

BIOLOGIE VEGETALE INTEGRATIVE

Président

Hélène Barbier-Brygoo

Membres de la section

Marc Bergdoll

Florence Corellou

Jean-Marc Deragon

Dominique Gagliardi

Thierry Gaude

Deborah Goffner

Thierry Lagrange

Thierry Langin

Marc-Henri Lebrun

Michel Lebrun

Laurence Lejay-Lefèvre

Claire Lurin

Herrade Nehlig

Soufian Ouchane

Sophie de Peindray d'Ambelle

Philippe Potin

Christophe Robaglia

Dominique Rumeau

Marylin Vantard

Françoise Vedele

Le présent rapport résulte d'un travail de réflexion conjoint entre la section 28 et un groupe de travail sur la biologie végétale, composé d'experts représentant le CEA, le CIRAD, le CNRS, l'IRD et l'INRA.

Le précédent rapport de conjoncture de la section 28 présentait un état des lieux très détaillé de la recherche en Biologie Végétale qui reste d'actualité et ne sera pas repris ici. Différents rapports nationaux et internationaux publiés ces dernières années et donnant une vision prospective de la recherche sur les modèles végétaux peuvent également être consultés (voir Annexe 2). Le présent document s'attache à dégager, en fonction des grands enjeux de recherche et de société et des atouts du dispositif français, les grandes lignes des actions à mettre en place. Il est divisé en trois parties qui présenteront successivement : (i) les enjeux auxquels doit répondre la Biologie Végétale et une rapide présentation des forces en présence, (ii) les questions scientifiques et biologiques qui retiennent l'attention sur le plan stratégique et sur lesquelles la position forte des équipes françaises et leur compétitivité doivent être soutenues, et (iii) les outils et ressources à développer ou à renforcer pour répondre aux questions de recherche majeures, pour structurer et renforcer la communauté travaillant sur les végétaux (au sens large) et ainsi faire face aux grands défis de la recherche dans le domaine.

1 ENJEUX ET ETAT DES LIEUX DE LA RECHERCHE EN BIOLOGIE VEGETALE EN FRANCE

1.1 LES ENJEUX DE LA RECHERCHE EN BIOLOGIE VEGETALE

Des enjeux scientifiques

Les végétaux ont des propriétés remarquables qui constituent un champ d'étude original et complémentaire aux modèles animaux et microbiens. Au cours de l'évolution, les végétaux, organismes généralement fixés et photosynthétiques, ont intégré dans leur fonctionnement les contraintes liées à l'environnement abiotique (lumière, humidité, température...) et biotique (microorganismes...). Ceci se traduit par une grande diversité de stratégies métaboliques et développementales. Les eucaryotes photosynthétiques présentent une très grande diversité phylogénétique avec divers groupes ayant évolué vers une organisation multicellulaire de façon indépendante. Les recherches en biologie végétale permettent ainsi de répondre à des questions fondamentales pour la compréhension du vivant et de sa complexité. De plus,

la diversité des modèles végétaux permet de répondre à des enjeux scientifiques importants non seulement dans le champ de la biologie et de la santé, mais également dans celui des problématiques liées à l'environnement.

Les recherches sur les plantes sont à l'origine de contributions fondamentales et originales dans le domaine de la biologie. Une première raison est que les plantes partagent un certain nombre de caractéristiques avec les animaux et les champignons comme le contrôle génétique, la régulation transcriptionnelle, des modules de signalisation communs, les fonctions du cytosquelette ou la présence de cellules souches. De ce fait, la recherche en biologie végétale a contribué à des avancées importantes telles que l'identification des bases de la morphogenèse cellulaire et des relations de la cellule à l'organisme, le concept d'organogenèse *de novo* (vs préformation), l'héritabilité des caractères et l'inactivation épigénétique dépendante des petits ARN. De plus, l'existence de domaines de recherche spécifiques aux végétaux, tels que la photosynthèse, l'organogenèse continue, les mécanismes de signalisation spécifiques, la totipotence et une plasticité extrême en réponse aux contraintes de l'environnement, justifient un intérêt particulier. Les plantes sont également très différentes des animaux sur le plan structural, avec la présence autour des cellules d'une paroi qui leur permet d'exploiter et de guider une forte pression de turgescence interne.

Résoudre la complexité des systèmes biologiques végétaux pour en tirer le meilleur parti ne pourra se faire qu'en accumulant tout d'abord les connaissances sur des organismes modèles pour les intégrer ensuite à une échelle supérieure. Le nouvel élan de la recherche en biologie végétale repose donc également sur la diversification des systèmes modèles. Ces nouveaux modèles doivent permettre un transfert horizontal de connaissances vers des espèces d'intérêt agronomique dont la manipulation est plus complexe. L'étude de certains d'entre eux se justifie par elle-même du fait de propriétés intrinsèques originales dont la compréhension peut aboutir à leur exploitation propre, comme par exemple les lignées eucaryotes photosynthétiques qui peuvent être phylogénétiquement éloignées et présenter des métabolismes originaux.

Arabidopsis thaliana reste l'espèce de référence en ce qui concerne les plantes supérieures, en raison du recul acquis sur ce système modèle permettant dans la pratique d'être plus efficace pour adapter ou développer de nouvelles approches (dont les approches globales dites « omiques » intégrant les données génomiques et post-génomiques). La disponibilité d'outils et de technologies de pointe et de concepts acquis sur ce système via la compréhension approfondie de sa biologie sont d'autres atouts d'*Arabidopsis*. Ces mêmes outils ouvrent dès à présent la voie pour aller au delà de cette espèce pionnière, et permettre des études comparatives qui amélioreront la compréhension du végétal en général et conduiront à un meilleur transfert des connaissances vers des espèces non-modèles, d'importance économique et/ou écologique, ainsi que la découverte de caractères originaux d'autres végétaux. L'adoption d'un nombre limité d'espèce de référence pour les procaryotes et eucaryotes photosynthétiques, allant des algues jusqu'aux arbres,

permettra de mettre en lumière les éléments communs et la diversité et de tirer profit de la spécificité des organismes photosynthétiques. Par exemple, le soutien français à l'émergence de modèles tels que *Ostreococcus* et *Ectocarpus* commence à porter ses fruits. Cependant le nombre d'équipes travaillant sur ces modèles non conventionnels, reste très réduit, ce qui fragilise la pérennité des recherches sur des modèles originaux en France.

Des enjeux économiques et sociétaux

Le défi actuel majeur est de savoir comment exploiter durablement la biomasse végétale et plus généralement les organismes photosynthétiques. Ceci revient non seulement à contribuer au développement d'une agriculture respectueuse de l'environnement et de la santé humaine mais également à mettre en œuvre des méthodes qui préservent les ressources naturelles et la biodiversité en protégeant les écosystèmes des déséquilibres induits par les changements climatiques et la surexploitation des milieux naturels. Le contexte économique mondial et la compétitivité de l'agriculture européenne face aux économies dominantes (USA) et émergentes (Chine, Inde, Brésil) sont d'autres aspects importants à prendre en compte. La démarche actuelle pour l'innovation en agriculture (sur les espèces agronomiques mais aussi sur les espèces végétales moins conventionnelles telles que les algues qui représentent d'importantes ressources aquatiques en France) ne semble pas suffisante devant l'importance des enjeux du futur. Il est également nécessaire de renforcer le transfert de nos connaissances génériques vers des espèces cultivées et de produire plus de connaissances sur la biologie de la plante et son fonctionnement intégré dans l'environnement.

