypes and the low temperature condition are observed. At 15°C, ecotypes presented characteristic morphological traits of low temperature growth acclimation such as reduced rosette diameter and increase of leaf number and density. Cuticle reinforcement was also visualized at the leaf surface for the plants grown at 15°C. Modifications of CW composition were observed between the two growth temperatures with more xyloglucan and branching of rhamnogalacturonan 1 at 15°C for the rosettes as well as for the floral stems compared to those grown at 22°C. Besides, proteins and genes related to lipid metabolism and specifically the lipid transfer proteins (LTP) and GDSL lipase acylhydrolase family have been shown to differentially accumulate depending on the growth temperature and could be related to the observed greater thickness of the leaf cuticle. Finally, an integrative analysis between these heterogeneous data is presently performed in order to identify relevant profiles possibly involved in modulation of cell wall plasticity in response to temperature variations. The results of this study could apply to plant species of economic interest.

### Références bibliographiques

- [1] H. Duruflé., V. Hervé et al. (2017) In review.
- [2] H. Duruflé., P. Ranocha et al. (2017) In preparation
- [3] V. Hervé, H. Duruflé et al. (2016) *Proteomics*, 16, 3183-3187.
- [4] H. Duruflé et al. (2017) *Proteomics*, doi: 10.1002/pmic.201600449.

### Mots-clés

temperature acclimation, cell wall, cell wall polysaccharide, integrative analysis, proteomics, RNA seq

## Imaging cell-wall dynamics and morphological changes in the brown alga *Ectocarpus subulatus* in response to salinity variations

Amandine Siméon<sup>a</sup>, Thomas Torode<sup>b</sup>, Sue Marcus<sup>b</sup>, Paul Knox<sup>b</sup>, Delphine Duffieux<sup>a</sup>, Bernard Kloareg<sup>a</sup>, Cécile Hervé<sup>a</sup>

<sup>a</sup> CNRS/UPMC, UMR 8227 Integrative Biology of Marine Models, Station Biologique de Roscoff, CS 90074, 29688 Roscoff, France

<sup>b</sup> Centre for Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, University of Leeds, Leeds, United Kingdom

Marine algae live in a dynamic environment undergoing rapid changes of large amplitude in physical and chemical parameters, due mostly to the tidal cycles, and this include changes in salinity levels. The sudden changes in salt concentrations require that organisms in such habitats adjust their osmotic potential. Previous studies in brown algae have indicated that cell walls play an effective but relatively unexplored role in the osmotic relations. In brown algae, the cell wall is essentially composed of three main polysaccharides: cellulose, alginates and sulfated fucans. It was shown that the sulfation rate of fucans were positively correlating with increasing exposure to the atmosphere in the intertidal zone, suggesting a role in the desiccation resistance [1]. Lab cultures of the freshwater ecotype *Ectocarpus subulatus* in distinct salinity conditions also indicated that the sulfation patterning of fucans was positively modulated in relation to the external salt concentration [2]. However in these studies neither the molecular mechanisms, nor the detailed dynamic variations at the cell or tissue levels have been investigated. For the latter, most of the knowledge on cell wall composition in brown algae derived from chemical extractions at the whole algal level, with the subsequent loss of cellular details. Until very recently, specific tools were missing in these models to locate precisely the cell wall polysaccharides *in-situ*. We have now developed ten specific monoclonal antibodies against sulfated fucans [3] and alginates [4] that allow us to precisely locate the polysaccharides in biological contexts. They are used to depict precisely the cell wall variations that occur in an *Ectocarpus subulatus* ecotype upon salinity changes. This ecotype is known to accommodate a large panel of salinity levels and its genome has been entirely sequenced. Immunolabelling experiments with the new probes confirmed that fucans undergo changes in sulfate patterning upon salinity variations and that they were particularly abundant in cell walls of apical cells, which feature apical growth. In order to specifically study the role of exogenous sulfate in the ability of *E. subulatus* to perform osmotic adjustment, the alga was further cultivated in artificial seawater featuring distinct salinities and sulfate concentrations. Our results show important morphological and developmental changes between the different culture conditions. The contribution of sulfate in the osmotic adjustment of cell surfaces and/or in the apical growth of *E. subulatus* will be discussed.

### Références bibliographiques

- [1] S. Mabeau (1987) *Journal of Experimental Botany*, 39(9), 1573-1580
- [2] S. Dittami (2012) *The Plant Journal*, 71(3), 366-77
- [3] T. Torode et al. (2015) *PLoS One*. 10(2), e0118366
- [4] T. Torode et al. (2016) *Journal of Experimental Botany*, 67, 6089-6100.

### Mots-clés

Brown algae, salinity adaptation, sulfated fucans, immunolabelling



## Photosynthesis and cell wall metabolism in maize biomass production in response to chilling

Catalina Duran Garzon<sup>a</sup>, Michelle Lequart<sup>a</sup>, Hélène Sellier-Richard<sup>b</sup>, Jean-François H  b, Solène Bassard<sup>a</sup>, Dominique Rabier<sup>b</sup>, Benoît Decaux<sup>b</sup>, Catherine Rayon<sup>a</sup>, Catherine Giauffret<sup>c</sup>, Jean-Marc Domon<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Biologie des Plantes & Innovation- EA 3900 BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France*

<sup>b</sup> *Unité Exp  rimental Grandes Cultures Innovation, INRA-Estrées-Mons, P  ronne, France*

<sup>c</sup> *Unité de recherche des Agroressources et des Impacts Environnementaux, INRA- AgroImpact, INRA-UR1158, Estrées-Mons, P  ronne, France*

In response to abiotic stress as chilling, photosynthesis and plant cell wall play a major role during plant development and biomass production. Maize is a candidate crop for a new renewable carbon source, because it produces an important lignocellulosic biomass but chilling could limit its production. This phenomenon is emphasized in varieties sensitive to early seedling growth. A multidisciplinary approach was undertaken to study the effects of chilling on maize cell wall composition and photosynthesis performance. For this purpose, four maize lines (B1 (CFD04 349), B2 (CFD04-332 and E1 (F2) et E2 (F2bm3)) having a contrasted alleles related to either autotrophic carbon assimilation in chilling conditions (B1-B2) or a decrease in lignin content (E1-E2), were selected. Plants material was grown under greenhouse conditions to 25  C day/22  C night (control) or 15  C day/11  C night (chilling) temperatures. Our preliminary results showed that chilling alters the photosynthesis mechanism with, a reduction in CO<sub>2</sub> uptake, variations in non-structural content, a decreased and increased level of chlorophyll and xanthophyll respectively in all genotypes. However, B1 which is more chilling tolerant displayed a higher level of xanthophyll and sucrose compared to the sensitive one, B2, in response to chilling. A similar trend was observed with E1 and E2 albeit more pronounced in E1. The main cell wall non-cellulosic polysaccharide in maize, glucuronoarabinoxylan, tends to decrease and arabinose level increases in response to chilling. That trend was similar to all studied genotypes. A full biochemical characterization using proteomics, photosynthesis' enzyme activities, cell wall linkages analysis but also transcriptomics will be required to determine the cross-talk between photosynthesis and cell wall architecture in response to chilling.

### Mots-clés

maize, chilling, cell wall, photosynthesis

**MYB31 triggers water stress memory responses in maize**

Sandrine Chaignon<sup>a</sup>, Laetitia Virlovet<sup>a</sup>, Marie Javelle<sup>b</sup>, Valérie Méchin<sup>a</sup>, Marie-Pierre Jacquemot<sup>a</sup>, Thierry Balliau<sup>c</sup>, Charlotte Henriët<sup>a</sup>, Llorenç Cabrera-Bosquet<sup>d</sup>, Sandrine Balzergue<sup>e</sup>, Etienne Delannoy<sup>e</sup>, Johann Joets<sup>c</sup>, Michel Zivy<sup>c</sup>, Marie-Laure Martin-Magniette<sup>e,f</sup>, Claude Welcker<sup>d</sup>, Christophe Sallaud<sup>b</sup>, François Tardieu<sup>d</sup>, Sylvie Coursol<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, RD10, F-78026 Versailles Cedex, France;

<sup>b</sup> Biogemma, Centre de Recherche, F-63720 Chappes, France ;

<sup>c</sup> Génétique Quantitative et Evolution - Le Moulon, INRA, Univ Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, F-91190 Gif-Sur-Yvette, France;

<sup>d</sup> Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, INRA, UMR 0759, F-34060 Montpellier Cedex 1, France ;

<sup>e</sup> Institute of Plant Sciences Paris-Saclay, CNRS, INRA, Univ Paris-Sud, Univ Evry, Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Université Paris-Saclay, Rue de Noetzlin, F-91405 Orsay, France ;

<sup>f</sup> UMR MIA-Paris, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, F-75005 Paris, France

Water deficit directly impacts the ability of plants to intercept and convert light into biomass. Because leaf growth is one of the first processes affected by water deficit, many physiological studies concentrated in short-term responses and associated mechanisms. They demonstrated the roles of cellular and metabolic processes such as changes in cell turgor, hydraulic conductance and cell wall plasticity. However, our understanding of how water deficit impacts cell wall biosynthesis is still fragmentary. Here, we report that *ZmMYB31*, a R2R3-MYB transcription factor implicated in the regulation of lignin biosynthesis [1-2], is induced by water deficit in the growing zone of maize leaves. Consistent with this finding, we also showed that *ZmMYB31* colocalizes with quantitative trait loci for growth responses to water deficit and anthesis-silking interval (ASI) under water deficit conditions. To assess the potential contribution of *ZmMYB31* to maize responses to water deficit, we generated transgenic maize overexpressing *ZmMYB31*. We showed that increasing *ZmMYB31* expression in maize maintained ASI under water deficit conditions. On the basis of these data, we generated transcriptomic and proteomic data to detect transcripts and proteins that show substantial changes in abundance in the leaf growing zone of three representative independent transgene-positive homozygous maize lines compared with that of transgene-negative sibling plants grown in PhenoArch under well-watered and water deficit conditions. We identified 352 genes that were transcriptionally regulated by *ZmMYB31* under well-watered conditions and displayed opposite transcription levels under water deficit conditions, suggesting that *ZmMYB31* may function in a water stress memory response pathway, which likely helps the transgenic maize enduring the water deficit stress. Our studies further revealed co-expression relationships between these genes and others from the proteome and a cell wall data sets, suggesting potential regulatory influence.

Funding acknowledgment: French National Research Agency (ANR-10-BTBR-01-Amaizing), FranceAgrimer and LabEx Saclay Plant Sciences-SPS (ANR-10-LABX-0040-SPS).

**Références bibliographiques**

- [1] S. Fornalé et al. (2010) *Plant J.*, 64, 633-644.  
 [2] T. Agarwal et al. (2016) *Sci. Rep.*, 6, 28502.

**Mots-clés**

*ZmMYB31*, maize, omics, water stress memory responses

## Rôle des composants de la paroi végétale dans la colonisation des racines par les bactéries phyto-bénéfiques du genre *Bacillus*.

Grégory Hoff, Aurélien Legras, Marc Ongena,

*Microbial Processes and Interactions Research Unit, Terra Teaching and Research Center, Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Gembloux, Belgique*

Les racines des plantes relâchent par exsudation de nombreux composés organiques qui diffusent au sein de la rhizosphère, entraînant la création d'un écosystème favorable à l'établissement d'une grande variété de micro-organismes. Au sein de cette niche, on retrouve des communautés bactériennes appelées PGPR (*plant growth promoting rhizobacteria*) qui peuvent faciliter le développement de la plante, notamment en améliorant la biodisponibilité de certains nutriments, en sécrétant des métabolites actifs contre certains pathogènes, ou encore en induisant les défenses de la plante. Parmi ces agents de biocontrôle, certaines espèces de *Bacillus* comptent parmi les plus efficaces. En effet, grâce à la production de lipopeptides tels que la surfactine, ces bactéries peuvent coloniser la racine en formant un biofilm, mais également activer la résistance induite (ISR) des plantes [1]. Si l'impact bénéfique qu'entraîne la production de lipopeptides sur la plante a déjà été largement étudié, les dialogues moléculaires qui s'établissent entre la plante et le *Bacillus* permettant de favoriser l'implantation de la bactérie restent à ce jour peu connus. Lors d'une étude récente, nous avons pu constater que l'accumulation de surfactine se fait dans les premières heures de la colonisation des racines de la plante par *Bacillus*, indépendamment de la croissance et de la possibilité d'utiliser des exsudats racinaires [2]. En revanche, ce phénomène n'a pas pu être observé lorsque les racines ont été précédemment digérées par un cocktail enzymatique visant à dégrader la paroi. Ces résultats suggèrent l'hypothèse que la sécrétion précoce et massive de surfactine par des cellules de *Bacillus* au contact de la racine est facilitée par la présence de certains polymères de la paroi végétale [2]. Cette hypothèse a été confortée en démontrant que certains composants de la paroi (xylane, pectine, arabinogalactane) entraînent une augmentation de l'expression de l'opéron *srf* codant la surfactine, ainsi qu'une augmentation de la production de surfactine. Ainsi, du fait de l'importance des lipopeptides dans la motilité des *Bacillus*, l'induction de la production de surfactine par des composés de la paroi végétale pourrait faciliter la colonisation des racines de la plante par les bactéries. L'ensemble de ces résultats suggère une interaction complexe entre les deux partenaires et met en évidence un aspect nouveau du dialogue chimique qui existe entre la plante et les bactéries phyto-bénéfiques.

### Références bibliographiques

- [1] M. Ongena et al. (2007) Environ. Microbiol., 9(4), 1084-1090.
- [2] J. Debois et al. (2015) Environ. Microbiol. Rep., 7(3), 570-582.