L'exploitation de la biomasse végétale terrestre et aquatique doit pouvoir répondre aux besoins alimentaires, sanitaires et sociétaux (produits d'intérêt pharmaceutique, bio-remédiation, nouveaux matériaux de construction, nouveaux synthons de la chimie verte et bio-énergies) qui vont croissant avec l'évolution démographique. L'accroissement estimé de la population mondiale est de 2.2 milliards d'ici 2050. L'alimentation et la qualité de vie des populations dépendront de manière prépondérante des progrès réalisés en agriculture et en ingénierie des végétaux. L'exploitation des ressources agricoles, forestières, aquacoles ne se fera durablement que sur la base de solides connaissances en biologie végétale.

L'amélioration génétique a contribué fortement à l'augmentation historique du rendement des cultures. A l'avenir, le succès de l'agriculture dépendra de la génération de nouvelles cultures qui devront combiner un rendement plus élevé et une meilleure qualité, avec des capacités accrues de résistance aux stress biotiques et abiotiques (sécheresse, maladies, parasites), dans des conditions d'apport réduit en engrais et en produits phytosanitaires. Notre compréhension actuelle des bases moléculaires de la domestication reste rudimentaire, même si quelques gènes clés ont été identifiés. De plus, la manipulation de gènes uniques ou de traits phénotypiques isolés ne paraît pas suffisante pour atteindre tous les objectifs recherchés et n'est pas compatible avec la nécessité d'une vision

intégrée du développement de la plante, seule démarche possible pour résoudre les problématiques complexes et répondre aux enjeux auxquels nous sommes confrontés. L'exploitation d'espèces de champignons, d'algues et de microalgues a été jusqu'à présent freinée en raison d'un retard de connaissance de ces systèmes. Ces organismes constituent néanmoins un réservoir important de biodiversité et une source presque infinie de bioproduits directement exploitables pour l'alimentation, l'énergie, la para-pharmacie ou la cosmétique. Ils constituent dans certains cas une bonne alternative d'usine cellulaire pour la synthèse de produits recombinants. La production de masse de micro-organismes végétaux ou fongiques en milieu confiné ou les cultures en mer de végétaux marins sont des alternatives prometteuses à l'occupation des sols ou au manque de ressources en eau qui attirent l'intérêt des industriels. Par ailleurs, les modèles unicellulaires permettent d'aborder des questions biologiques génériques de manière simplifiée. Le succès grandissant de ces nouveaux modèles passera, ici encore, par une compréhension approfondie de leur biologie.

Des enjeux aux interfaces

Au-delà du développement nécessaire des méthodes de production et d'analyse de larges jeux de données (séquençage à haut débit, protéomique, métabolomique, phénotypage à haut débit), puis de leur exploitation pour passer d'une donnée brute à une information biologique pertinente (bioinformatique, bases de données, datamining, modélisation), l'un des enjeux majeurs des prochaines années en biologie végétale sera de rassembler des réseaux inter-disciplinaires pertinents autour d'une question biologique donnée. Les interfaces suivantes méritent une attention particulière :

- biologie/mathématique, afin d'associer aux biologistes, dès la conception des expériences, des biomathématiciens, des biophysiciens, des bioinformaticiens et de généraliser l'usage des statistiques et des méthodes de modélisation
- biologie/physique, en particulier dans le domaine de l'imagerie pour développer par exemple la manipulation de molécules uniques et ainsi passer de l'échelle nano à l'échelle macro, la visualisation en temps réel à différents niveaux d'intégration, les techniques de tomographie pour les tissus végétaux, les outils d'analyse de la cellule unique et d'étude des différents types cellulaires.
- biologie/chimie, par exemple pour mesurer les changements métabolomiques liés aux interactions entre la plante et son environnement et développer les approches de chémogénomique comparative.

Des enjeux de formation

Du fait de l'évolution très rapide de la biologie en général et des sciences végétales en particulier, il semble important de repenser la formation des chercheurs pour leur faire acquérir les compétences nécessaires à l'application des méthodologies modernes (concepts, méthodes et outils) afin de favoriser une vision plus intégrative et plus prédictive de la biologie végétale. Ceci nécessitera le développement de formations pluridisciplinaires aussi bien pour les chercheurs travaillant sur des questions génériques que pour ceux s'adressant à des questions plus finalisées touchant l'agronomie et l'agriculture.

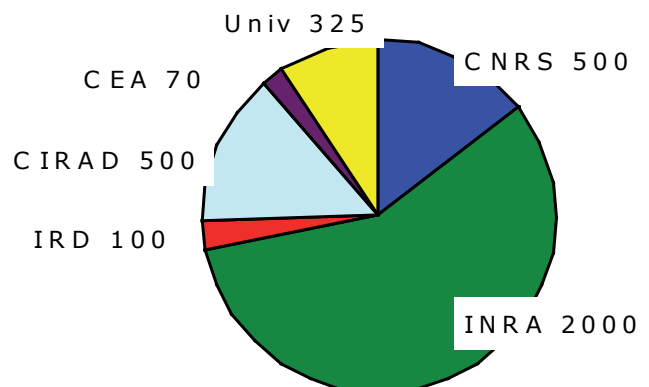
Il est également important d'améliorer nos efforts de vulgarisation et de diffusion des connaissances en biologie végétale vers la société, afin d'attirer des jeunes chercheuses et chercheurs vers les questions spécifiques du végétal, et d'augmenter le niveau global de compréhension de la population pour ces problèmes qui touchent à de nombreuses questions sociétales (maintien de la biodiversité, évolution, perception des risques environnementaux et sanitaires, impact des biotechnologies, etc...).

1.2 LES FORCES EN BIOLOGIE VEGETALE EN FRANCE

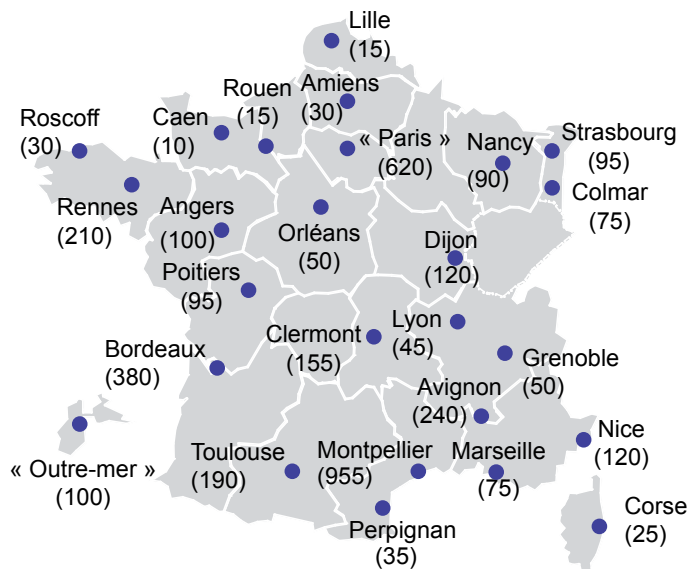
Comme le soulignait le précédent rapport de conjoncture de la section 28, la force de la communauté des scientifiques travaillant sur les modèles végétaux réside, pour l'essentiel, dans son organisation originale au sein de partenariats forts entre le CNRS, l'INRA, le CEA, le CIRAD, l'IRD et certains établissements d'enseignement supérieur (Universités, ENS, AgroParisTech, Montpellier SupAgro, etc.). Ainsi, la très grande majorité des laboratoires français de biologie végétale est constituée par des UMR impliquant ces différents partenaires (sur les 16 unités ayant un rattachement principal à la section 28, on compte 14 UMR et 2 UPR).

La figure ci-dessous montre la répartition des personnels permanents (chercheurs, enseignants-chercheurs, IT et IATOS) entre les différents organismes, ainsi que la répartition géographique des forces sur le territoire national. On notera la présence de deux pôles très importants, en région parisienne et à Montpellier. La communauté compte au total environ 3500 permanents, auxquels il faut ajouter les non-permanents composés essentiellement de doctorants et post-doctorants (au sein des unités rattachées à la section 28, on compte 368 permanents CNRS, 559 permanents non-CNRS et 417 non-permanents).

Répartition des personnels permanents par organisme



Répartition géographique



2 QUESTIONS MAJEURES EN BIOLOGIE VÉGÉTALE

2.1 DYNAMIQUE CELLULAIRE ET DEVELOPPEMENT

Introduction

Le séquençage massif des génomes et l'utilisation abondante des approches de transcriptomique et de protéomique pour répondre à diverses questions biologiques a eu deux conséquences majeures en biologie : (i) révéler l'existence de nombreux réseaux moléculaires avec la découverte d'interactions insoupçonnées entre ces derniers, et (ii) favoriser la rencontre entre biologistes et chercheurs d'autres disciplines, notamment des bioinformaticiens et des physiciens. Cette nouvelle dynamique en biologie a conduit à considérer un organisme vivant comme un système complexe, c'est-à-dire composé d'ensembles d'entités (molécules, cellules, etc.) qui interagissent selon des règles locales simples mais dont les interactions conduisent à l'émergence de nouvelles propriétés collectives, associées à des niveaux d'organisation plus complexes. Ainsi, pour une analyse intégrative en biologie, l'étude d'une cellule ou d'un organisme doit être réalisée à la fois au niveau des mécanismes moléculaires qui régissent leurs activités mais également à un niveau supérieur de complexité pour comprendre comment les parties individuelles (territoires cellulaires, tissus, etc.) interagissent et s'organisent pour former des structures d'ordre supérieur. Cette dualité de connaissance est indispensable, et privilégier l'une par rapport à l'autre ne conduirait qu'à une vision incomplète voire erronée des processus biologiques.

Comprendre les bases cellulaires du développement : des assemblages moléculaires aux propriétés cellulaires

Comprendre comment les molécules s'assemblent en modules fonctionnels et en réseaux de régulation

Comprendre comment les molécules interagissent pour former des modules structuraux ou fonctionnels est un prérequis indispensable à une meilleure compréhension de l'organisation et du fonctionnement de la cellule. Le module structural le plus caractéristique de la cellule végétale est la paroi cellulaire dont la composition et la dynamique d'organisation sont variables selon les types cellulaires, l'âge, les contraintes développementales ou environnementales. D'autres complexes macromoléculaires demandent encore à être mieux caractérisés, et certainement à découvrir, comme ceux impliqués dans la dégradation des protéines (protéasome), la formation de vésicules membranaires et leur trafic (machineries de transport intracellulaire), le transport des protéines entre compartiments endomembranaires (voies de sécrétion, recyclage, stockage et/ou dégradation vacuolaire, etc.), la traduction des protéines, la régulation de l'expression des gènes, les fonctions des organites, etc. Ces modules fonctionnels peuvent également prendre la forme de réseaux dans lesquels les protéines interagissent en cascades. C'est le cas par exemple pour les voies de signalisation qui impliquent des interactions de type ligand-récepteur pour transmettre un message de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule. Ces signaux peuvent être des hormones de natures variées (auxines, brassinostéroïdes, acides gibbéréliques, cytokinines, strigolactones, etc.), des peptides, des polysaccharides, voire des contraintes mécaniques. Nombre de ces récepteurs sont encore inconnus. Il est à souligner que le génome d'*Arabidopsis*, contrairement à ceux des mammifères, présente une large famille de plus de 400 récepteurs kinase membranaire putatifs et une autre famille de gènes codant plus de 1000 peptides constituant des ligands potentiels de ces récepteurs. A ce jour, seul deux couples peptide-récepteur kinase ont été clairement identifiés. Cet exemple illustre le fossé qui reste à combler dans certains cas, pour passer des données mécanistiques simples à leur intégration dans des réseaux plus complexes, nécessaire à une approche intégrative.

Les règles qui gouvernent ces assemblages macromoléculaires et les interactions entre molécules (protéines-protéines, protéines-acides nucléiques, protéines-polysaccharides ou lipides) devront être définies, en combinant différentes méthodes issues de la biochimie, de l'imagerie cellulaire et de la biophysique. En particulier, la structure des protéines, leurs concentrations cellulaires, leurs localisations sub-cellulaires et leurs possibles modifications post-traductionnelles (par exemple phosphorylation, ubiquitination) devront être déterminées. A terme, la somme des informations mécanistiques obtenues pour un complexe donné devrait nous permettre de prédire la structure et la dynamique de ce complexe pour une cellule particulière ou un instant donné.

D'un point de vue technologique, les techniques à haut débit telles que l'immunoprécipitation de la chromatine suivie de séquençage (ChIP-Seq), les cribles double hybride chez la levure et les analyses de protéomique d'interactions permettent la création de cartes d'interactions moléculaires qui seront ensuite utilisées pour établir des règles d'interaction. Par exemple, des modèles biophysiques ont été développés pour prédire des interactions entre facteurs de transcription/chromatine/ADN. Les règles

émanant de ces modèles sont d'un grand intérêt car elles peuvent être utilisées dans différents contextes (différents tissus, différentes espèces). Une fois ces règles de base établies, la modélisation permet d'intégrer les informations et d'analyser les propriétés émergentes des réseaux.

Comprendre comment les éléments structuraux de la cellule s'assemblent et fonctionnent

Les propriétés physiques des cellules végétales (forme, rigidité, polarité) définissent la forme générale de la plante entière. Ces propriétés dépendent largement de trois composants structuraux: la paroi cellulaire, le cytosquelette et le système membranaire.

Paroi cellulaire et cytosquelette. Les mécanismes qui sous-tendent l'expansion cellulaire, la croissance anisotrope ou la croissance polarisée d'une cellule restent encore mal compris. Il apparaît important d'approfondir nos connaissances sur la composition et l'architecture de la paroi cellulaire dans différents types de cellules, sur la nature des agents modifiant cette composition et comment ces modifications, liées à des changements dans les contraintes développementales ou environnementales, conduisent aux changements de formes de la cellule. Comment la cellule perçoit ces contraintes et quelles sont les voies de signalisation impliquées dans ces phénomènes sont également des questions auxquelles il est nécessaire de répondre. Les relations entre le cytosquelette et la paroi cellulaire et l'étude de leur dynamique lors des processus de croissance et de division cellulaire devront être analysées en détails en utilisant les nouveaux outils d'imagerie cellulaire. Enfin, au niveau d'un organe, les rôles joués par les différentes couches tissulaires dans la croissance et l'architecture devront être recherchés.