### Mots-clés

Bacillus, Surfactine, Paroi végétale

## Involvement of extensin arabinosylation in root defence

Romain Castilleux<sup>a</sup>, Barbara Plancot<sup>a</sup>, Agnès Attard<sup>b</sup>, Benjamin Lefranc<sup>c</sup>, Jérôme Leprince<sup>c</sup>, Mustapha Arkoun<sup>d</sup>, Eric Nguema-Ona<sup>d</sup>, Jean-Claude Yvin<sup>d</sup>, Azeddine Driouich<sup>a,e,f</sup> and Maïté Vicré-Gibouin<sup>a,e,f</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire Glyco-MEV – EA 4358, Université de Rouen Normandie

<sup>b</sup> UMR Institut Sophia Agrobiotech - INRA 1355 - CNRS 7254, Université de Nice Sophia-Antipolis

<sup>c</sup> Inserm U982 Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine (DC2N) – Université de Rouen Normandie

<sup>d</sup> Centre Mondial de l'Innovation, Groupe Roullier

<sup>e</sup> Structure Fédérative de Recherche « Normandie-Végétale », Université de Rouen Normandie

<sup>f</sup> PRIMACEN (Plateforme de Recherche en IMagerie CELLulaire de Normandie)

Plants are constantly exposed to pathogen aggressions, including from fungi and bacteria. This can lead to severe disease development and massive agricultural losses. To cope with pathogen attacks, plants have developed different defence mechanisms to ensure their protection. Cell wall is one of the first barriers against pathogens and is mostly composed of polysaccharides and proteoglycans such as the hydroxyproline-rich glycoproteins (HRGPs)[1]. Among these HRGPs, extensins are thought to have a structural role, strengthening the cell wall through intra- and/or inter-molecular cross-linking between tyrosine residues thereby limiting pathogen invasion. The cross-linking is catalysed by specific peroxidases and requires correct O-glycosylation on the Serine-(Hydroxyproline)<sub>3-4</sub> motifs with respectively galactoside and oligoarabinoside residues[2,3]. However, direct evidence of the implication of extensin glycosylation in plant defence remains to be established.

In this study, we selected several *Arabidopsis thaliana* mutants partially defective in extensin arabinosylation, and performed immunolabeling on roots with the anti-extensin antibodies LM1, JIM11, JIM12 and JIM20. Interestingly, following stimulation of immunity by the bacterial elicitor flagellin 22, the wild-type and all the mutants showed a different distribution pattern of extensin epitopes as compared to non-elicited plants. This suggests that modulation of extensin structure and distribution is part of root defence response in *Arabidopsis*. In addition, we investigated the interaction of extensin mutants with the oomycete *Phytophthora parasitica*, a soil-borne pathogen known to cause the root rot disease. The data showed a significant increase of zoospore accumulation after 3 hours in inoculated roots of *xeg113* and *rra2* mutants, indicating that the arabinosylation status of extensin is important for the cell wall to limit microbial colonization of the root.

Taken together, these findings provide evidence for a role of extensin glycosylation in root-microbe interaction.

Acknowledgements: this work is supported by la région de Normandie (via le Réseau VASI/SFR Normandie-Végétal) and by CMI-Groupe Roullier.

## Références bibliographiques

[1] S. Deepak et al. (2010) *Journal of Phytopathology*, 158, 585-593.

[2] M. Velasquez et al. (2012) *Frontiers in Plant Science*, 3, 93.

[3] Y. Chen et al. (2015) *Biochemistry Insights*, 8(S2), 1-13.

## Mots-clés

Extensin, cell wall, root defence, immunocytochemistry

## Understanding of the oligosaccharide production during *Botrytis cinerea* infection

Voxeur Aline<sup>a</sup>, Miart Fabien<sup>a</sup>, Soulié Marie-Christine<sup>a</sup>, Rihouey Christophe<sup>b</sup>, Mouille Gregory<sup>a</sup>, Fagard Mathilde<sup>a</sup>, Höfte Herman<sup>a</sup>, Vernhettes Samantha<sup>a</sup>

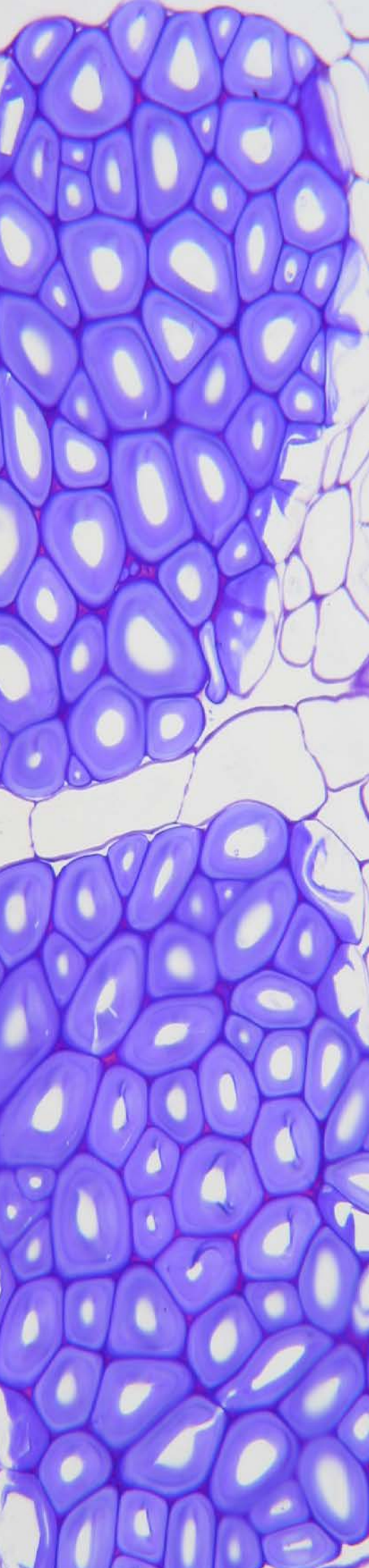
<sup>a</sup> *Institut Jean-Pierre Bourgin, Institut National pour la Recherche Agronomique, Centre National pour la Recherche Scientifique, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Versailles Cedex , France,*

<sup>b</sup> *Laboratoire Polymères, Biopolymères, Surfaces Équipe SCC / BRICS, UMR 6270, Mont Saint Aignan, France,*

The cell wall plays an active role in the defense against necrotrophic pathogens such as *Botrytis cinerea*. Oligosaccharides accumulate during necrotrophic pathogen-induced cell wall degradation and are major (damage-associated molecular pattern, DAMP) elicitors, which trigger defense responses. Whether or not oligosaccharide signaling molecules are generated depends on the simultaneous presence of host- or pathogen-derived cell wall modifying enzymes. Whether there exist different types of oligosaccharides and how they are perceived remains to be determined. In this context, we first characterised the oligosaccharides released by wild-type *B. cinerea* strain and mutants affected in some pectin-degrading enzymes during infection and presenting different virulences. The eliciting effect of discriminating oligosaccharides and the receptors involved in their perception will be investigated.

### Mots-clés

*Botrytis cinerea*, Arabidopsis, oligalacturonates



## **SESSION DE POSTERS**

## Sample preparation for staining and immunodetection of plant cell walls by light microscopy

Yves Verhertbruggen<sup>a, b, d</sup>, Jesse Lee Walker<sup>c</sup>, Fabienne Guillon<sup>d</sup> and Henrik Vibe Scheller<sup>a, b, c</sup>

<sup>a</sup> *Joint BioEnergy Institute, Lawrence Berkeley National Laboratory, Emeryville, CA, USA*

<sup>b</sup> *Environmental Genomics and Systems Biology Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA, USA*

<sup>c</sup> *University of California, Berkeley, CA, USA*

<sup>d</sup> *INRA UR 1268 BIA, rue de la Géraudière, 44300 Nantes, France*

Staining and immunodetection by light microscopy are methods widely used to investigate plant cell walls. The two techniques have been crucial to study the cell wall architecture in planta, its deconstruction by chemicals or cell wall-degrading enzymes. They have been instrumental in detecting the presence of cell types, in deciphering plant cell wall evolution and in characterizing plant mutants and transformants. The success of immunolabeling relies on how plant materials are embedded and sectioned. Agarose coating, wax and resin embedding are, respectively, associated with vibratome, microtome and ultramicrotome sectioning. Here, we have systematically carried out a comparative analysis of these three methods of sample preparation when they are applied for cell wall staining and cell wall immunomicroscopy. In order to help the plant community in understanding and selecting adequate methods of embedding and sectioning for cell wall immunodetection, we present here the advantages and limitations of these three methods.

### Mots-clés

Cell wall-degrading enzyme, Fluorescence, Immunodetection, Microscopy

## Cryo-microscopie confocale pour la localisation des ions pariétaux dans les tissus fruits charnus

Kevin Vidot<sup>a</sup>, Cédric Gaillard<sup>a</sup>, René Siret<sup>b</sup>, Camille Rivard<sup>c,d</sup>, Sylvain Guyot<sup>e</sup>, Marc Lahaye<sup>a</sup>

<sup>a</sup> UR Biopolymères Interactions Assemblages, INRA, 44300 Nantes, France

<sup>b</sup> USC 1422 GRAPPE, INRA, Ecole Supérieure d'Agricultures, SFR 4207 QUASAV, 55 rue Rabelais 49100 Angers, France

<sup>c</sup> Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint-Aubin, 91192 Gif-sur-Yvette Cedex, France

<sup>d</sup> UAR CEPIA, INRA, 44300 Nantes, France

<sup>e</sup> UR Biopolymères, Interactions et Assemblages, Bat 305, Domaine de la Motte, 35 653 Le Rheu, France

Les parois cellulaires végétales sont des assemblages complexes largement étudiés car les polysaccharides qui les constituent ont un rôle biologique et structurant majeur [1]. Les propriétés fonctionnelles des polysaccharides dépendent pour partie des macro-éléments minéraux présents dans l'apoplaste tels que le potassium, calcium ou magnésium, lesquels contribuent à la régulation de la turgescence et aux caractéristiques mécaniques des parois cellulaires. Libres ou liés aux métallopoteines, les oligo-éléments (Fe, Cu, Zn, Mn) participent également au remodelage et à la déconstruction des parois cellulaires. Dans le cas des fruits, ces métaux de transitions joueraient un rôle important sur la qualité en modifiant entre autre leur texture [2]. Les modes d'action et les interactions entre les minéraux et les parois cellulaires sont largement méconnus du fait de leur grande mobilité et pour certain, de leur présence à l'état de traces. Pour s'affranchir de ces deux contraintes majeures, le développement de méthodes de préparation permettant de préserver au mieux les structures natives du matériel végétal très hydraté (80-95%) s'avère nécessaire afin de pouvoir identifier et localiser l'ensemble de ces minéraux sans redistribution. Les méthodes passant par une fixation physique à basse température combinée à une observation à froid sont ici particulièrement recommandées car elles ont l'avantage de préserver la morphologie du tissu tout en limitant la mobilité des ions minéraux [3]. Cette présentation exposera une stratégie originale combinant fixation physique et cryo-observation par microscopie confocale à balayage laser (MCBL) pour cartographier le contenu minéral de tissus de pomme et de baie de raisin.

### Références bibliographiques

- [1] P. Albersheim et al (2011) Garland Science. p. 43.
- [2] Bartley, I.M. and M. Knee (1982), Food Chemistry, 9(1-2): p. 47-58.
- [3] Mielanczyk, L., et al. (2014), Folia Histochem. Cytobiol., 52: p. 1-17.

### Mots-clés

Cryo-microscopie confocale, Ions minéraux, Paroi cellulaire végétale, Fluorescence, Pomme, Raisin



**Cell wall changes induced by ROS and ethylene in sunflower seed dormancy alleviation**

Elissa Naïm<sup>a, b</sup>, Patrice Meimoun<sup>a</sup>, Qiong Xia<sup>a</sup>, Arnaud Lehner<sup>c</sup>, Christophe Bailly<sup>a</sup>, Mohammad Tabcheh<sup>b</sup>, Amira Haddarah<sup>b</sup>, Bruno Gugli<sup>c</sup>, Ferdousse Laggoun<sup>c</sup>, Hayat El-Maarouf-Bouteau<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Biologie du développement Paris Seine - Institut de Biologie Paris Seine (LBD - IBPS), 75005 Paris, France

<sup>b</sup> Université libanaise, Faculté des sciences III, Tripoli, Liban

<sup>c</sup> Université de Rouen Normandie, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale, Laboratoire Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, 76821 Mont Saint Aignan, France

Seed dormancy is defined as the inability to germinate at favorable conditions. Dormancy alleviates during after-ripening, a dry storage period, depending on environmental conditions such as temperature, light or oxygen. Dormant seeds become non-dormant (ND), i.e. able to germinate in a wide range of temperatures. Treatment of dormant seeds (D) with ethylene or reactive oxygene species (ROS) can promote seed germination in sunflower, *Helianthus annuus*. Metabolomic and transcriptomic studies have highlighted the importance of cell wall changes in dormancy alleviation. In the present study, we analyzed cell wall composition in D seeds as compared to germinating seeds, ND and D treated with ethylene (D/Eth) or methylviologen, a ROS generating compound, (D/MV) during germination *sensu stricto*. We show that cell wall changes occur at post-germination phase. Together with cell wall methylation assesment, our results showed that cell wall modification is associated with germination *sensu stricto* while cell wall remodeling is associated with elongation.

**Mots-clés**

After-ripening, dormancy, ethylene, *Helianthus annuus*, Methylviologen, ROS.