Système endomembranaire et organites. En plus de leur fonction de barrière à la diffusion des solutés et de délimitation de compartiments intracellulaires, les lipides des membranes biologiques se sont révélés être des composants essentiels dans le développement des organismes multicellulaires. Chez les plantes, les lipides membranaires ont été impliqués dans diverses voies de signalisation et jouent un rôle clé dans de nombreux processus développementaux (développement embryonnaire, germination des graines, croissance racinaire, germination du pollen et croissance du tube pollinique, signalisation hormonale, réponse aux stimuli environnementaux tels que la lumière, le stress, la carence en sucre ou en phosphore). Il existe une véritable dynamique d'interaction entre des protéines du cytosol et certains lipides membranaires conduisant à l'établissement de complexes multiprotéiques variés. Selon la nature du complexe, des événements d'internalisation ou de bourgeonnement de membrane, de transports de vésicules entre compartiments intracellulaires, de fusion de vésicules, peuvent s'établir, conduisant à une redistribution de protéines membranaires et autres composants cellulaires. Ces mécanismes encore mal connus dans le détail jouent un rôle prépondérant dans la signalisation cellulaire et le transport de molécules, en régulant notamment la quantité des récepteurs et des transporteurs membranaires. Ils sont également cruciaux dans le dialogue entre organites au sein de la cellule ou

dans les échanges de solutés, métabolites, hormones et autres messages moléculaires entre cellules d'un même tissu ou entre cellules de différents tissus et/ou organes. Ces systèmes de transport sont essentiels pour divers aspects de la physiologie de la plante comme la nutrition, le développement, la détoxification, les réponses aux facteurs biotiques et abiotiques.

L'amélioration de nos connaissances sur l'homéostasie membranaire, les machineries de transport et les relations entre organites fournira des indications fondamentales pour mieux comprendre les voies de signalisation et de transport impliquées dans la croissance et le développement des plantes.

La plante comme un système complexe : des cellules à l'organisme

Signalisation à courte et longue distance : comment les molécules de signalisation sont-elles distribuées ?

Les cellules réagissent à des informations positionnelles provenant d'une variété de molécules. Il peut s'agir d'hormones, de métabolites, produits localement avec un effet à courte distance ou au contraire transportés sur de longues distances (MeJA, miRNA, auxine, florigène, etc.) de manière active ou passive. L'effet de concentration est un facteur primordial dans les réponses hormonales (exemple de l'auxine) avec la mise en place de gradients de molécules signal. Par exemple, une même hormone peut avoir des effets antagonistes sur l'élongation cellulaire en fonction de sa concentration. Comprendre comment se mettent en place ces gradients, être capable de les détecter au niveau cellulaire et tissulaire, et déterminer les effets antagonistes ou rétroactifs des molécules signal constitue un véritable challenge. Une autre particularité des plantes réside dans le fait que l'identité cellulaire et l'adaptation environnementale est aussi dépendante d'un important trafic de macromolécules (ARN, protéines) à longue et courte distance. L'organisation de ce niveau de signalisation est encore largement inconnue.

De l'identité cellulaire aux processus développementaux

En réponse aux stimuli internes ou environnementaux, la cellule active ou réprime l'expression de certains gènes, modifie l'activité de protéines, leur localisation subcellulaire, leur abondance, génère ou dégrade des molécules spécifiques, et va ainsi acquérir un nouvel état physiologique qui pourra par exemple conduire à sa division, sa différenciation, voire sa mort. Cette nouvelle activité cellulaire résulte de l'intégration de différents réseaux d'interactions moléculaires (voies de signalisation, réseaux de régulation transcriptionnelle et traductionnelle, voies de trafic intracellulaire, voies métaboliques, etc.). Il est par conséquent important, non seulement d'identifier les composants de ces réseaux, mais également d'en obtenir une vision intégrée, de connaître comment ces réseaux réagissent aux stimuli et quelles en sont les cibles. Ceci requiert l'intégration de données multiples qui nécessite des approches de modélisation.

Les processus développementaux impliquent un ensemble de cellules soumis à divers stimuli d'ordre chimique

(hormones, carence en nutriments ou en eau, molécules signal), mais également physique (pression mécanique de facteurs externes ou de la paroi cellulaire lors de la croissance, lumière). Le développement résulte ainsi de la combinatoire de nombreux réseaux d'interactions moléculaires dont l'intégration reflète les propriétés émergentes du système. Au cours de l'évolution ou des étapes de domestication par l'homme, ce sont ces propriétés émergentes qui se sont diversifiées. Compte tenu du niveau de complexité extrême atteint dans ces systèmes, des modèles sophistiqués devront être établis en collaboration avec des équipes de mathématiciens/physiciens.

L'initiation de la floraison, le développement des organes reproducteurs, la fécondation et l'obtention d'une graine de qualité sont des événements fortement contraints par des facteurs environnementaux et par le cycle de développement de la plante. Les recherches dans ces domaines devront prendre en considération ces différents niveaux d'interactions. Un intérêt tout particulier devra être apporté à l'étude de la fertilité, des stratégies sexuelles, de la persistance des espèces et de la biodiversité.

Métabolomique/lipidomique et fluxomique : comprendre et maîtriser

Les progrès technologiques dans les domaines de la génomique et de la protéomique ont permis des avancées majeures mais leur exploitation pour des études fonctionnelles est maintenant limitée par la capacité à analyser l'ensemble des petites molécules produites dans les cellules de plantes, ce qu'on appelle le métabolome, dont la complexité est immense. Un enjeu majeur pour garder notre compétitivité au niveau international est de mettre en place des plates-formes de métabolomique regroupant l'ensemble des outils et des compétences nécessaires à l'étude qualitative, quantitative et à haut débit de l'ensemble des composés organiques du métabolisme.

Ces molécules sont d'une diversité extraordinaire et d'un potentiel inépuisable pour l'innovation. Le métabolisme dit « primaire » des plantes comprend des petites molécules solubles, par exemple les sucres simples, et des composés hydrophobes, les lipides. Du fait de l'importance des sucres et des lipides pour les applications agricoles classiques dans le secteur de la nutrition, mais aussi pour l'innovation dans les secteurs des biocarburants et des alternatives à la pétrochimie, il est essentiel de consentir un effort particulier pour acquérir le plus rapidement possible les moyens d'analyses en métabolomique et en lipidomique. Les principaux objectifs sont de comprendre le système complexe que constitue le métabolisme par des approches de biomathématiques validées par des expérimentations, et de proposer des moyens de le maîtriser en fonction des applications nouvelles dans des secteurs aussi divers que l'agriculture, la nutrition, les biotechnologies, le secteur pharmaceutique ou l'énergie. Au cours de certaines étapes de développement ou en réponse aux facteurs environnementaux, les plantes produisent aussi des métabolites dits « secondaires » qui constituent une véritable source pour les industries pharmaceutiques, la parfumerie, les industries des colorants ou des

biopesticides. Une meilleure connaissance des voies du métabolisme secondaire permettra d'envisager d'agir sur celles-ci afin d'optimiser la production des métabolites, de modifier leur localisation pour faciliter leur extraction, ou de les modifier pour créer de nouvelles molécules d'intérêt.

Evolution et Développement (Evo-Dévo)

L'Evo-Dévo repose sur l'hypothèse que les régulateurs contrôlant les grandes étapes du développement chez les espèces actuelles ont également été des acteurs clés qui ont contribué à créer de la nouveauté au cours de l'évolution. La comparaison des mécanismes développementaux entre différentes espèces permet ainsi une compréhension de la diversité des formes et aide à construire les scénarios de l'évolution. La comparaison des espèces ne permet pas seulement d'étendre les données issues d'espèces modèles à des espèces non modèles mais cette approche donne également des informations sur le développement des espèces modèles elles-mêmes. A plus large échelle, l'analyse d'espèces clés sur l'arbre des Eucaryotes fournit un moyen de comprendre l'émergence indépendante de développements multicellulaires dans des lignages distants. Ce type d'analyse peut apporter des informations sur des principes très fondamentaux du développement.

Les dernières années ont vu l'intensification au niveau national et international de programmes de recherche visant à initier des études comparatives du développement entre des plantes modèles et des plantes cultivées ou des espèces basales (principalement mousses, gymnospermes et angiospermes basales avec des espèces clés d'autres groupes d'Eucaryotes tels que les algues rouges et brunes). Cette tendance devrait être encouragée et il paraîtrait tout à fait pertinent de définir quelques espèces de référence pour lesquelles l'établissement des outils de base serait facilité (séquence du génome, mutagenèse, transformation) par la nature intrinsèque des modèles. Plusieurs avancées récentes vont probablement avoir des répercussions majeures sur les études d'Evo-Dévo:

- les techniques de séquençage modernes facilitent la production de séquences génomiques, l'obtention de données d'expression et même de données d'interactions entre ADN et facteurs de transcription. Des plateformes de séquençage performantes sont requises associées à de fortes capacités d'analyse de ces données.
- les approches de « tilling », de « targeted nucleases » et d'extinction de gène induite par un virus (VIGS) permettent une analyse génétique et fonctionnelle des processus développementaux chez des espèces non modèles.
- les progrès dans la modélisation des systèmes de régulation offrent de nouvelles opportunités pour prédire et comparer les réseaux de régulation des gènes du développement à partir du génome de différentes espèces.

Des efforts devront être faits pour réussir ce challenge ambitieux et exploiter le grand nombre de nouvelles séquences génomiques qui seront délivrées dans un futur proche afin de comprendre la diversité des processus développementaux ainsi que leur évolution.

2.2 STRUCTURE, EVOLUTION, EXPRESSION DES GENOMES ET REGULATIONS EPIGENETIQUES

Introduction

Le séquençage de génomes entiers au cours des dernières années a permis des avancées fondamentales en génomique fonctionnelle et comparative. La génomique fonctionnelle des plantes a notamment bénéficié d'un apport sans précédent des programmes de séquençage du génome d'espèces modèles. Ces informations laissent entrevoir des perspectives importantes de progrès dans la compréhension des propriétés du vivant conférées par les mécanismes de régulation du génome, mais ont aussi révélé la prépondérance de phénomènes de redondance génique ou de génétique multifactorielle qui impliquent une approche globale future pour élucider les relations phénotype/génotype. Un fait marquant de ces dernières années en génomique végétale reste cependant la révélation de l'importance des mécanismes épigénétiques, jusqu'ici insoupçonnés, dans la stabilité des profils d'expression des gènes et dans la répression des séquences parasites. La génomique comparative tire un grand profit du développement accéléré des technologies de séquençage à haut débit. En particulier, une analyse de la variabilité naturelle présente au sein de la lignée photosynthétique est maintenant possible grâce à une étude globale et comparative des génomes. Ce type d'analyse devrait faciliter l'étude des relations génotype-phénotype et le recensement des innovations génomiques et fonctionnelles acquises au cours de l'évolution des plantes. De par la grande distribution évolutive des organismes photosynthétiques considérés, ces études macroévolutives pourront s'appliquer à l'ensemble des organismes photosynthétiques dans le but d'étudier l'évolution et l'acquisition de mécanismes fondamentaux (par ex. les bases moléculaires de la photosynthèse) ou à un niveau plus restreint pour étudier des caractéristiques plus spécifique, propre aux angiospermes par exemple.

Les deux sections suivantes exposent les questions scientifiques majeures d'actualité dans les domaines de l'évolution et de la régulation des génomes des organismes photosynthétiques. Une attention toute particulière sera portée sur les avancées en épigénétique et les conséquences évolutives des percées technologiques nouvelles qui vont certainement nous amener à court terme à reconsidérer notre vision de l'expression du génome et de la compréhension de phénomènes biologiques complexes.

Structure et dynamique évolutive des génomes

La disponibilité d'un nombre croissant de séquences génomiques complètes et leur étude comparative a mis en lumière une plasticité insoupçonnée des génomes, que ce soit à travers des cycles de polyploïdisation/diploïdisation successifs ou par la distribution et l'activité des éléments transposables, mettant en cause la notion même de génome modèle. Ceci ouvre de nouvelles perspectives pour l'étude des bases moléculaires de la biodiversité des végétaux, en particulier pour ce qui concerne les relations entre structure

et fonction des génomes. Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) permettent de séquencer un génome à très faible coût. Ces développements technologiques et méthodologiques constituent une véritable révolution ouvrant la voie non seulement au séquençage d'un nombre de plus en plus important de génomes d'espèces « non modèles », mais également la mesure de la variabilité génétique intraspécifique d'espèces modèles (*Arabidopsis*, riz, ...). Toutefois, l'un des défis les plus importants de ce domaine de recherche sera de réussir à intégrer l'ensemble des nouvelles données acquises par les techniques NGS pour mieux comprendre la biologie des plantes, non plus seulement à l'échelle d'un individu (i.e. la variété de référence choisie au départ par les consortiums de séquençage), mais à l'échelle des populations, voire des écosystèmes. Ceci devrait conduire à aborder la problématique de la réponse des végétaux aux changements environnementaux (anthropiques ou climatiques) à une échelle jamais atteinte jusqu'à présent et donc permettre de répondre à ces questions sociétales aujourd'hui incontournables.

De ce constat se dégagent plusieurs priorités pour le développement de ce champ de recherche. Afin de structurer les informations sur l'ensemble des organismes photosynthétiques, il faudra les placer dans un contexte évolutif, les séquences servant dans un premier temps à établir l'arbre phylogénétique et, ensuite, à classer les organismes par rapport à cet arbre. La phylogénomique, basée sur des séquences génomiques à grande échelle, représente une avancée importante par rapport aux arbres phylogénétiques classiques et permettra d'établir les relations phylogénétiques à une échelle sans précédent. Sur le plan fonctionnel, la technique de RNASeq fournira, à la même échelle que le séquençage génomique, des données quasi-exhaustives sur les transcriptomes et les métatranscriptomes, et permettra d'établir des relations entre la variabilité génomique et l'expression génique ou les modifications d'expression en fonction de changements environnementaux ou de populations. La disponibilité de séquences génomiques complètes d'organismes plus ou moins proches permettra de mieux identifier les séquences impliquées dans le contrôle de l'expression des gènes. Au niveau populationnel, les grands axes des recherches devront être : comprendre l'évolution des populations dans le temps et en fonction de l'environnement, étudier les éléments de régulation d'expression des gènes et les transcriptomes de ces populations, établir les relations structure/fonction des génomes et comprendre les mécanismes adaptatifs associés à l'évolution des phénotypes en fonction de l'environnement. Enfin, il s'agira de comprendre les bases épigénétiques de la biodiversité grâce à des approches de génomique globale, telles que l'analyse du transcriptome ou du méthylome et ce au niveau des populations, voire des écosystèmes.