## Glycomics in brown algae: enzymatic profiling of cell-wall polysaccharides for population screening

Kevin Hardouin<sup>a</sup>, Sophie Le Gall<sup>b</sup>, Mirjam Czjzek<sup>a</sup>, Gurvan Michel<sup>a</sup>, Cécile Hervé<sup>a</sup>

<sup>a</sup> CNRS/UPMC, UMR 8227 Integrative Biology of Marine Models, Station Biologique de Roscoff, CS 90074, 29688 Roscoff, France;

<sup>b</sup> INRA, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, 44300 Nantes, France

Brown algae have a carbohydrate-rich cell-wall which is essential for many processes in algal physiology and development. The main components are the cellulose, sulfated fucans and alginates. While some of these compounds have been studied extensively due to their numerous biomedical properties, little is known regarding their structural details and their macromolecular configurations in walls. In this context, we have notably provided the first significant model relating the cell wall architecture in brown algae [1]. For each polysaccharide, major ideal motifs have been described but a vast continuum of intermediate structures can be found. This chemical diversity has been largely ignored so far, mainly because the chemical analyses are fastidious and time-consuming. We are currently developing biochemical fingerprinting methods to allow the rapid cell-wall phenotyping of large populations of brown algae. Part of those methods are enzymatically-based and use specific recombinant proteins from bacterial origins. Those enzymes have been biochemically, and sometimes structurally, characterized (i.e. fucanases [2], alginates lyases [3]). They are used to specifically cleave the cell wall polysaccharides extracted within the alcohol insoluble residues (AIRs). The released oligosaccharides are analyzed by anion-exchange chromatography methods (HPAEC) for fingerprinting. The monosaccharide composition and the sulfate content of the cell wall extracts are also investigated. In this project, distinct harvested populations are analyzed. They belong to the five main orders of brown algae, in order to study oligosaccharide characteristics upon taxonomical origin. Past studies indicated that the sulfate content in brown algal cell walls was positively correlating with increasing exposure to the atmosphere in the intertidal zone, suggesting a role in the desiccation resistance [4]. The species to be analyzed have distinct distributions on the shore, which will allow analyzing this feature in more details. In addition, they have been collected at four distinct time-points, which will allow depicting seasonal variation, including in relation with the seaweed life cycle. In future, this phenotyping method will be applied to the genetic model *Ectocarpus* [5], to explore further the cell-wall synthesis routes. This work is taking place within the French program 'IdeAlg' (<http://www.idealg.ueb.eu>).

### Références bibliographiques

- [1] Deniaud-Bouët et al. (2014). *Annals of Botany*. 114, 1203-1216
- [2] Colin et al. (2006). *Glycobiology*. 16, 1021-1032
- [3] Thomas et al. (2013). *Journal of Biological Chemistry*. 288, 23021-23037
- [4] Kloareg et al. (1986). *International Journal of Biological Macromolecules*. 8(6), 380-386.
- [5] Cock et al. (2010). *Nature*. 465, 617-621

### Mots-clés

brown algae, cell wall polysaccharides, enzymes, phenotype profiling

## Développement d'équations de prédictions NIRS (Near infra-red spectrometry) pour estimer la composition et la dégradabilité pariétale chez différentes graminées

Yves Griveau<sup>a</sup>, Marie-Pierre Jacquemot<sup>a</sup>, Sébastien Beaubiat<sup>a</sup>, Emilie Gineau<sup>a</sup>, Laurent Cézard<sup>a</sup>, Frédéric Legée<sup>a</sup>, Stéphanie Arnoult-Carrier<sup>b</sup>, Maryse Brancourt-Hulmel<sup>c</sup>, Matthieu Reymond<sup>a</sup>, Valérie Méchin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, RD10, F-78026 Versailles Cedex, France*

<sup>b</sup>*GCIE-Picardie, INRA, 80200, Estrées-Mons, France*

<sup>c</sup>*AgroImpact, INRA, 80200, Estrées-Mons, France*

La biomasse lignocellulosique représente une alternative à l'utilisation de produits dérivés de l'industrie pétrolière, que ce soit dans le domaine de l'énergie ou des matériaux (de constructions ou plastiques). Le rendement de valorisation des biomasses récoltées dépend à la fois de l'amélioration des procédés industriels mais également de la composition biochimique des parois cellulaires de la biomasse. Plusieurs facteurs influencent cette composition pariétale, notamment l'environnement et le facteur génétique. L'étude de l'influence de ces facteurs passe notamment par la caractérisation biochimique, coûteuse en temps et en moyens humains, de plusieurs centaines d'échantillons. Une quantification à haut débit est donc nécessaire. L'établissement d'équations de prédiction NIRS répond à ces attentes puisqu'elle permet d'estimer la composition pariétale et l'aptitude à la valorisation de plusieurs centaines d'échantillons par jour, une fois broyés et conditionnés. Dans le cadre de différents projets (BFF, BIOC4, HistoQTL) menés au sein de l'équipe « Qualité de la biomasse et interactions avec la sécheresse » (IJPB – INRA Versailles), différents systèmes d'équations NIRS ont été établies ou transférées sur différentes espèces de graminées en C4 (maïs et miscanthus) et sur différents types d'échantillons (ensilage, plantes entières sans épis, tiges, entre-noeuds) pour identifier à la fois les facteurs biochimiques en liens avec différentes valorisations de la biomasse (Poster de MP Jacquemot) et avec les caractéristiques histologiques chez le maïs (exposé de Fadi El Hage) mais également pour cartographier des régions chromosomiques impliquées dans les variations de la composition pariétale dans des scénarios d'irrigation contrastés (cf Poster de Laetitia Virlovet). Ce poster illustre la place de la démarche NIRS dans ces projets et présente les caractéristiques des différentes équations de prédiction NIRS disponibles par l'équipe.

Remerciements : ces recherches sont soutenues financièrement par l'ANR (projets Biomass For the Futur, ANR-11-BTBR-0006-BFF), Projet Européen FACCE SURPLUS BIOC4 ANR-15-SUSF-0004-06, les Départements BAP et CEPIA de l'INRA.

### Mots-clés

NIRS, Composition et dégradabilité pariétale, Graminées

## Identification des constituants pariétaux impliqués dans la limitation de la dégradabilité de la paroi végétale

Marie-Pierre Jacquemot, Sébastien Beaubiat, Frédéric Légée, Emilie Gineau, Matthieu Reymond et Valérie Méchin.

*Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, RD10, F-78026 Versailles Cedex, France*

Que l'on souhaite utiliser la biomasse lignocellulosique pour l'alimentation animale ou à des fins de production de biocarburant 2G, il est crucial de comprendre quels sont les facteurs qui limitent le plus l'accès des enzymes aux polysaccharides pariétaux et qui limitent ainsi la dégradabilité. C'est dans cet objectif que nous mettons en œuvre diverses méthodes biochimiques afin d'estimer les teneurs en paroi, en lignine, en acides p-hydroxycinnamiques et en sucres ainsi que la structure et la composition des lignines. Ces caractérisations sont ensuite mises en regard de nos estimations de dégradabilité afin de conclure sur les facteurs limitants de cette dégradabilité. Dans ce poster, nous présentons i) la comparaison des résultats obtenus par trois méthodes différentes d'estimation de la teneur en lignine (Van Soest [1], Klason [2] et Bromure d'acétyl [3]), ii) la comparaison des résultats obtenus pour l'estimation directe ou indirecte de la dégradabilité des parois et enfin iii) les facteurs impliqués dans la limitation de la dégradabilité de paroi.

Remerciements : ces recherches sont soutenues financièrement par l'ANR (projet Biomasse pour le futur, ANR-11-BTBR-0006-BFF) et le Département CEPIA de l'INRA (AIC Intégrale).

### Références bibliographiques

- [1] H.K. Goering et P.J. Van Soest (1970) U. S. D. A. Handbook, 379, 1-20.
- [2] C. Dence et S.Y. Lin (1992) Methods in lignin Chemistry, 33-61.
- [3] R.S. Fukushima et R.D. Hatfield (2001) J. Agric. Food Chem., 49, 3133-3139.

### Mots-clés

Biomasse, Dégradabilité, Lignification, Chimie pariétale

## Enlargement of the cell wall proteome of *Arabidopsis thaliana* and description of new patterns of Pro hydroxylation in cell wall proteins

Huan Nguyen-Kim<sup>a</sup>, Harold Duruflé<sup>a</sup>, Vincent Hervé<sup>b</sup>, Cécile Albenne<sup>a</sup>, Thierry Balliau<sup>c</sup>, Michel Zivy<sup>c</sup>, Christophe Dunand<sup>a</sup>, Elisabeth Jamet<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Castanet Tolosan, France*

<sup>b</sup> *INRS - Institut Armand Frappier, 531, boulevard des Prairies, Laval, Québec, H7V 1B7, Canada*

<sup>c</sup> *PAPPSO, GQE - Le Moulon, INRA, Université Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France*

Cell wall proteins (CWPs) play critical roles in plant cell walls. They are involved in developmental processes and response to environmental cues. They contribute to the remodelling of cell wall polymers networks by hydrolysing covalent bounds, inserting newly synthesized polysaccharides, cross-linking structural proteins, proteins and polysaccharides or polysaccharides and phenolic compounds. During the recent years, the knowledge of cell wall proteomes has been greatly enlarged thanks to the design of original strategies and to major advances in mass spectrometry and bioinformatics. The model plant, *Arabidopsis thaliana*, has started first the competition for the larger cell wall proteome and it has acquired a leader position [1]. With the most recent studies performed on roots [2], rosettes [3], stems [4] and inflorescences [5], its overall coverage reaches 50% of its expected size with 894 CWPs identified (see WallProtDB at [www.polebio.lrsv.ups-tlse.fr/WallProtDB](http://www.polebio.lrsv.ups-tlse.fr/WallProtDB)) [6]. It has been possible to propose functions for 87.6% of them, based on either experimental work or bioinformatic predictions. Four major functional classes were found: proteins acting on polysaccharides (22.8%), oxido-reductases (13.4%), proteases (11.6%) and proteins involved in lipid metabolism (9.6%). Overall, this survey has given a lot of information regarding the functions of plant cell walls, far from simple envelopes only contributing to cell shape and mechanical support. However, beyond the identification of proteins, proteomics can also contribute to the description of post-translational modifications (PTMs). Since CWPs go through the secretion pathway, most of them undergo N- or O-glycosylation on serine and hydroxyproline (Hyp) residues. We have performed a deep data mining of our mass spectrometry data to map Hyp residues resulting from the hydroxylation of proline. We could find not only canonical locations in hydroxyproline-rich glycoproteins (HRGPs), but also unexpected ones in CWPs never described to have such PTMs. This work paves the way for a better knowledge of CWP PTMs.

### Références bibliographiques

- [1] Albenne et al. (2013) *Front. Plant Sci.*,4, 111
- [2] Nguyen-Kim et al. (2016) *Proteomics*, 16, 491-503
- [3] Hervé, Duruflé et al. (2016) *Proteomics*, 16, 3183-3187
- [4] Duruflé et al. (2017) *Proteomics*, doi:10.1002/pmic.201600449
- [5] Xu et al. (2016) *Mol. Cell. Proteomics*, 15, 2048-2054
- [6] San Clemente & Jamet (2015) *Plant Methods* 11: 2.

### Mots-clés

*Arabidopsis thaliana*, cell wall proteome, post-translational modification, proline hydroxylation

## Les parois dans les graines de légumineuses : une source de variation qui peut affecter les valeurs d'usage

S Le Gall<sup>a</sup>, B Laillet<sup>a</sup>, V Lollier<sup>a</sup>, A Klein<sup>b</sup>, J Burstin<sup>b</sup>, G Duc<sup>b</sup>, F Guillon<sup>a</sup>

<sup>a</sup> INRA, UR1268 BIA, rue de la Géraudière, BP 71627, F-44316 Nantes, France

<sup>b</sup> INRA, UMR d'Agroécologie, 17 Rue Sully – BP 86510 - 21065 Dijon Cedex.

Les légumineuses à graines font partie de la famille des Fabacées et recouvrent une large variété d'espèces (pois, féverole, lupin, soja, lentilles, haricots...) dont les caractéristiques communes sont de fixer l'azote de l'air grâce à une symbiose avec des bactéries du sol, d'avoir des graines riches en protéines (taux moyen variant entre 22 et 40 %) et de produire des graines récoltées en sec pour l'alimentation (animale ou humaine).

Les légumineuses à graines véhiculent l'image d'aliments sains avec des effets bénéfiques sur la santé en raison de leur complémentarité nutritionnelle avec les céréales et de leur rôle dans la prévention des maladies (maladies cardiovasculaires, diabète de type 2, obésité...). Le potentiel nutritionnel des graines de légumineuses se base sur leur niveau élevé en protéines et, en fonction des espèces, en amidon ou en lipides. Parmi les macronutriments, les graines de légumineuses contiennent également des quantités appréciables en fibres alimentaires. Toutefois, et malgré leurs avantages agronomiques, environnementaux et nutritionnels, les légumineuses à graines représentent aujourd'hui moins de 2 % de la sole française en grandes cultures contre 10% à 25% en Amérique du Nord ou en Asie.

Dans le contexte actuel de transition alimentaire (ré-équilibre alimentaire par réduction de produits « animaux », aliments riches en protéines, fibres et composés bioactifs), d'environnement et de santé (protéines, fibres), il devient nécessaire d'encourager une plus grande diversité cultivée qui permettrait de réduire significativement l'usage des intrants de synthèse et les pressions environnementales induites, de préserver la biodiversité et de favoriser la consommation des légumineuses.

De nombreuses études de criblage associant des données génétiques, biochimiques (teneur en protéines, amidon, fibres,  $\alpha$ -galactosides...) et phénotypiques (taille des graines, couleur et usages (aliment ou horticole)) ont été ou sont actuellement menées afin de caractériser des collections de légumineuses à graines (pois principalement). Toutefois, peu d'études intègrent la notion de variabilité de composition et de structure des polysaccharides de paroi, constituants majoritaires des fibres alimentaires, et dont le rôle dans la digestibilité, la stimulation du système immunitaire, la prévention des maladies mais aussi les procédés de transformations industrielles est largement connu.