Régulations géniques et épigénétiques

La recherche française a contribué de manière conséquente à la compréhension des mécanismes de régulation génique des plantes et du rôle croissant tenu par les mécanismes épigénétiques dans l'établissement de patrons stables d'expression génique sans modification du patrimoine génétique. En particulier, des études pionnières

ont permis l'identification de nouveaux acteurs de régulations épigénétiques, tels les petits ARN non-codants, les modulateurs chromatinien voire même le protéasome, ce qui illustre la diversité des mécanismes mis en jeu. Ces mécanismes épigénétiques jouent un rôle central dans la capacité des plantes à s'adapter à leur environnement et leur étude demeure un domaine de recherche extrêmement dynamique et compétitif. L'élucidation des mécanismes de régulations épigénétiques est étroitement dépendante de la compréhension des principes fondamentaux de régulation génique. Ce champ disciplinaire vaste comprend toutes les étapes du continuum de la régulation génique, du contrôle de la dynamique chromatinienne et de la coordination des trois génomes (nucléaire, mitochondrial et chloroplastique) présents dans la cellule végétale à celui de l'homéostasie des ARN codants et non-codants et des protéines néo-synthétisées.

Quatre priorités se dégagent dans ce champ de recherche:

- une compréhension des mécanismes moléculaires des régulations géniques et épigénétiques des organismes photosynthétiques doit rester un objectif prioritaire. Cette connaissance fondamentale reste indispensable pour comprendre et manipuler la plasticité remarquable de ces organismes en réponse à des stimuli développementaux et environnementaux.

- les potentiels des approches de génétique directe et inverse classiques restent immenses mais à l'évidence tous les champs d'étude de régulations géniques et épigénétiques deviennent dépendants d'analyses à haut débit. Ces analyses sont incontournables pour dresser une carte précise des composantes transcriptionnelles, post-transcriptionnelles et post-translationnelles de la régulation du génome et de l'épigénome des végétaux. L'intégration de ces données dans des systèmes prédictifs à l'échelle cellulaire et de l'organisme dans son intégralité constitue un défi majeur et prioritaire pour la recherche en biologie végétale.

- la tendance actuelle de déchiffrer les régulations géniques et épigénétiques à l'échelle cellulaire doit être confortée. Cette stratégie nécessite le développement d'outils technologiques particuliers chez les végétaux et reste nécessaire pour mieux comprendre leurs réponses à des stimuli développementaux et environnementaux.

- le maintien d'une diversité des modèles d'étude en biologie végétale est essentiel pour la découverte de nouvelles fonctions régulatrices de l'expression du génome mais aussi pour appréhender l'ensemble des innovations fonctionnelles liées à ces processus. En effet, bien que les acteurs protéiques impliqués dans les mécanismes génétiques et épigénétiques semblent être fortement conservés au sein du règne végétal, il est probable que l'impact de ces voies de régulation sur la physiologie et le développement des végétaux soit spécifique à chaque espèce (par ex. adaptation de la machinerie épigénétique impliquée dans la répression des régions répétées du génome aux architectures génomiques très différentes des génomes d'*Arabidopsis* et du riz).

Conclusions

Prises dans leur ensemble, ces observations soutiennent pleinement l'idée que les représentants des

lignées eucaryotiques photosynthétiques constituent des modèles originaux en génomique comparative et fonctionnelle, pour certains très peu explorés. Il apparaît évident que la gestion et la mise en relation de l'ensemble des données -omiques nécessiteront un accroissement considérable de la capacité de stockage et de puissance de calcul dans des centres appelés à gérer les informations et une mise à disposition des outils et des résultats des analyses accessibles à tous. Ces nouveaux outils impliquent de prévoir des formations pour les chercheurs amenés à utiliser ces données. Les concepts élaborés auront vocation à irriguer tous les champs disciplinaires de la biologie végétale moderne, allant de l'intégration du métabolisme dans la physiologie de la plante aux mécanismes qui président à son développement et à sa réponse adaptative à l'environnement.

2.3 INTERACTIONS ENTRE LES VEGETAUX ET LEURS ENVIRONNEMENTS BIOTIQUES ET ABIOTIQUES

Introduction

Les végétaux sont confrontés à de très nombreux stress biotiques et abiotiques lors de leur colonisation d'environnements variés et contraignants. Leur capacité à adapter leur mode de vie photosynthétique à des milieux variés, changeants et souvent extrêmes résulte de leur aptitude à mettre en place des mécanismes d'ajustement et de défense, généraux ou spécifiques, régulés finement au niveau spatio-temporel. La diversité de ces mécanismes est reflétée par l'existence chez les plantes terrestres d'un très grand nombre de réseaux de régulation (plus de 3000 facteurs de transcription dans un génome de plante), qui sont pour la plupart impliqués dans la réponse de l'organisme à ces contraintes environnementales. Ces réseaux de régulation complexes et inter-connectés contrôlent la mise en place de phénotypes adaptés à chacune de ces contraintes.

Les contraintes biotiques des plantes et des autres organismes photosynthétiques sont multiples et complexes, mettant en jeu des partenaires extrêmement variés, capables d'établir des interactions favorables (symbiotes, mutualistes), ou délétères (pathogènes, parasites, compétiteurs). En particulier, les végétaux cultivés sont particulièrement attaqués par un très grand nombre de bio-agresseurs tels que des virus, des bactéries, des champignons, des nématodes et des insectes. Les dommages provoqués par ces bio-agresseurs sur les productions agricoles ont un impact économique et sociétal majeur, tout en posant des problèmes sanitaires. Il est donc absolument nécessaire de mettre en place des méthodes de lutte durables et raisonnées pour maintenir, sinon développer, le niveau actuel de production agricole. Ces bio-agressions encore peu explorées en milieu aquatique n'en demeurent pas moins un enjeu pour le développement de l'exploitation durable de la biomasse végétale aquatique en culture.

Cette capacité adaptative est fortement mise à contribution par les changements climatiques en cours. Ces changements vont en effet conduire à de fortes

variations de la température et de la disponibilité en eau qui risquent d'affecter la stabilité des écosystèmes naturels et cultivés et de favoriser l'émergence de nouveaux agents pathogènes. De plus, l'évolution des politiques publiques conduit à préconiser une réduction de l'utilisation d'engrais et de pesticides en agriculture, ce qui, si ces changements ne sont pas compensés par de nouvelles pratiques culturales, induira certainement une diminution importante de la production agricole.

Interactions entre les plantes et leurs microorganismes et bio-agresseurs associés

Du côté de la plante, le développement de systèmes modèles tels qu'*Arabidopsis thaliana*, *Medicago truncatula* et le riz, ainsi que les progrès des recherches menées sur des plantes cultivées comme le blé ou le maïs, ont conduit à une explosion de nos connaissances sur les bases génétiques et moléculaires des interactions entre les plantes et leurs microorganismes associés, mutualistes ou pathogènes. Ils ont aussi permis l'identification de nombreux gènes végétaux impliqués dans les mécanismes de résistance et de défense, dont ceux codant des récepteurs de signaux microbiens. La caractérisation de ces récepteurs a été une question centrale de l'étude des interactions plantes micro-organismes au cours de cette dernière décennie. En parallèle, l'étude des réseaux de gènes contrôlant l'ensemble des réponses de la plante aux différentes composantes de son environnement biotique a permis des avancées importantes dans notre compréhension des processus biologiques et des mécanismes mis en jeu pour interpréter la nature du ou des signaux perçus et tenter d'y apporter une réponse adaptée (par exemple l'induction des mécanismes de résistance et de défense ou l'activation des programmes génétiques permettant l'établissement d'une interaction symbiotique). Cette connaissance des gènes et des fonctions a largement « nourri » les programmes d'amélioration des plantes cultivées visant à optimiser leur résistance aux agents pathogènes, ou leur capacité symbiotique. En dépit des progrès importants réalisés ces dernières années, le fonctionnement de ces réseaux de régulation complexes reste pour une large part mal connu. Pour les autres organismes photosynthétiques, les efforts de recherche ont été beaucoup plus limités, mais l'accès aux données génomiques chez ces organismes révèle une grande complexité et une évolution ancienne de systèmes d'immunité innée basés sur de potentiels récepteurs de signaux microbiens. La domestication de nouveaux organismes photosynthétiques (microalgues) nécessitera probablement d'intensifier ces travaux.