Dans ce contexte, notre projet consiste à étudier cette variabilité par des méthodes de criblages biochimique et histologique et à la coupler aux marqueurs de qualité usuels (protéines, facteurs anti-nutritionnels, morphologie des graines...) afin de sélectionner et de proposer de nouvelles lignées d'intérêt. Par la suite, l'impact de la composition et de la structure de polymères d'intérêt (polysaccharides, protéines) sur leurs usages sera à évaluer.

### Mots-clés

légumineuses, criblage biochimique, polysaccharides, sélection variétale

## Histologie, dégradabilité de la biomasse lignocellulosique et tolérance des plantes à un manque d'eau

F. El Hage<sup>a</sup>, M. Forest<sup>a</sup>, D. Legland<sup>b</sup>, Y. Zhang<sup>a</sup>, A. Baldy<sup>a</sup>, N. Borrega<sup>a</sup>, B. Dubreucq<sup>a</sup>, S. Chaignon<sup>a</sup>, S. Coursol<sup>a</sup>, C. Horlow<sup>a</sup>, M. Durand-Tardif<sup>a</sup>, M. Reymond<sup>a</sup>, V. Méchin<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA-AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, RD10, F-78026 Versailles

<sup>b</sup> INRA, UR1268 Biopolymères, Interactions et Assemblages, BP71627, F-44316 Nantes, France

La dégradabilité des parois est en tout premier lieu limitée par la teneur en lignine. Il n'est cependant pas possible d'améliorer cette dégradabilité en diminuant drastiquement la lignification des parois sans impacter fortement sur le rendement et les résistances des plantes aux parasites ou aux conditions environnementales. Nous recherchons donc quels autres facteurs peuvent être ciblés pour améliorer la dégradabilité des parois. La répartition des tissus lignifiés au sein des tiges est une de ces cibles prometteuses. D'autre part, dans le contexte agro-climatique actuel, nous recherchons quels facteurs peuvent conférer aux plantes une meilleure réponse au manque d'eau. Là encore, nous pensons que la répartition des tissus lignifiés au sein des tiges est une cible importante. C'est pour cela que nous développons, au sein de notre équipe, des approches de caractérisation histologique des tiges afin de relier les paramètres décrivant le mieux la répartition des tissus lignifiés aux variations de dégradabilité des parois ou à la tolérance à une disponibilité en eau limitante.

Ce poster présente de façon synthétique les outils développés en analyse d'images [1-2], ainsi que les résultats majeurs obtenus dans le cadre d'une dizaine de projets visant à mieux comprendre les variations de dégradabilité de paroi [3-4], la mise en place des tissus lignifiés au sein des tiges durant le développement des plantes [5-6] ou encore la tolérance au déficit hydrique [7] chez le maïs, le miscanthus ou *Arabidopsis thaliana*.

Cette synthèse se conclue par la mise en avant des principales cibles histologiques permettant de moduler la qualité de la biomasse lignocellulosique et d'offrir aux plantes une meilleure tolérance au manque d'eau.

### Références bibliographiques

- [1] Y. Zhang et al. (2013) J. Agric. Food. Chem., 61, 3186-3192.
- [2] D. Legland et al. In prep.
- [3] V. Méchin et al. (2005) J. Agric. Food. Chem., 53, 5872-5881.
- [4] Y. Zhang et al. (2011) J. Agric. Food. Chem., 59, 10129-10135.
- [5] Y. Zhang (2012) Thèse AgroParisTech, 206p.
- [6] M. Forest (2017) Rapport M2. [7] F. El Hage et al. In prep.

### Mots-clés

histologie, paroi, lignification, dégradabilité, sécheresse

## The *Arabidopsis thaliana* Lectin Receptor Kinase-I.9 (LecRK-I.9): Sentinel at the cell wall?

Bellande K, Canut H

Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV), Université de Toulouse, CNRS, UPS, BP 42617 Auzeville, 31326 Castanet-tolosan, France

Lectins are fundamental to plant life and have important roles in cell to cell communication, development and natural defence strategies. At the cell surfaces, lectins are present as both soluble (LecPs) and chimeric proteins: lectins are then the extracellular domains of receptor-like kinases (LecRKs) and receptor-like proteins (LecRLPs). Together, they constitute versatile recognition systems allowing detection of symbionts and pathogens, and/or cell wall surveillance and cell growth. Cell walls which surround plant cells are dynamic networks. The biochemical composition and architecture of polysaccharides polymers are constantly edited during development, and modified under environmental constraints. During cell expansion, cell walls should be rigid enough to resist turgor pressure, but also dynamic to incorporate new cell wall material without rupturing. These steps must be tightly coordinated in order to maintain growth and are likely performed by a variety of sensor and receptor systems [1]. We are interested in an *Arabidopsis thaliana* receptor-like kinase (LecRK-I.9) with an extracellular domain belonging to the Legume-type lectin family. LecRK-I.9 is a candidate to monitor the cell wall structure by mediating cell wall-plasma membrane contacts [2] and/or by perception of extracellular ATP [3]. In defence responses, LecRK-I.9 acts in part *via* regulating JA signalling components [4]. Here we investigated the role of LecRK-I.9 in response to cell wall damage induced by isoxaben treatment. Isoxaben is an herbicide that causes the inhibition of cellulose synthase activity. Phenotypic analyses of two independent null *lecrk-I.9* mutant lines and two independent *LecRK-I.9* overexpressing lines point to a potential role of *LecRK-I.9* in controlling compensatory responses such as lignin production. We then performed transcriptomic analyses on both *lecrk-I.9* and wild type lines in a kinetics of isoxaben treatment. Large modifications of gene expression were revealed upon isoxaben-induced cell wall damage, as well as differential gene expression between the two genotypes. Genes encoding secreted peptides, cell wall proteins together with proteins potentially involved in reactive oxygen species homeostasis were noticed. Our observations argue for the involvement of LecRK-I.9 in cell wall remodelling processes.

### Références bibliographiques

- [1] S. Wolf et al. (2012) Annu. Rev. Plant Biol., 63, 381-407
- [2] A. Gouget et al. (2006) Plant Physiol., 140, 81-90
- [3] J. Choi et al. (2014) Science, 343, 290-294
- [4] C. Balagué et al. (2016) Mol. Plant Pathol., doi: 10.1111/mpp.12457

### Mots-clés

*A. thaliana*, Lectins, Cell wall damages, LecRK-I.9, Jasmonic acid



**Adsorption of hemicelluloses onto model cellulose surfaces studied by QCM-D**

Zahraa Jaafar, Alexandre Boissière, Ana Villares, Jacqueline Vigouroux, Sophie Le Gall, Nadège Beury, Céline Moreau, Marc Lahaye, Bernard Cathala

*INRA, UR1268 BIA, rue de la Géraudière, BP 71627, F-44316 Nantes, France*

Cellulose is the most abundant biopolymer on earth. It is the object of intense research which particularly focuses on nanocelluloses due to their excellent functionalities, such as surface properties, high mechanical performance, barrier properties or thermal stability. In nature, cellulose microfibrils are embedded within a network of hemicelluloses and pectins forming the primary plant cell wall [1]. Hemicelluloses are key polysaccharides in the regulation of mechanical properties of plant cell walls during organ development and in fruit texture [2]. Yet the relation between their large structural variability and their mechanical functions remains to be discovered. The study of nanocellulose-hemicellulose complexes offers an attractive mean to further our understanding of the cell wall organization and to develop new biobased materials.

Adsorption of xyloglucan and different apple hemicelluloses [2] onto cellulose was investigated in an attempt to develop our understanding on cellulose-hemicelluloses interactions. Cellulose model surfaces were prepared by spin-coating one layer of cellulose nanocrystals (CNC) onto gold-coated quartz crystals. Hemicellulose adsorbed mass was monitored in situ using a quartz crystal microbalance with dissipation (QCM-D) [3,4]. The impact of hemicelluloses molar mass and sugar composition on adsorption will be reported as these results provide the first steps in the determination of the hemicellulose structural basis determining the regime of adsorption and allowing comparison of adsorption processes.

**Références bibliographiques**

- [1] Y. B. Park & D. J. Cosgrove. (2012) *Plant Physiol.*,158, 33-43
- [2] S. Ray et al. (2014) *Carbohydr. Polym.*,108, 46-57
- [3] A. Dammak et al. (2015) *Biomacromolecules*,16, 589-596
- [4] A. Villares et al. (2015) *Soft Matter*,11, 6472-6481

**Mots-clés**

bio-based materials, nanocellulose, hemicellulose, interaction, adsorption

## Rôles des Polygalacturonases (PGs), des enzymes de dégradation des pectines, dans le remodelage de la paroi durant le développement racinaire chez *Arabidopsis thaliana*

Gwennaëlle Chen<sup>a</sup>, Françoise Fournet<sup>a</sup>, Valérie Lefebvre<sup>a</sup>, Laurent Gutierrez<sup>b</sup>, Hervé Demailly<sup>b</sup>, Luciane Zabijak<sup>c</sup>, Paulo Marcelo<sup>c</sup>, Jérôme Pelloux<sup>a</sup>, Olivier Van Wuytswinkel<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Université de Picardie Jules Verne, Biologie des Plantes et Innovation (BIOPI) EA3900, Amiens, France

<sup>b</sup> Centre de ressources régionales en biologie moléculaire (CRRBM), Amiens, France

<sup>c</sup> Plateforme ICAP, CURS, Amiens, France

Les pectines, l'un des composants de la paroi cellulaire primaire des plantes, sont un mélange de polysaccharides complexes, riches en acides galacturoniques. Les Homogalacturonanes (HG), le principal motif pectique, sont la cible d'enzymes de remodelage des pectines (PREs) impliquées dans le contrôle de la rigidité de la paroi. Des recherches récentes ont prouvé l'implication des PREs dans le développement de la plante [1]. Parmi ces PREs, les polygalacturonases (PGs) permettent le clivage des HGs après leur déméthylesterification par des pectine méthylestérases (PMEs). Récemment, il a été montré que deux PGs d'*A. thaliana* jouent un rôle dans le développement des plantes [3 ; 4]. Cependant, les PGs appartiennent à une large famille multigénique de 68 membres chez *A. thaliana* et la fonction de la plupart d'entre elles n'a pas encore été caractérisée.

Dans cette étude, deux PGs d'*A. thaliana*, nommées *PG A* et *PG B*, ont été sélectionnées sur la base de leur expression putative dans les racines. De plus, *PG B* est prédite pour être liée au système membranaire au travers d'une ancre glycosylphosphatidylinositol (GPI) putative [2 ; 5]. Grâce à différentes constructions génétiques, nous avons pu établir que le gène *PG A* est exprimé sur toute la longueur de la racine, excepté au niveau de la zone méristématique de la pointe racinaire. *PG A* est également exprimé dans la coiffe racinaire latérale. Par contre, le gène *PG B* est exprimé uniquement dans le méristème apical racinaire, avec une forte expression au niveau des cellules initiales ainsi que dans les primordia de racines latérales. Des résultats obtenus par une approche en expression transitoire en feuille de tabac indiquent que la protéine *PG A* est bien sécrétée dans l'apoplasme, alors que la protéine *PG B* semble localisée dans la membrane plasmique. Enfin, dans le but de caractériser la fonction de ces deux PGs, les mutants homozygotes ont été obtenus pour chacun des deux gènes. En comparaison du sauvage, ils présentent tous les deux un phénotype d'élongation racinaire et du nombre de racines secondaires. Ces résultats préliminaires semblent indiquer une fonction de ces deux protéines dans le développement racinaire et des expériences supplémentaires devront être menées afin d'établir leur fonction in planta.

### Références bibliographiques

- [1] Sénéchal et al. (2014) J. Exp. Bot. 65: 5125-60
- [2] Gillmor et al. (2005) Plant cell 17: 1128-1140
- [3] Xiao et al. (2014) Plant Cell 26: 1018-1035
- [4] Xiao et al. (2016) Plant J. doi: 10.1111/tpj.13453
- [5] Minic and Jouanin (2006) Plant Physiol Bioch. 44:435-449.

### Mots-clés

Pectines, Homogalacturonanes, Polygalacturonases, Ancre Glycosylphosphatidylinositol, Développement Racinaire

## Etude du lien entre la biosynthèse de la cellulose et le contrôle de l'intégrité de la paroi végétale

Julien Renou, Aline Voxeur, Grégory Mouille, Herman Höfte, Samantha Vernhettes

*Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Centre de Versailles-Grignon, UMR 1318 INRA-AgroParisTech, route de Saint Cyr (RD10), 78026 Versailles cedex, France*

La paroi végétale joue un rôle primordial dans la croissance et le développement des plantes mais aussi dans la perception des changements environnementaux ou lors de la présence de pathogènes. Cette paroi dynamique peut ajuster sa composition et/ou sa structure pour faire face à ces différents stress. Un récepteur pariétal de la famille des *Catharanthus roseus* receptor-like kinase, appelé THESEUS1 (THE1), est capable de percevoir une déficience en cellulose qui est le composant majeur de la paroi végétale. Il a été montré que la mutation *the1-1* de ce récepteur restaure partiellement le phénotype sauvage pour un mutant nain déficient en cellulose car il est affecté au niveau de la sous-unité catalytique de la cellulose synthase *cesa6prc*. Il existe différents types d'inhibiteurs de la biosynthèse de la cellulose (CBI) qui miment le phénotype nain de ce mutant *cesa6prc*. Cette étude met en évidence que ces CBI ont des modes d'action bien différents même si tous perturbent la synthèse de cellulose et sont perçus par le récepteur THE1. L'utilisation des CBI est alors un outil important permettant d'étudier le contrôle de cette intégrité pariétale.