Du côté des microorganismes, l'accélération des programmes de séquençage de génomes microbiens, associés au développement d'outils puissants d'analyse fonctionnelle, a permis un accroissement rapide des connaissances sur les programmes génétiques et les mécanismes mis en jeu lors de l'établissement des interactions avec le partenaire végétal, tant au niveau fonctionnel qu'évolutif. Ces approches ont ainsi permis l'identification d'un grand nombre de fonctions clés impliquées dans ces interactions. En particulier, elles ont permis de définir les répertoires de protéines produites, injectées ou transloquées par ces micro-organismes

dans leurs plantes hôtes. Une proportion importante de ces protéines microbiennes présentes dans les tissus, correspond à des effecteurs qui ont la particularité de reprogrammer les grandes fonctions métaboliques et cellulaires de la plante, en particulier leurs systèmes de défense contre les bio-agresseurs. De plus, ces études ont permis d'établir une image détaillée, bien qu'incomplète, des mécanismes d'entrée et de colonisation des plantes par ces microorganismes.

La vision offerte maintenant par ces interactions est celle d'un dialogue où chacun des partenaires met en jeu des arsenaux élaborés et en constante évolution. Il est à présent nécessaire d'intégrer les connaissances acquises dans des modèles fonctionnels. Un autre défi est de développer les approches couplant évolution et analyse fonctionnelle, afin de mieux comprendre les mécanismes mis en place par les microorganismes et leurs hôtes lors de leur co-évolution. Ces connaissances fondamentales seront particulièrement utiles pour la sélection de cultivars présentant des résistances durables.

Plasticité et adaptation des plantes à des conditions environnementales changeantes

La croissance des plantes terrestres dépend de paramètres environnementaux tels que les variables physico-chimiques de composition du sol et de l'atmosphère (température, intensité et qualité de la lumière, disponibilités en eau et en éléments minéraux nutritifs). Des variations importantes de ces paramètres sont attendues dans le cadre des grands changements climatiques et géophysiques en cours (réchauffement, accroissement du CO₂, modification des régimes pluviaux, érosion des sols). Ces variations devraient engendrer des modifications importantes des écosystèmes végétaux, conséquences dont il est aujourd'hui difficile de mesurer avec rigueur l'importance, mais qu'il est possible d'évaluer à travers des modèles intégratifs.

Une des fonctions essentielles des plantes vasculaires dans le cadre de leur adaptation à un environnement abiotique, est la récupération de l'eau et des éléments minéraux du sol à l'aide de leur système racinaire. Un défi majeur dans ce domaine est de mieux comprendre comment les racines perçoivent et intègrent des signaux multiples et souvent contrastés rencontrés dans le sol afin d'optimiser leur capacité d'exploration et d'acquisition de ces ressources nutritionnelles. La compréhension des mécanismes impliqués dans ces réponses adaptatives a largement progressé grâce à des études combinant des approches génétiques, physiologiques et génomiques sur des plantes modèles. L'intégration de l'ensemble de ces connaissances dans des modèles écophysiologiques a permis d'éclairer la hiérarchie et la structuration des facteurs impliqués dans la réponse des plantes aux contraintes abiotiques. Ainsi, il a été montré que plusieurs types de signaux (hormones, formes réactives de l'oxygène), et de protéines impliquées dans les réseaux de régulation (facteurs de transcription, enzymes des voies de signalisation) sont des acteurs communs des voies de signalisation impliquées dans les réponses aux contraintes abiotiques et les réponses développementales des plantes.

Approches intégrées pour l'étude des effets des contraintes biotiques et abiotiques chez les plantes

Historiquement, la réponse des plantes aux stress biotiques et abiotiques a été étudiée dans le cadre d'une seule contrainte appliquée le plus souvent en conditions contrôlées. Le développement d'outils de phénotypage à haut débit en biologie offre la possibilité d'étudier et d'intégrer les réponses des plantes à des contraintes multiples. L'extraordinaire capacité de programmation de l'expression des gènes par les plantes est un élément clé de leur réponse à ces contraintes. L'analyse des modifications des profils transcriptionnels des plantes en réponse à des contraintes biotiques et abiotiques très diverses, a fait émerger un concept nouveau suggérant une réponse initiale à ces contraintes reposant sur un noyau de régulateurs communs et d'une réponse plus tardive dépendant de régulateurs spécifiques de chacune des contraintes. Le développement d'approches quantitatives en biochimie et métabolomique, en particulier au niveau cellulaire, devrait permettre également de mieux appréhender la complexité de la réponse des plantes à ces contraintes. Le premier défi majeur dans ce domaine de recherche est d'acquérir une vision intégrée des interactions entre les voies de signalisation impliquées dans les réponses aux contraintes biotiques et abiotiques et celles contrôlant la croissance et le métabolisme. Un second défi est de traduire les connaissances fondamentales acquises sur les plantes modèles pour l'amélioration de traits d'intérêt agronomique chez les plantes cultivées.

Adaptation des microorganismes et des bio-agresseurs à leurs plantes hôtes

Les interactions biotiques des plantes correspondent à un ensemble complexe de réponses adaptatives résultant aussi bien de la variabilité des plantes hôtes que de la cohorte de microorganismes et bio-agresseurs associés, et des modalités de ces interactions multipartenaires. Cette complexité nécessite des approches intégrant aussi bien les niveaux fonctionnel et évolutif, qu'écologique. En particulier, la compréhension des forces évolutives qui structurent les interactions entre ces multiples partenaires est particulièrement importante pour prédire le comportement des plantes cultivées dans différents écosystèmes. L'impact de l'évolution attendue du climat et des pratiques agricoles sur les microorganismes associés aux plantes est aussi un défi majeur dans ce domaine de recherche.

Les études à mener nécessitent l'identification exhaustive des partenaires de l'interaction, le développement de systèmes expérimentaux reflétant cette complexité et leur analyse à différents niveaux (du gène au champ). En particulier, la combinaison d'approches d'écologie moléculaire à partir d'analyses génomiques et métagénomiques permettra d'avoir un point de vue exhaustif sur les populations de plantes et leurs microorganismes associés. La mise en oeuvre d'approches de génomique fonctionnelle au niveau d'écosystèmes modèles permettra de mieux comprendre de rôle des différents mécanismes impliqués dans ces interactions biotiques et de découvrir de nouvelles fonctions importantes à cette échelle.

Interaction des réponses aux contraintes environnementales avec les programmes de développement des plantes

L'étude des voies majeures de signalisation qui coordonnent le développement des plantes a permis d'obtenir des connaissances essentielles sur ces processus biologiques, en particulier dans le domaine de la signalisation hormonale. Par contre, le rôle dans le développement des plantes, des signaux, des métabolites et des protéines impliquées dans les réponses aux contraintes biotiques et abiotiques, est encore mal connu. La confrontation de ces deux champs disciplinaires (réponses aux contraintes et développement) est nécessaire afin de mieux appréhender les interactions entre ces deux systèmes intégrés de fonctionnement de la plante.

3 QUESTIONS, OUTILS ET RESSOURCES

Pour répondre aux objectifs des trois grands domaines de recherche définis ci-dessus, il sera nécessaire de lever des verrous conceptuels ou techniques et de mettre en oeuvre différents types d'outils et de ressources dont beaucoup ne sont pas spécifiques aux plantes mais peuvent être partagés avec la plupart des modèles étudiés en sciences du vivant.

- *explorer la diversité structurale des génomes et la variabilité de leur expression*

Un enjeu majeur est d'augmenter le nombre des plateformes de séquençage à haut débit et d'en faciliter l'accès, tout en améliorant les capacités d'analyse des grands jeux de données générées par ces nouvelles méthodologies.

- *définir les règles d'interactions au niveau moléculaire*

Les capacités d'analyse à grande échelle devront être développées pour caractériser les interactions protéines/protéines ou protéines/ADN ainsi que les modifications post-traductionnelles des protéines, et les replacer dans le contexte hiérarchique et temporel qui a conduit à leur apparition.

- *définir et quantifier la distribution spatiale des molécules dans la plante et évaluer leur dynamique*

Les processus de développement et d'adaptation à l'environnement se traduisent par une distribution différentielle de molécules dans le temps et dans l'espace, et un investissement majeur est nécessaire pour quantifier ces distributions spécifiques. Une bonne connaissance de toutes les molécules, des enzymes aux métabolites, qui composent les cellules végétales est requise, incluant leur distribution spatio-temporelle à l'intérieur de la cellule ou dans la plante.

Cette information doit être obtenue en intégrant les approches de protéomique et de métabolomique et par des dosages biochimiques quantitatifs, atteignant dans l'idéal une résolution à l'échelle de la cellule unique. Cette échelle peut être atteinte notamment par les méthodes de micro-imagerie chimique, mobilisant tous les techniques de la spectrométrie de masse par désorption de surface

ou les techniques de fluorescence et d'absorption des rayons X sur les rayonnements Synchrotron.

L'analyse du métabolome se développe actuellement très rapidement dans toutes les études de biologie intégrative, qui visent à appréhender de manière globale le métabolisme et à intégrer cette analyse dans les projets de modélisation de la physiologie des plantes. Les approches de métabolomique ciblée (identification et quantification de familles particulières de métabolites) ou globale (identification et quantification de l'ensemble des métabolites) et de fluxomique (analyse des vitesses réelles de conversion biochimique -flux métaboliques- dans le système vivant) sont toutes requises pour améliorer la compréhension des réseaux métaboliques.

Les techniques d'imagerie et de spectroscopie *in vivo* seront également essentielles pour localiser et quantifier les différents composants moléculaires dans les cellules. De grandes collections de plantes transgéniques exprimant des protéines étiquetées par exemple par la "Green Fluorescent Protein" (GFP) peuvent être développées dans une première étape pour localiser les protéines individuelles et suivre leur dynamique (incluant les modifications post-traductionnelles). Cependant, de nouvelles méthodes d'imageries sophistiquées et les outils associés (nouveaux fluorochromes par exemple) seront nécessaires pour localiser et quantifier d'autres molécules comme les sucres, les lipides ou les hormones. Les nouvelles méthodes d'imagerie à haute résolution en temps réel fondées sur la microscopie STED ou PALM méritent dans ce cadre un intérêt particulier.

- répondre au besoin d'infrastructures adaptées

La réponse au besoin d'infrastructures performantes et adaptées (incluant séquençage à haut débit, protéomique, métabolomique, imagerie, phénotypage, serveurs informatiques et centres de calcul) passera inévitablement par la mise en place de plates-formes qui devront être aisément accessibles aux communautés scientifiques (géographie et coût).

- développer des outils de modélisation

Les données impliquant l'interaction de centaines de composants (à l'échelle des molécules, des cellules, ou des plantes) dans l'espace et dans le temps seront impossibles à appréhender sans les bases de données appropriées, qui seront capables de connecter différents types de données et d'accélérer ainsi le développement de modèles quantitatifs.

Des modèles sous la forme de cellules ou tissus virtuels sont actuellement développés, mais la représentation spatiale complexe demeure un défi. La modélisation multi-échelle nécessitera de nouveaux cadres théoriques pour « remplir » les structures spatiales avec les données de biochimie, de physique et de biologie cellulaire. Des développements théoriques et techniques seront ensuite nécessaires pour appliquer l'approche systémique à une large échelle, d'abord pour construire les modèles, puis pour automatiser l'acquisition des données, leur analyse et le paramétrage des modèles.

Des approches comme la modélisation ou le biomimétisme requièrent un effort de collaboration entre biophysiciens,

biochimistes, mathématiciens et informaticiens qui doivent être intégrés dans des équipes pluridisciplinaires. Une telle intégration, réalisée au niveau de scientifiques confirmés mutualisant leurs efforts, mais aussi à celui de la formation initiale (étudiants) et continue, permettra de répondre à l'objectif de placer la recherche en biologie végétale dans une dimension pluridisciplinaire.

ANNEXES

ANNEXE 1 : LISTE DES ACRONYMES

AgroParisTech Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement
 CEA Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives
 CIRAD Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
 ENS Ecole Normale Supérieure
 GFP Green Fluorescent Protein
 IATOS Ingénieurs, administratifs, techniciens, ouvriers et personnel de service
 IT Ingénieurs et techniciens,
 INRA Institut National de la Recherche Agronomique
 IRD Institut de Recherche pour le Développement
 Montpellier SupAgro Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques

ANNEXE 2 : DOCUMENTS A CONSULTER

« EU 2020 vision for Plant Science », élaboré à la suite d'un colloque organisé en 2008 par le **Biotechnology and Biological Sciences Research Council** (Royaume Uni) et la *Deutsche Forschungsgemeinschaft* (Allemagne) (<http://www.uni-tuebingen.de/plantphys/AFGN/EU2020VisionPlantScience.pdf>).

« National Plant genome Initiative : 2009-2013 » établi en 2008 aux Etats-Unis par le *National Science and Technology Council Committee of Science et l'Interagency working group on plant genomes* (http://www.nsf.gov/bio/pubs/reports/npgi_five_year_plan_2009_2013.pdf)

« New horizons in plant sciences for human health and the environment » publié en 2009 par les *National Academies américaines (the National Academy of Sciences, the National Academy of Engineering, the Institute of Medicine, and the National Research Council)* (http://www.whybiotech.com/resources/tps/plant_sciences_final.pdf)

« Rapport de synthèse sur les technologies du futur » issu d'un projet mené par l'Unité Prospective INRA et visant à identifier des technologies émergentes pertinentes pour la recherche agronomique et susceptibles de répondre aux enjeux de l'agriculture des décennies à venir (http://www.paris.inra.fr/prospective/projets/technologies_du_futur)

« An International Model for the Future of Plant Science »

élaboré à la suite du colloque «International Plant Science Vision Workshop» organisé aux Etats-Unis en 2009 par le *Biotechnology and Biological Science Research Council* (Royaume Uni), la *Deutsche Forschungsgemeinschaft* (Allemagne) et la *National Science Foundation* (Etats-Unis)
(<http://www.uni-tuebingen.de/plantphys/AFGN/InternatModelFuturePlantSci.pdf>)