### Références bibliographiques

- [1] K. Hématy et al. (2007) *Curr Biol*, 17(11) :922-31
- [2] T. Desprez et al. (2007) *PNAS*, 104, 39, 15572-15577

### Mots-clés

Paroi végétale, Cellulose, Receptor-like kinase, Inhibiteurs de biosynthèse, Signalisation

## Rôle de la modification des pectines lors de l'interaction plante parasite-plante hôte (Orobanche rameuse-*Arabidopsis thaliana*)

Gautier C<sup>a</sup>, Bouton S<sup>a</sup>, Fournet F<sup>a</sup>, Drouaud J<sup>b</sup>, Goyet V<sup>c</sup>, Veronesi C<sup>c</sup>, Pelloux J<sup>a</sup> et Pageau K<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Biologie des Plantes et Innovation, EA-3900, UPJV, UFR des Sciences, 33 rue St Leu, F-80039, Amiens, France

<sup>b</sup> Centre Régional de Ressources en Biologie Moléculaire UPJV, Bâtiment Serres-Transfert Rue Dallery - UFR des Sciences, Passage du sourire d'Avril, F-80039, Amiens, France

<sup>c</sup> Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales-LBPV, UFR des Sciences, 2 rue de la Houssinière F-44322 Nantes cedex 03, France

Les pectines sont des constituants majeurs de la paroi cellulaire végétale parmi lesquelles on distingue les homogalacturonanes (HG). Les HG peuvent être modifiés par des enzymes spécifiques, les pectine méthylestérases (PME, EC 3.1.1.11) dont l'activité est régulée par des inhibiteurs de PME endogènes (PMEis) qui contrôlent le degré de méthylestérfication des HG [1]. Le degré de méthylestérfication est impliqué dans divers processus physiologiques et notamment lors des interactions plante-pathogène [2, 3, 4]. Cependant, le rôle de la paroi cellulaire lors de l'interaction plante hôte-plante parasite est assez peu caractérisé. Il a été néanmoins rapporté que la sécrétion d'une substance mucilagineuse enrichie en pectines non-méthylestérfifiées joue un rôle important dans les réponses de défense de la plante hôte, *Vicia sativa*, face à la plante parasite *Orobanche crenata* [5]. L'activité d'enzymes de remodelage des pectines a également été détectée (polygalacturonases, rhamnogalacturonases...) durant la germination de graines d'*Orobanche ramosa* [6]. Ainsi, le modèle Orobanche rameuse-*Arabidopsis* permettrait d'étudier le rôle des pectines dans les interactions plante-plante et d'approfondir les interconnexions possibles entre les enzymes de modifications des pectines de la plante hôte et de la plante parasite. L'objectif de cette étude est donc d'identifier les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire afin de mieux comprendre comment les plantes parasites colonisent les plantes hôtes et comment les plantes hôtes mettent en place leur système de défense.

L'analyse des modifications de la paroi cellulaire de la plante hôte a été réalisée avant fixation et après fixation (30 jours après accrochage) de l'Orobanche rameuse sur les racines d'*Arabidopsis* via une analyse de l'expression des gènes codant les enzymes de remodelage des pectines (PME, PMEi, PAE, PG, PL) par PCR quantitative en temps réel. Le degré de méthylestérfication et donc la modification des pectines, a été étudié par immuno-marquage sur coupes cytologiques et microscopie confocale (anticorps spécifique de la paroi cellulaire). Une analyse bio-informatique a également été entreprise afin de connaître le nombre de gènes codant les enzymes de modification des pectines chez l'Orobanche rameuse et de comparer les séquences codant ces enzymes à celles d'*Arabidopsis*. Enfin, le rôle de la modification des pectines dans les mécanismes de défense de la plante hôte a été abordé par l'analyse de l'interaction O. rameuse-mutant *AtPME3*, gène identifié comme étant important dans l'établissement du parasitisme nématode cyst *Heterodera shachtii* avec *Arabidopsis* [3].

### Références bibliographiques

- [1] Pelloux et al. (2007) Trends Plant Sci., 12, 267-77
- [2] Divol et al. (2005) Plant Mol Biol., 57, 517-40
- [3] Hewezi et al. (2008) Plant cell, 20, 3080-3093
- [4] Raiola et al. (2011) Mol Plant Microbe Interact., 2, 432-4
- [5] Perez-de-Luque et al. (2006) Journal of Experimental Botany, 57, 1461-1469
- [6] Veronesi et al. (2007) Biologia Plantarum, 51, 391-394.

### Mots-clés

paroi, stress biotique, pectines, RT-qPCR, cytologie-microscopie confocale

## Etude transcriptomique et métabolomique de la graine de lin au cours de son développement : interactions tégument – embryon

Cherkaoui M<sup>a</sup>, Miart F<sup>a</sup>, Bouton S<sup>a</sup>, Fournet F<sup>a</sup>, Marcelo P<sup>c</sup>, Fontaine JX<sup>a</sup>, Mongelard G<sup>b</sup>, Wattier C<sup>b</sup>, Molinié R<sup>a</sup>, Demailly H<sup>b</sup>, Gutierrez L<sup>b</sup>, Thomasset B<sup>d</sup>, Van Wuytswinkel O<sup>a</sup>, Mesnard F<sup>a</sup> & Pageau K<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire de Biologie des Plantes et Innovation, EA-3900, UPJV, UFR des Sciences, 33 rue St Leu, F-80039, Amiens, France*

<sup>b</sup> *Centre Régional de Ressources en Biologie Moléculaire UPJV, Bâtiment Serres-Transfert Rue Dallery - UFR des Sciences, Passage du sourire d'Avril, F-80039, Amiens, France*

<sup>c</sup> *Plateforme d'Ingénierie Cellulaire et d'Analyses des Protéines, Centre Universitaire de Recherche en Santé, UPJV, F-80000 Amiens, France*

<sup>d</sup> *Laboratoire de Génie Enzymatique et Cellulaire, CNRS UMR-FRE 6022, UTC, Université de Compiègne, F-60205, Compiègne, France*

Les voies de biosynthèse du mucilage et des phénylpropanoïdes, synthétisés dans le tégument de la graine, et celles des huiles, stockées dans l'embryon, sont particulièrement bien détaillées chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* [1]. Pour une meilleure compréhension de ces voies de biosynthèse et de leurs interactions entre le tégument et l'embryon de la graine de lin (*Linum ussitatissimum* L.), une approche de biologie intégrative a été développée au cours du développement de la graine.

Trois lignées recombinantes issues du croisement entre un lin « fibre », Viking et un lin « huile », Oliver ont été sélectionnées sur la base de leurs teneurs variées en mucilage et en huiles. Elles ont ensuite été caractérisées par une approche pluridisciplinaire réalisée sur le tégument et l'embryon de la graine au cours du développement (10, 15, 25, 35 jours après floraison, stade mature). Ainsi, l'analyse métabolomique non-ciblée a permis d'identifier 20 métabolites discriminants entre les trois lignées sélectionnées au cours du développement de la graine. Parmi ces métabolites, 3 apparaissent comme étant important pour leur implication dans les métabolismes des sucres et des lipides (glucose, saccharose, glycérol) [2, 3]. L'analyse transcriptomique par puces à ADN montre que le nombre de gènes différenciellement exprimés entre chacune des trois lignées est beaucoup plus important dans le tégument que dans l'embryon, 25 jours après fécondation (DAF25). A ce stade précis de développement, il a été identifié des gènes impliqués dans les voies de biosynthèse du mucilage, des huiles et acides gras dont l'expression a été validée par PCR quantitative en temps réel. Par ailleurs, une analyse protéomique du mucilage de la graine de lin a permis d'identifier une protéine candidate, orthologue de la protéine PRX36 d'*Arabidopsis*, identifiée comme ayant un rôle dans les mécanismes de libération du mucilage [4]. Enfin par un marquage « ITRAQ » des protéines extraites du tégument des graines des 3 lignées, il a également été montré que le nombre de protéines différenciellement exprimées était plus important entre les 3 lignées dans le tégument à 25 jours après floraison.

### Références bibliographiques

- [1] Shi et al. (2012) *Plant J.*, 69, 37-46
- [2] Gutierrez et al. (2006) *J. Exp. Bot.*, 57, 1919-1932
- [3] Attoumbré et al. (2011) *Phytochem. Lett.*, 4, 194-198
- [4] Kunieda et al., (2013) *Plant Cell*, 25(4):1355-67.

### Mots-clés

lin, relations tégument-embryon, mucilage, acides gras, RT-qPCR, cytologie-microscopie confocale, biologie intégrative

## Intégration de données multi-omiques : exemple d'un stress hydrique chez le lin avec le projet NoStressWall

Estelle Goulas<sup>a</sup>, Guillemette Marot<sup>b</sup> Audrey Hulot<sup>f</sup>, Arnaud Day<sup>a</sup>, Malika Chabia<sup>a</sup>, Sandrine Aribat<sup>a</sup>, Godfrey Neutelings<sup>a</sup>, Anne-Sophie Blervacq<sup>a</sup>, Christian Rolando<sup>c</sup>, Fabrice Bray<sup>c</sup>, Ophélie Flinaux<sup>d</sup>, Hyacinthe Le Gall<sup>d</sup>, Françoise Gillet<sup>d</sup>, Jean-Marc Domon<sup>d</sup>, Catherine Rayon<sup>d</sup>, Caroline Tokarski<sup>d</sup>, Jérôme Pelloux<sup>d</sup>, François Mesnard<sup>d</sup>, Anca Lucau-Danila<sup>e</sup>, Simon Hawkins<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Univ. Lille, CNRS, UMR 8576 – UGSF - Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, F-59000 Lille, France

<sup>b</sup> Inria Lille Nord Europe, MODAL, F-59000 Lille, France

<sup>c</sup> Université Lille Nord de France, USR CNRS 3290, Miniaturisation pour la Synthèse, l'Analyse et la Protéomique (MSAP), Villeneuve d'Ascq Cedex, France

<sup>d</sup> Université de Picardie Jules Vernes, Biologie des Plantes et Innovation (EA3900 BIOPI), Amiens, France

<sup>e</sup> Université Lille Nord de France, CIIL - UMR 8204/ INSERM U1019/CNRS/ Pasteur Institute of Lille, Transcriptomics & Applied Genomics, Lille, France

<sup>f</sup> Univ. Lille, EA 2694 & bilille - statistique pour la bioinformatique, F-59000 Lille, France

Dans le cadre du projet ANR NoStressWall visant à mieux comprendre comment le lin, plante d'intérêt économique (textiles, bio-composites, isolation), est capable de faire face à un déficit hydrique, des jeux de données transcriptomiques (3704 gènes différentiellement exprimés), protéomiques (396 protéines différentiellement exprimées), métaboliques (40 métabolites différentiellement exprimés) et morphologiques (8 variables) ont été générés au niveau des feuilles, tiges et racines, pendant une cinétique de 10 jours (d1, d4, d10). Afin d'aboutir à une compréhension précise des mécanismes d'adaptation du lin à un tel stress, nous avons considéré ces jeux de données ensemble et non-pas séparément comme cela est fait plus traditionnellement. Ce type d'approche qualifiée de «biologie intégrative» permet ainsi de considérer simultanément les effets géniques, protéiques et métaboliques par rapport aux variables morphologiques. À cette fin, nous avons utilisé un package de R 'mixOmics', (<http://mixomics.org>). En utilisant la fonction sPLS (Sparse Partial Least Squares), nous avons pu intégrer et sélectionner simultanément quelles étaient les variables pertinentes à partir de 2 ensembles de données ('blocs') et ainsi générer des réseaux molécules biologiques - paramètres morphologiques pour chaque organe. En outre, par des analyses multi-blocs (c'est-à-dire avec l'intégration de plus de 2 jeux de données) grâce à la fonction block.spls, nous avons cherché à i) étudier les relations entre les différents jeux de données et ii) à identifier dans chaque bloc quels sont les sous-ensembles de variables «actives» qui sont en forte relation avec les autres blocs.

### Mots-clés

biologie intégrative, protéomique, métabolomique, transcriptomique, mixOmics, stress hydrique, lin

## Molecular Dynamics simulations reveals pH-dependent inhibition of PMEs through the modulation of PME-PMEI interaction

Olivier Habrylo<sup>a†</sup>, Ludivine Hocq<sup>c</sup>, Fabien Sénéchal<sup>a†</sup>, Valérie Lefebvre<sup>a</sup>, Jean-Marc Domon<sup>a</sup>, Paulo Marcelo<sup>b</sup>, François Guérineau<sup>a</sup>, Katra Kolsek<sup>c</sup>, Davide Mercadante<sup>c</sup> and Jérôme Pelloux<sup>a</sup>

<sup>a</sup> EA3900-BIOPI Biologie des Plantes et Innovation, SFR Condorcet FR CNRS 3417, Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France

<sup>b</sup> Plateforme d'Ingénierie Cellulaire en Analyses des Protéines, Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France

<sup>c</sup> HITS GmbH, Heidelberg Institute for Theoretical Studies, 69118 Heidelberg, Germany

<sup>†</sup> Have contributed equally to the work Plateforme d'Ingénierie Cellulaire en Analyses des Protéines, Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens.

The fine-tuning of the degree of methylesterification of cell wall pectin is a key to regulate cell elongation and ultimately the shape of plant body. Pectin methylesterification is spatio-temporally controlled by pectin methylesterases (PMEs, 66 members in Arabidopsis). The comparably large number of proteinaceous pectin methylesterase inhibitors (PMEIs, 76 members in Arabidopsis) questions the specificity of the PME-PMEI interaction and the functional role of such abundance. To understand the difference, or redundancy, between PMEIs, 3 PMEIs have been selected for their overlapping expression patterns with *AtPME3*. Through a multidisciplinary approach, that included biochemistry, experimental and computational biophysics, we characterized the specificity of the interaction between these inhibitors and *AtPME3*. Results showed that *AtPMEI9* is a stronger inhibitor of *AtPME3* activity compared to *AtPMEI4* and *AtPMEI7*. More importantly, *AtPMEI4/AtPMEI7* and *AtPMEI9* showed different inhibiting abilities depending on pH. We used molecular dynamics simulations to identify the determinants of the pH-dependent action of *AtPMEI7*. These findings shed new light into the functional diversity of PMEIs, allowing the discovery of a strategy that may be used by PMEIs to inhibit PMEs in different micro-environmental conditions and paving the way to identify the specific role of distinct PMEIs *in muro*.

### Mots-clés

pectin, PME, PMEI, molecular dynamics simulation

## L'exploration de l'architecture de la biomasse lignocellulosique : apports de l'imagerie et de la spectroscopie de fluorescence en microscopie confocale

Christine Terryn<sup>a</sup>, Anouck Habrant<sup>b</sup>, Corentin Spriet<sup>c</sup>, Brigitte Chabbert<sup>b</sup>, Gabriel Paës<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Université de Reims Champagne-Ardenne, Plateforme d'Imagerie Cellulaire et Tissulaire (PICT), 51 rue Cognacq-Jay, Reims, France

<sup>b</sup> INRA, Université de Reims Champagne-Ardenne, UMR Fractionnement des AgroRessources et Environnement (FARE), 2 Esplanade Roland Garros, Reims, France

<sup>c</sup> CNRS, Université de Lille, Plateau Traitement de l'Image et du Signal pour la Biologie (TSIBio), Parc de la Haute Borne, 50 avenue de Halley, Villeneuve d'Ascq, France

Afin de limiter notre dépendance vis-à-vis des ressources de carbone fossile non renouvelables à l'origine du changement climatique, l'utilisation des ressources de la biomasse lignocellulosique (bois, culture dédiées, résidus de culture) s'avère prometteuse pour la production de carburants, matériaux et produits chimiques. Ces ressources sont en effet renouvelables et ne rentrent pas en concurrence directement avec la production d'aliments. Cette biomasse lignocellulosique est très complexe aux niveaux structural et chimique, car elle est composée de trois polymères : la cellulose, les hémicelluloses et les lignines. C'est pourquoi sa transformation dans le cadre de la bioraffinerie est encore complexe et coûteuse. En particulier, l'utilisation de catalyseurs enzymatiques est limitée par des problèmes d'accessibilité des enzymes et d'efficacité d'hydrolyse. Des étapes de pré-traitement physico-chimiques sont donc la plupart du temps utilisées afin de lever en partie ces difficultés. La microscopie confocale et les techniques d'imageries associées constituent un outil de choix pour appréhender, au niveau microscopique, les processus mis en œuvre dans la déconstruction raisonnée de la biomasse lignocellulosique. Ainsi, à partir d'un échantillon de biomasse donné, des coupes de quelques dizaines de  $\mu\text{m}$  peuvent être réalisés par microtomie. Ces coupes peuvent être observées grâce à leur fluorescence naturelle (autofluorescence), qui provient majoritairement des lignines (Fig. 1). De façon plus précise, la mesure du temps de vie de fluorescence par la technique de FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy) permet d'obtenir de précieuses informations sur l'organisation des liaisons au sein des lignines et l'impact des pré-traitements sur ces liaisons. De plus, grâce à l'utilisation de la technique de FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching), l'accessibilité des substrats et la présence de certains motifs chimiques peuvent facilement être mises en évidence. Enfin, les échantillons peuvent être également imagés et reconstruits en 3D ce qui permet de matérialiser les évolutions de l'architecture selon les traitements mis en œuvre. Ces outils viennent idéalement compléter les approches chimiques et biochimiques couramment utilisées dans les laboratoires de recherche.

### Mots-clés

Biomasse, lignocellulose, fluorescence, microscopie, spectroscopie, F-technique



## Looking at lignin all day long is just BLISS!!!

Clémence Simon<sup>a</sup>, Cedric Lion<sup>a</sup>, Louis Tirot<sup>a</sup>, Brigitte Huss<sup>a</sup>, Djadidi Ahmed<sup>a</sup>, Yann Guerardel<sup>a</sup>, Sophie Adler<sup>a</sup>, Elodie Richard<sup>b</sup>, Christian Slomianny<sup>b</sup>, Anne-Sophie Blervacq<sup>a</sup>, Christophe Biot<sup>a</sup>, Simon Hawkins<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Univ. Lille, CNRS, UMR 8576 – UGSF - Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, F 59000 Lille, France

<sup>b</sup> University of Lille, Sciences and Technologies, BioImaging Center, SN3, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

Lignin is a major cell wall polymer in certain plant tissues where it plays a vital role in mechanical support, xylem sap transport and defense. The lignin polymer is progressively assembled in the cell wall by an oxidative polymerization process in which the monomeric units (monolignols) are first enzymatically oxidized by peroxidases and/or laccases to form free radicals that then undergo spontaneous polymerization. In angiosperms, three main monolignols (p-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol and sinapyl alcohol) are oxidized giving rise to the H (hydroxyphenyl) units, G (guaiacyl) units and S (syringyl) units of the lignin polymer [1]. A better understanding of the lignification process *in vivo* is usually hampered because of a lack of suitable probes. Although fluorescence-tagged monolignols have been developed [2] these often present the disadvantage of the tag being larger than the tagged molecule thereby potentially interfering with the reactivity of the lignin monomer. More recently a bioorthogonal reaction approach has used coniferyl alcohol monolignols tagged with clickable azide or alkyne tags to investigate lignification in *Arabidopsis* [3], [4], [5]. However, in nature, the lignin polymer is usually composed of more than one type of monolignol and a more accurate picture of lignin formation therefore requires the use of multiple chemical reporters and simultaneous detection. Here we report on the recent development of a “Bioorthogonal Labeling Imaging Sequential Strategy » (BLISS) to visualize and analyze the incorporation of both p-hydroxyphenyl (H) and guaiacyl (G) units into flax (*Linum usitatissimum* L.) lignin *in vivo* by using a combination of strain-promoted and copper-catalyzed azide-alkyne cycloadditions (SPAAC/CuAAC) [6].

### Références bibliographiques

- [1] K.V. Sarkanen & C.H. Ludwig (1971). Lignins, occurrence, formation, structure, and reactions. Wiley
- [2] Y. Tobimatsu et al. (2011). *Biomacromol.* 12, 1752-1761
- [3] Bukowski et al. (2014). *Bioconjugate Chem.* 25, 2189-2196
- [4] Y. Tobimatsu et al. (2014). *Chem. Commun.* 50, 12262-12265
- [5] J. Pandey et al. (2016). *Frontiers Plant Sci.* 7
- [6] C. Lion et al. (2017). *Cell Chem. Biol.* 24(3), 326-338

### Mots-clés

lignin, bioorthogonal reaction, click chemistry, flax

## Structural variability in the caulosphere and rhizosphere microbiome during flax dew-retting.

Christophe Djemiel, Sébastien Grec, Simon Hawkins

*Univ. Lille, CNRS, UMR 8576 - UGSF - Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, F-59000 Lille, France*

The existence of spun and colored flax fibers dating from the Upper Paleolithic suggests that man has long exploited the biotechnological process known as retting to extract these fibers from the flax plant for textile production [1, 2]. In the case of dew-retting, the complex microbiological process is achieved directly on the soil surface of the field [3, 4]. Despite many studies of this process to evaluate the degree of retting [5], relatively little is known about (i) the composition and the dynamics of the microflora population during retting, (ii) the spatial-temporal effect on the microbiome and (iii) the composition and the evolution of Carbohydrate Active enZymes degrading plant cell walls [6].

To improve our understanding of dew-retting, we used a high throughput sequencing (HTS) metabarcoding approach (16S rRNA and ITS regions, Illumina Miseq system) to analyze the composition and dynamics of the rhizosphere (soil) and caulosphere (stem) microbial populations during this process.

This study was conducted within the framework of the collaborative French 'Future project' 'StructuratIoN de la filière Fibres techniques d'Origine végétale pour usages matériaux' (SINFONI). Our results allowed us to (i) report the first exhaustive HTS microbial inventory focusing on both bacteria (16S rRNA) and fungi (Internal Transcript Spacer 2), (ii) evaluate the impact of a number of different parameters likely to affect microbiome structural variability and retting efficiency and (iii) to ascertain the bacterial and fungal groups responsible for the observed community differentiation in the caulosphere. In addition, we also used PICRUSt to predict potential bacterial enzymatic functions related to carbohydrate degradation and FUNGuild to determine fungal trophic modes [7, 8].

### Références bibliographiques

- [1] Gübitz, G.M. & Cavaco-Paulo (2001) *Journal of biotechnology*, 89(2–3), pp.89–90.
- [2] Kvavadze, E. et al. (2009) *Science*, 325(5946), pp.1359–1359
- [3] Md. Tahir, P. et al. (2011) *BioResources*, 6(4), pp.5260–5281
- [4] Akin, D.E., (2013) *ISRN Biotechnology*, 2013, p.23
- [5] Martin, N. et al. (2013) *Industrial Crops and Products*, 49, pp.755–767
- [6] Lombard, V. et al. (2014) *Nucleic acids research*, 42(Database issue), pp.D490-5
- [7] Langille, M.G. et al. (2013) *Nat Biotechnol*, 31(9), pp.814–821
- [8] Nguyen, N.H. et al. (2016) *Fungal Ecology*, 20, pp.241–248.

### Mots-clés

Flax, Dew-retting, Plant Cell Wall Degrading Enzymes, Metabarcoding, Ecosystem, Bacteria, Fungi

***In situ* measurement of molecule mobility in mucilage polysaccharide gels from different species**

Adeline Berger<sup>a</sup>, Olivier Grandjean<sup>a</sup>, Corinne Rondeau-Mouro<sup>b</sup>, Helen M. North<sup>a</sup>

<sup>a</sup> INRA, Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, Agro Paris-Tech, CNRS, Université Paris Saclay, 78000 Versailles, France

<sup>b</sup> Irstea, UR OPAALE, 17 Avenue de Cucillé, CS 64427, F-35044 Rennes

On imbibition the seeds of certain species form a polysaccharide hydrogel, termed mucilage. In *Arabidopsis thaliana* and *Camelina Sativa*, this mucilage is composed of 2 layers, the outer being water-soluble while the inner is tightly attached to the seed surface. Determining the macromolecular properties of mucilage polymers in the inner mucilage layer can only be achieved *in situ* as detaching the polysaccharides involves breaking them either by physical or enzymatic methods, which alters or eliminates their structure. The physicochemical properties of mucilage polysaccharides will affect accessibility and mobility of molecules within the hydrogel. In order to compare inner mucilage properties between species, we have developed methods that can be applied to intact seeds. In a previous study we used low-field nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy to characterize water uptake and mobility in *Arabidopsis* mucilage based on T2 relaxation times (1). We have now developed complementary cytological techniques to examine the molecule mobility that exploit fluorescent recovery after photobleaching (FRAP) and fluorescence anisotropy. Our results show that although molecules of different sizes show similar mobile fractions, the recovery time becomes slower with increased molecule size. The speed with which molecules rotate is also size dependent. The larger mucilage layer in *Camelina sativa* allowed mobility to be measured in different regions of the mucilage and indicate that heterogeneity for physicochemical properties exists within this layer. A comparison of mobility in *Arabidopsis thaliana* and *Camelina sativa* mucilage will be presented in addition to data from H-NMR microspectroscopy, which is also being developed for *Camelina* seeds.

**Références bibliographiques**

[1] Saez-Aguayo, S., Rondeau-Mouro, C., Macquet, A., Kronholm, I., Ralet, M.-C., Berger, A., Sallé, C., Poulain, D., Granier, F., Botran, L., Loudet, O., de Meaux, J., Marion-Poll, A., North, H.M. (2014) Local Evolution of Seed Flotation in *Arabidopsis*. PLoS Genet. 10(3): e1004221.

**Mots-clés**

Mucilage, seed, *Arabidopsis*, *Camelina*, microscopy

## The heat is on: what is the effect of climate change on seed mucilage production in *Arabidopsis*?

I. Fabrissin<sup>a</sup>, T. Cadoret<sup>b</sup>, D. Charif<sup>a</sup>, A. Berger<sup>a</sup>, J. Tran<sup>a</sup>, D. Poulain<sup>b</sup>, M.J-Crépeau<sup>b</sup>, M.-C Ralet<sup>b</sup>, H.M. North<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, 78000 Versailles, France

<sup>b</sup> INRA, UR 1268 Biopolymères Interactions Assemblages, F-44316 Nantes, France.

In the context of global warming, it has become important to predict how climate change will affect biodiversity. *Arabidopsis thaliana* is a wild species growing in a wide range of environmental conditions and shows variation between populations due to natural selection of adaptive traits. This genetic variation underlies evolutionary changes that have been maintained in a population because they are advantageous. Over 300 natural *Arabidopsis* variants have been characterised here for variation in the production of seed mucilage. Mucilage is formed from polysaccharides accumulated in the epidermal cells of the seed coat during development on the mother plant. These polysaccharides are released on imbibition to form a halo of mucilage. *Arabidopsis* mucilage is formed of two distinct layers an outer water-extractable layer and an inner adherent layer, both of which contain the pectin rhamnogalacturonan I (RG-I) as the major component (1). Mucilage is hypothesized to be important for seed dispersal, germination and seedling establishment (2, 3). To determine whether mucilage provides a selective advantage in particular climate conditions, the quantity, composition and physico-chemical properties of outer mucilage polysaccharides were measured and correlated with geographical data. The quantity of outer mucilage layer polysaccharides produced appeared to be adapted to environmental temperature. To better assess the impact of temperature on mucilage production, accessions showing the most extreme characteristics for their outer mucilage layer have been grown at different temperatures during seed production. Results will be presented showing how variations in outer and inner mucilage composition and properties are affected by temperature. To gain more information about the adaptive role of mucilage, the phenotypic data obtained from natural variants has also been used to explore the underlying genetic basis of outer mucilage characteristics. A recent study has provided a large panel of whole-genome information for *Arabidopsis* naturally inbred lines allowing genome wide association study (GWAS) to be performed (4). This approach aims to identify novel genetic factors that influence mucilage synthesis and physico-chemical properties. The effect of temperature on the expression of genes identified here and previously shown to be involved in mucilage production is ongoing. Our results will provide a better understanding of the effect of climate change on seed mucilage production in *Arabidopsis*.

### Références bibliographiques

- [1] Macquet, A., Ralet, M.-C., Kronenberger, J., Marion-Poll, A. & North, H. M. (2007) *In situ*, Chemical and Macromolecular Study of the Composition of *Arabidopsis thaliana* Seed Coat Mucilage. *Plant Cell Physiol.* 48, 984–999
- [2] Yang, X., Baskin, J. M., Baskin, C. C. & Huang, Z. (2012) More than just a coating: Ecological importance, taxonomic occurrence and phylogenetic relationships of seed coat mucilage. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 14, 434–442
- [3] North, H. M., Berger, A., Saez-Aguayo, S. & Ralet, M.-C. (2014) Understanding polysaccharide production and properties using seed coat mutants: future perspectives for the exploitation of natural variants. *Ann. Bot.* 114, 1251–1263
- [4] Alonso-Blanco, C. et al. (2016) Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 166, 481–491

### Mots-clés

mucilage, seed development, climate change, *Arabidopsis thaliana*, natural variation

**Desiccation tolerance in plants: structural characterization of the cell wall modification in three *Selaginella* species.**

Barbara Plancot<sup>a</sup>, Bruno Gugi<sup>a</sup>, Jean-Claude Mollet<sup>a</sup>, Corinne Bourhis-Loutelier<sup>b</sup>, Ramasandra Govind Sharathchandra<sup>c</sup>, Patrice Lerouge<sup>a</sup>, Marie-Laure Follet-Gueye<sup>a</sup>, Maité Vicré<sup>a</sup>, Eric Nguema-Ona<sup>a</sup>, Muriel Bardor<sup>a</sup>, Azeddine Driouich<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Normandie Univ, UniRouen, Fédération de Recherche "Normandie-Végétal"-FED 4277, Laboratoire de Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, 7600 Rouen France

<sup>b</sup> Normandie Univ, UniRouen, CNRS UMR 6014, COBRA, 76000 Rouen, France

<sup>c</sup> Department of Studies and Research in Environmental Science. Tumkur University, Tumkur, Karnataka, 572103, India.

*Selaginella* are among the most basal vascular plants with a pattern of shoot and root branching. Many of these plants, including *Selaginella involvens* have acquired desiccation tolerance. In the present work, we report on the structural characterization of the leaf cell wall of the desiccation-tolerant species *S. involvens* and two desiccation-sensitive species, namely *S. kraussiana* and *S. moellendorffii*. Isolated cell walls from hydrated and desiccated leaves were fractionated and the resulting oligosaccharide fragments were analyzed in order to determine their structural features. Our major findings are 1) leaf cell walls of the three *Selaginella* species are mainly composed of hemicellulosic polysaccharides (i.e., arabinoxylan and mannan), 2) the level of arabinose residues increases significantly in desiccated *S. involvens* as compared to desiccated *S. moellendorffii* and *S. kraussiana*, 3) the xyloglucan structure in *S. kraussiana* is of XDDG type that is rarely found in plants, whereas the xyloglucan structure of *S. involvens* and *S. moellendorffii* is of a classical XXXG type, 4) the structure of xyloglucan in *S. involvens* is modified during desiccation and finally 5) the branching of xylan backbone increases in *S. involvens* during desiccation. Altogether, these findings indicate that leaf cell walls of *Selaginella* species are highly enriched in hemicellulosic polysaccharides whose structure is modulated in response to desiccation.

**Mots-clés**

cell wall, desiccation, hemicellulose, mannan, polysaccharide, xylan, xyloglucan.

## Expression atlas and comparative co-expression network analyses reveal important genes involved in the formation of lignified cell wall in *Brachypodium distachyon*

Richard Sibout<sup>a</sup>, Sebastian Proost<sup>b</sup>, Bjoern Oest Hansen<sup>b</sup>, Neha Vaid<sup>b</sup>, Federico M. Giorgi<sup>c</sup>, Severine Ho-Yue-Kuang<sup>a</sup>, Frédéric Legée<sup>a</sup>, Laurent Cézart<sup>a</sup>, Oumaya Bouchabké-Coussa<sup>a</sup>, Camille Soulhat<sup>a</sup>, Nicholas Provart<sup>d</sup>, Asher Pasha<sup>d</sup>, Philippe Lebris<sup>a</sup>, David Roujol<sup>e</sup>, Herman Höfte<sup>a</sup>, Elisabeth Jamet<sup>e</sup>, Catherine Lapierre<sup>a</sup>, Staffan Persson<sup>f</sup>, Marek Mutwil<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, RD10, Versailles Cedex 78026, France

<sup>b</sup> Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Am Muehlenberg 1, 14476 Potsdam, Germany

<sup>c</sup> Cancer Research UK, Cambridge Institute, Robinson Way CB20RE Cambridge, United Kingdom

<sup>d</sup> Department of Cell and Systems Biology, Centre for the Analysis of Genome Evolution and Function, University of Toronto, 25 Willcocks St., Toronto, ON, M5S 3B2, Canada

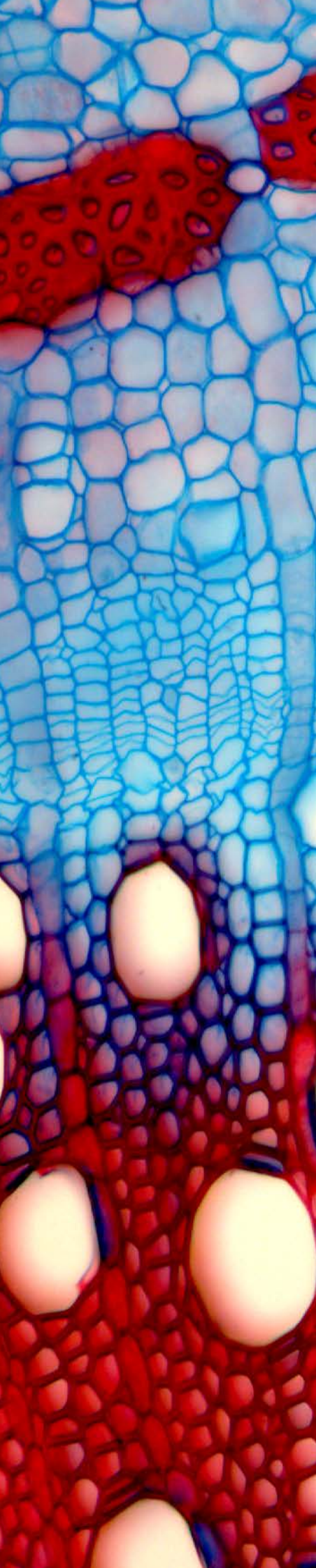
<sup>e</sup> Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Castanet-Tolosan, France

<sup>f</sup> School of Biosciences, University of Melbourne, Parkville, Victoria 3010, Australia

While *Brachypodium distachyon* is an emerging model for grasses, no expression atlas and gene co-expression network is available. Such tools are of high importance to provide insights into the function and regulation of grass genes. We present a detailed *Brachypodium* expression atlas, capturing gene expression in its major organs at different developmental stages. The data was integrated into large-scale co-expression database ([www.gene2function.de](http://www.gene2function.de)), enabling identification of duplicated pathways and conserved processes across ten plant species, thus allowing genome-wide inference of gene function. Expression data are also available on BAR (<http://bar.utoronto.ca/>). We highlight the importance of the atlas and the platform through the identification of duplicated cell wall modules, and show that a lignin biosynthesis module is conserved across angiosperms. Despite impact of ferulate 5-hydroxylase (F5H) overexpression in grasses has never been reported, we identified and functionally characterized a putative F5H gene through overexpression of it in *Brachypodium*. It resulted in an increase in lignin syringyl units and reduced lignin content of mature stems, and led to improved saccharification of the stem biomass. Our *Brachypodium* expression atlas thus provides a powerful resource to reveal functionally related genes, which may advance our understanding of important biological cell wall processes in grasses.

### Mots-clés

*Brachypodium*, biomass, secondary cell wall



## **PARTICIPANTS**

|    | Prénom     | Nom               | Adresse électronique   | Unité de recherche  | Conférence<br>Poster  |
|----|------------|-------------------|--|---|-----------------------|
| 1  | Sophie     | Adler             | <a href="mailto:sophie.adler@u-picardie.fr">sophie.adler@u-picardie.fr</a>                     | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | P19                   |
| 2  | Marie      | Baucher           | <a href="mailto:mbaucher@ulb.ac.be">mbaucher@ulb.ac.be</a>                                     | LBV, Université libre de Bruxelles, Gosselies, Belgique             | C18                   |
| 3  | Sebastien  | Beaubiat          | <a href="mailto:sebastien.beaubiat@inra.fr">sebastien.beaubiat@inra.fr</a>                     | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | P5, P6                |
| 4  | Marc       | Behr              | <a href="mailto:marc.behr@list.lu">marc.behr@list.lu</a>                                       | ERID, LIST, Esch/Alzette, Luxembourg                                | C16                   |
| 5  | Kevin      | Bellande          | <a href="mailto:kevin.bellande@lrsv.ups-tlse.fr">kevin.bellande@lrsv.ups-tlse.fr</a>           | LRSV, CNRS-Université Toulouse III, Castanet-Tolosan                | P10                   |
| 6  | Nassim     | Belmokhtar        | <a href="mailto:nassim.belmokhtar@inra.fr">nassim.belmokhtar@inra.fr</a>                       | AGPF, INRA-Val de Loire   | C23                   |
| 7  | Adeline    | Berger            | <a href="mailto:adeline.berger@inra.fr">adeline.berger@inra.fr</a>                             | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | P21, P22              |
| 8  | Hayat      | Bouteau           | <a href="mailto:hayat.bouteau@upmc.fr">hayat.bouteau@upmc.fr</a>                               | LBD-IBPS, Université Pierre & Marie Curie, Paris                    | P3                    |
| 9  | Sophie     | Bouton            | <a href="mailto:sophie.bouton@u-picardie.fr">sophie.bouton@u-picardie.fr</a>                   | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | C5, C7, C12, P14, P15 |
| 10 | Hua        | Cassan-Wang       | <a href="mailto:wang@lrsv.ups-tlse.fr">wang@lrsv.ups-tlse.fr</a>                               | LRSV, CNRS-Université Toulouse III, Castanet-Tolosan                | C20                   |
| 11 | Romain     | Castilleux        | <a href="mailto:romain.castilleux@gmail.com">romain.castilleux@gmail.com</a>                   | Glyco-MEV, Université de Rouen Normandie, Mont Saint-Aignan         | C31                   |
| 12 | Brigitte   | Chabbert          | <a href="mailto:brigitte.chabbert@inra.fr">brigitte.chabbert@inra.fr</a>                       | FARE, INRA-Université Reims Champagne Ardennes, Reims               | C23, P18              |
| 13 | Anne-Laure | Chateigner-Boutin | <a href="mailto:anne-laure.chateigner-boutin@inra.fr">anne-laure.chateigner-boutin@inra.fr</a> | BIA, INRA-Angers-Nantes, Nantes                                     | C11, C19              |
| 14 | Gwennaëlle | Chen              | <a href="mailto:gwennaelle.chen@u-picardie.fr">gwennaelle.chen@u-picardie.fr</a>               | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | P12                   |
| 15 | Bruno      | Clair             | <a href="mailto:bruno.clair@cnrs.fr">bruno.clair@cnrs.fr</a>                                   | ECOFOG, CNRS, Kourou, Guyane  | C14                   |
| 16 | Sylvie     | Coursol           | <a href="mailto:sylvie.coursol@inra.fr">sylvie.coursol@inra.fr</a>                             | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | C25, C29, P9          |
| 17 | Annabelle  | Déjardin          | <a href="mailto:annabelle.dejardin@inra.fr">annabelle.dejardin@inra.fr</a>                     | AGPF, INRA-Val de Loire, Orléans                                    | C14, C15              |
| 18 | Armelle    | Delile            | <a href="mailto:armelle.delile@inra.fr">armelle.delile@inra.fr</a>                             | AGPF, INRA-Val de Loire, Orléans                                    |                       |
| 19 | Christophe | Djemiel           | <a href="mailto:christophe.djemiel@gmail.com">christophe.djemiel@gmail.com</a>                 | UGSF, CNRS-Université Lille Nord de France, Lille                   | P20                   |
| 20 | Jean-Marc  | Domon             | <a href="mailto:jean-marc.domon@u-picardie.fr">jean-marc.domon@u-picardie.fr</a>               | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | C6, C28, P16, P17     |
| 21 | Catalina   | Duran Garzon      | <a href="mailto:catalina.duran@u-picardie.fr">catalina.duran@u-picardie.fr</a>                 | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | C28                   |
| 22 | Harold     | Durufié           | <a href="mailto:harold.durufle@lrsv.ups-tlse.fr">harold.durufle@lrsv.ups-tlse.fr</a>           | LRSV, CNRS-Université Toulouse III, Castanet-Tolosan                | C26, P7               |
| 23 | Fadi       | El Hage           | <a href="mailto:fadi.el-hage@inra.fr">fadi.el-hage@inra.fr</a>                                 | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | C24, C25, P9          |



|    | Prénom       | Nom          | Adresse électronique   | Unité de recherche  | Conférence Poster         |
|----|--------------|--------------|--|---|---------------------------|
| 24 | Isabelle     | Fabrissin    | <a href="mailto:isabelle.fabrissin@inra.fr">isabelle.fabrissin@inra.fr</a>                   | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | P22                       |
| 25 | Régis        | Fichot       | <a href="mailto:regis.fichot@univ-orleans.fr">regis.fichot@univ-orleans.fr</a>               | LBLGC, Université Orléans, Orléans                                  |                           |
| 26 | Jean-Charles | Gaudin       | <a href="mailto:jean-charles.gaudin@inra.fr">jean-charles.gaudin@inra.fr</a>                 | AGPF, INRA-Val de Loire, Orléans                                    |                           |
| 27 | Martine      | Gonneau      | <a href="mailto:martine.gonneau@inra.fr">martine.gonneau@inra.fr</a>                         | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | C4                        |
| 28 | Estelle      | Goulas       | <a href="mailto:estelle.goulas@univ-lille1.fr">estelle.goulas@univ-lille1.fr</a>             | UGSF, CNRS-Université Lille Nord de France, Lille                   | P16                       |
| 29 | Camille      | Grand-Perret | <a href="mailto:camille.grand-perret@inra.fr">camille.grand-perret@inra.fr</a>               | AGPF, INRA-Val de Loire, Orléans                                    | C15                       |
| 30 | Fabienne     | Guillon      | <a href="mailto:fabienne.guillon@inra.fr">fabienne.guillon@inra.fr</a>                       | BIA, INRA-Angers-Nantes, Nantes                                     | C11, C21, C22, P1, P8     |
| 31 | Olivier      | Habrylo      | <a href="mailto:olivier.habrylo@u-picardie.fr">olivier.habrylo@u-picardie.fr</a>             | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | C5, C6, C7, P17           |
| 32 | Olivier      | Hamant       | <a href="mailto:olivier.hamant@ens-lyon.fr">olivier.hamant@ens-lyon.fr</a>                   | RDP, INRA-CNRS-UCBL-ENS, Lyon                                       | Conf. Invitée             |
| 33 | Kevin        | Hardouin     | <a href="mailto:kevin.hardouin@sb-roscoff.fr">kevin.hardouin@sb-roscoff.fr</a>               | IBMM, Station Biologique, UPMC-CNRS, Roscoff                        | P4                        |
| 34 | Simon        | Hawkins      | <a href="mailto:simon.hawkins@univ-lille1.fr">simon.hawkins@univ-lille1.fr</a>               | UGSF, CNRS-Université Lille Nord de France, Lille                   | C17, P16, P19, P20        |
| 35 | Cécile       | Hervé        | <a href="mailto:cecile.herve@sb-roscoff.fr">cecile.herve@sb-roscoff.fr</a>                   | IBMM, Station Biologique, UPMC-CNRS, Roscoff                        | C10, C27, P4              |
| 36 | Ludivine     | Hocq         | <a href="mailto:ludivine.hocq@u-picardie.fr">ludivine.hocq@u-picardie.fr</a>                 | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | C5, C6, P17               |
| 37 | Grégory      | Hoff         | <a href="mailto:gregory.hoff@ymail.com">gregory.hoff@ymail.com</a>                           | MiPI, Université Liège, Gembloux, Belgique                          | C30                       |
| 38 | Herman       | Höfte        | <a href="mailto:hermanus.hofte@inra.fr">hermanus.hofte@inra.fr</a>                           | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | C1, C4, C5, C32, P13, P24 |
| 39 | Brigitte     | Huss         | <a href="mailto:Brigitte.Huss@univ-lille1.fr">Brigitte.Huss@univ-lille1.fr</a>               | UGSF, CNRS-Université Lille Nord de France, Lille                   | C17, C18, P19             |
| 40 | Elisabeth    | Jamet        | <a href="mailto:jamet@lrsv.ups-tlse.fr">jamet@lrsv.ups-tlse.fr</a>                           | LRSV, CNRS-Université Toulouse III, Castanet-Tolosan                | C9, C26, P7, P24          |
| 41 | Marie-Pierre | Jacquemot    | <a href="mailto:marie-pierre.jacquemot@inra.fr">marie-pierre.jacquemot@inra.fr</a>           | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-CNRS-Université Paris Saclay, Versailles | C25, C29, P5, P6          |
| 42 | Bernard      | Kurek        | <a href="mailto:bernard.kurek@inra.fr">bernard.kurek@inra.fr</a>                             | FARE, INRA-Université Reims Champagne Ardennes, Reims               |                           |
| 43 | Ferdousse    | Laggoun      | <a href="mailto:ferdousse.laggoun@etu.univ-rouen.fr">ferdousse.laggoun@etu.univ-rouen.fr</a> | Glyco-MEV, Université de Rouen Normandie, Mont Saint-Aignan         | C13, P3                   |
| 44 | Véronique    | Lainé-Prade  | <a href="mailto:veronique.laine-prade@inra.fr">veronique.laine-prade@inra.fr</a>             | AGPF, INRA-Val de Loire, Orléans                                    |                           |
| 45 | Françoise    | Laurans      | <a href="mailto:francoise.laurans@inra.fr">francoise.laurans@inra.fr</a>                     | AGPF, INRA-Val de Loire, Orléans                                    | C15                       |
| 46 | Sophie       | Le Gall      | <a href="mailto:sophie.le-gall@inra.fr">sophie.le-gall@inra.fr</a>                           | BIA, INRA-Angers-Nantes, Nantes                                     | P4, P8, P11               |
| 47 | Valérie      | Lefebvre     | <a href="mailto:valerie.lefebvre@u-picardie.fr">valerie.lefebvre@u-picardie.fr</a>           | BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens                   | C5, C6, C7, P12, P17      |

|    | Prénom              | Nom                  | Adresse électronique  | Unité de recherche   | Conférence<br>Poster                         |
|----|---------------------|----------------------|---|--|--|
| 48 | David               | Legland              | <a href="mailto:david.legland@inra.fr">david.legland@inra.fr</a>                                      | BIA, INRA-Angers-Nantes,<br>Nantes   | C22, C24,<br>P9                              |
| 49 | Arnaud              | Lehner               | <a href="mailto:arnaud.lehner@univ-rouen.fr">arnaud.lehner@univ-rouen.fr</a>                          | Glyco-MEV, Université de<br>Rouen Normandie, Mont Saint-<br>Aignan         | C13, P3                                      |
| 50 | Marie-<br>Claude    | Lesage-<br>Descauses | <a href="mailto:marie-claude.lesage-descauses@inra.fr">marie-claude.lesage-<br/>descauses@inra.fr</a> | AGPF, INRA-Val de Loire,<br>Orléans  |  |
| 51 | Paul                | Marchand             | <a href="mailto:paul.marchand@inra.fr">paul.marchand@inra.fr</a>                                      | AGPF, INRA-Val de Loire,<br>Orléans  | C15  |
| 52 | Valérie             | Méchin               | <a href="mailto:valerie.mechin@inra.fr">valerie.mechin@inra.fr</a>                                    | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C24, C25,<br>C29, P5,<br>P6, P9              |
| 53 | Patrice             | Meimoun              | <a href="mailto:patrice.meimoun@upmc.fr">patrice.meimoun@upmc.fr</a>                                  | LBD-IBPS, Université Pierre &<br>Marie Curie, Paris                        | P3   |
| 54 | Fabien              | Miart                | <a href="mailto:fabien.miart@inra.fr">fabien.miart@inra.fr</a>  | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C1, C4,<br>C32, P15                          |
| 55 | Jean-<br>Claude     | Mollet               | <a href="mailto:jean-claude.mollet@univ-rouen.fr">jean-claude.mollet@univ-<br/>rouen.fr</a>           | Glyco-MEV, Université de<br>Rouen Normandie, Mont Saint-<br>Aignan         | C13, P23                                     |
| 56 | Grégory             | Mouille              | <a href="mailto:gregory.mouille@inra.fr">gregory.mouille@inra.fr</a>                                  | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C5, C12,<br>C32, P13                         |
| 57 | Elissa              | Naim                 | <a href="mailto:elissanaim@gmail.com">elissanaim@gmail.com</a>  | LBD-IBPS, Université Pierre &<br>Marie Curie, Paris                        | P3   |
| 58 | Godfrey             | Neutelings           | <a href="mailto:godfrey.neutelings@univ-lille1.fr">godfrey.neutelings@univ-<br/>lille1.fr</a>         | UGSF, CNRS-Université Lille<br>Nord de France, Lille                       | C17, C18,<br>P16                             |
| 59 | Helen               | North                | <a href="mailto:helen.north@inra.fr">helen.north@inra.fr</a>  | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | P21, P22                                     |
| 60 | Valérie             | Pacquit              | <a href="mailto:pacquit@lrsv.ups-tlse.fr">pacquit@lrsv.ups-tlse.fr</a>                                | LRV, CNRS-Université<br>Toulouse III, Castanet-Tolosan                     | C9   |
| 61 | Gabriel             | Paës                 | <a href="mailto:gabriel.paes@inra.fr">gabriel.paes@inra.fr</a>  | FARE, INRA-Université Reims<br>Champagne Ardennes, Reims                   | P18  |
| 62 | Karine              | Pageau               | <a href="mailto:karine.pageau@u-picardie.fr">karine.pageau@u-picardie.fr</a>                          | BIOPI, Université de Picardie<br>Jules Verne, Amiens                       | P14, P15                                     |
| 63 | Jérôme              | Pelloux              | <a href="mailto:jerome.pelloux@u-picardie.fr">jerome.pelloux@u-picardie.fr</a>                        | BIOPI, Université de Picardie<br>Jules Verne, Amiens                       | C5, C6, C7,<br>C12, P12,<br>P14, P16,<br>P17 |
| 64 | Gilles              | Pilate               | <a href="mailto:gilles.pilate@inra.fr">gilles.pilate@inra.fr</a>                                      | AGPF, INRA-Val de Loire,<br>Orléans  | C14, C15                                     |
| 65 | Barbara             | Plancot              | <a href="mailto:barbara.plancot@univ-rouen.fr">barbara.plancot@univ-rouen.fr</a>                      | Glyco-MEV, Université de<br>Rouen Normandie, Mont Saint-<br>Aignan         | C31, P23                                     |
| 66 | Marie-<br>Christine | Ralet                | <a href="mailto:marie.ralet@inra.fr">marie.ralet@inra.fr</a>  | BIA, INRA-Angers-Nantes,<br>Nantes   | P22  |
| 67 | Catherine           | Rayon                | <a href="mailto:catherine.rayon@u-picardie.fr">catherine.rayon@u-picardie.fr</a>                      | BIOPI, Université de Picardie<br>Jules Verne, Amiens                       | C7, C28,<br>P16                              |
| 68 | Julien              | Renou                | <a href="mailto:julien.renou@inra.fr">julien.renou@inra.fr</a>  | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C4, P13                                      |

|    | Prénom     | Nom            | Adresse électronique   | Unité de recherche   | Conférence<br>Poster    |
|----|------------|----------------|--|--|-------------------------|
| 69 | Matthieu   | Reymond        | <a href="mailto:matthieu.reymond@inra.fr">matthieu.reymond@inra.fr</a>           | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C24, C25,<br>P5, P6, P9 |
| 70 | Christophe | Ringli         | <a href="mailto:chringli@botinst.uzh.ch">chringli@botinst.uzh.ch</a>             | DPMB, Université de Zurich,<br>Zurich, Suisse                              | C2                      |
| 71 | Julien     | Ruelle         | <a href="mailto:julien.ruelle@inra.fr">julien.ruelle@inra.fr</a>                 | LERFOB, INRA-Agro Paris-Tech,<br>Champenoux                                |                         |
| 72 | Julien     | Sechet         | <a href="mailto:jsechet@lbl.gov">jsechet@lbl.gov</a>                             | JBEI, Lawrence Berkeley Nat'l<br>Lab, Berkeley, USA                        | C8                      |
| 73 | Richard    | Sibout         | <a href="mailto:richard.sibout@inra.fr">richard.sibout@inra.fr</a>               | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | P24                     |
| 74 | Amandine   | Siméon         | <a href="mailto:amandine.simeon@sb-roscoff.fr">amandine.simeon@sb-roscoff.fr</a> | IBMM, Station Biologique,<br>UPMC-CNRS, Roscoff                            | C10, C27                |
| 75 | Yves       | Verhertbruggen | <a href="mailto:yves.verhertbruggen@inra.fr">yves.verhertbruggen@inra.fr</a>     | BIA, INRA-Angers-Nantes,<br>Nantes   | C11, C19,<br>P1         |
| 76 | Kévin      | Vidot          | <a href="mailto:kevin.vidot@inra.fr">kevin.vidot@inra.fr</a>                     | BIA, INRA-Angers-Nantes,<br>Nantes   | P2                      |
| 77 | Laetitia   | Virlovet       | <a href="mailto:laetitia.virlovet@inra.fr">laetitia.virlovet@inra.fr</a>         | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C25, C29                |
| 78 | Aline      | Voxeur         | <a href="mailto:aline.voxeur@inra.fr">aline.voxeur@inra.fr</a>                   | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C6, C12,<br>C32, P13    |
| 79 | Tian       | Zhang          | <a href="mailto:tian.zhang@inra.fr">tian.zhang@inra.fr</a>                       | IJPB, INRA-Agro Paris-Tech-<br>CNRS-Université Paris Saclay,<br>Versailles | C3                      |