



HAL
open science

Robustesse du développement chez les organismes multicellulaires

Fabrice Besnard

► **To cite this version:**

Fabrice Besnard. Robustesse du développement chez les organismes multicellulaires. Botanique. Ecole Nationale Supérieure de Lyon, 2025. <tel-05189715>

HAL Id: tel-05189715

<https://hal.science/tel-05189715v1>

Submitted on 28 Jul 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC 4.0 - Attribution - Non-commercial use - International License

HDR – Fabrice BESNARD

HABILITATION À DIRIGER DES RECHERCHES

présentée devant l'École Normale Supérieure de Lyon

Robustesse du développement chez les organismes multicellulaires

Par Fabrice Besnard, chargé de recherche INRAE

Soutenance prévue le 4 juillet 2025 devant la commission d'examen :

Rapportrices et rapporteurs :

Soazig Guyomarc'h, Professeure de l'Université de Montpellier, unité DIADE, France

Patrick Laufs, Directeur de Recherche INRAE , Institut J.-P. Bourgin, Versailles, France

Cécile Raynaud, Directrice de Recherche CNRS, IPS2, Saclay, France

Examinatrices et Examineurs :

Karine Bécu-Robinault, Maîtresse de conférence HDR à l'ENS de Lyon, France

Mérodie Faury, Professeure junior au MNHN, unité PALOC, Paris, France

Gwyneth Ingram, Directrice de recherche CNRS, laboratoire RDP, Lyon, France

Christophe Tréhin, Maître de conférence HDR à l'UCBL, laboratoire RDP, Lyon, France

Remerciements

Je remercie d'abord les membres du Jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail. En particulier Mélodie Faury et Karine Bécu-Robinault qui ont relevé le défi d'assister à cette HDR peut conventionnelle qui les plonge dans des aspects scientifiques hors de leur champ disciplinaire actuel. Je vous remercie pour votre curiosité intellectuelle et votre ouverture d'esprit.

Je remercie ensuite l'ensemble des personnes que j'ai encadrées au cours de ma carrière et en particulier depuis mon recrutement comme chargé de recherche. Merci à Sana de m'avoir fait confiance et d'avoir essuyé les plâtres de la première doctorante. Merci à tous et toutes de vous être intéressés.es à nos projets, de vous y être impliqués.es et d'avoir contribué à les emmener là où ils sont aujourd'hui : Gwennogan, Julie, Raphaël, Romuald, Grégoire, Malik, Evan, Aurèle, Marie, Ruth, Timothée, Elliott.

Je remercie aussi les collègues de l'équipe qui contribuent directement à mes projets de recherche : Stéphanie, Jo et Alexis. Merci pour votre patience, votre constance, vos bonnes idées, votre bonne humeur, et votre bienveillance à mon égard.

Évidemment, mes remerciements vont également à toute l'équipe signal, notamment les piliers, qui en plus de Stéphanie, Jo et Alexis déjà cités, comptent Géraldine, Teva, Yoan, Carlos et Pradeep. Merci de maintenir ce collectif de travail agréable et bienveillant, avec les permanents comme toutes celles et ceux qui passent dans notre équipe. Si je me sens au boulot comme à la maison, dans une zone "safe" où on travaille et on se marre bien, c'est clairement grâce à vous.

Par cercle concentrique, on arrive donc au RDP. Il serait difficile de citer tous ses membres, en incluant aussi les anciens. mais vraiment, quel labo ! Le meilleur du monde, en toute objectivité, évidemment. Une pépite, qui accueille tant de personnes brillantes, de tous âges et de tous horizons, tellement inspirantes, qui aident à grandir et se construire. À chaque génération on se dit que le souffle va peut-être retomber. Mais non. Il se maintient, se renouvelle, toujours aussi accueillant, drôle, inclusif, fêtard, travailleur, et passionnant. Merci à toutes celles et ceux qui ont fait vivre ce labo et que j'ai eu le plaisir de croiser. Je n'ai aucun doute sur le fait que l'ambiance des prochaines années va continuer à m'étonner et me réjouir.

Je salue tous les scientifiques du projet ROMI, notamment la super bande de SonyCSL Paris autour de Peter Hanappe et David Colliaux, pour avoir agrégé ce collectif et nous avoir emmené sur une aventure scientifique que je n'aurai jamais soupçonnée.

Merci aux collègues qui ont bien voulu répondre à mon questionnaire, ces discussions ont été super enrichissantes et j'espère pouvoir les continuer dans le futur avec vous !

Comme l'HDR est à l'occasion de faire un bilan sur sa carrière de scientifique, j'en profite pour rendre hommage aux personnes qui m'ont profondément influencé scientifiquement. Je remercie donc Teva, pour le plaisir toujours renouvelé de partager cette excitation pour la recherche et le même émerveillement sur la beauté de la nature, sans pour autant te départir de ta clairvoyance scientifique. Et merci aussi pour la liberté, la reconnaissance et le respect que tu m'as toujours accordés. Merci à Marie-Anne Félix, tu es une chercheuse et une Femme de Sciences exceptionnelle. Travailler à tes côtés m'a beaucoup apporté, tant sur la façon de faire de la science que pour les questions de recherche, en m'ouvrant notamment l'accès à des domaines et des auteurs.rices que je n'avais encore jamais lu. Tu as profondément influencé ma vision actuelle du vivant. Je remercie également Christophe Godin. Ton expérience, ta rigueur intellectuelle, ta façon de formaliser les problèmes, ta pédagogie et tes métaphores évocatrices sont tellement inspirantes. Je reste toutefois un peu jaloux qu'un chercheur en math-info soit l'une des personnes que je connaisse qui ait le mieux compris les plantes et les secrets de leur

développement. Enfin je remercie également Jan Traas. Si je n'ai pas directement travaillé avec toi, ton travail a été clef pour mettre en œuvre et développer de nouvelles façon d'appréhender et d'étudier le développement des plantes et ta vision de biologie des systèmes a infusé partout aujourd'hui au RDP et bien au-delà.

Parce que donner du sens à son travail, c'est aussi se poser des questions qui vont au delà de son sujet de recherche, merci à toutes et tous les compagnons de luttes, à l'ENS à l'INRAE ou ailleurs, les électrons libres, les sympathisants.es, les intellos, les militants.es, les écolos, les syndicalistes, celles et ceux qui pensent et agissent pour défendre un service public de l'enseignement supérieur et de la recherche au service de l'intérêt général, progressiste et émancipateur, respectueux des hommes et des femmes qui y travaillent, des étudiant.es qui s'y forment, des citoyen.nes qui nous financent et de la planète que l'on emprunte. Sana, Patrice M., Michiel, Olivier H., Benoît, GG, Aurélie, Alice, Marianne, Annick, Patrice B., Philippe, Thomas, Stève, Arezki, Ghislaine, Denise, Camille, Ludivine, Clément, Alfred, Férouze, Françoise, Amine, Emile, Julia, ... J'en oublie sûrement, tant mieux, ça veut dire que nous ne sommes pas seuls. Alors on doute souvent, on se trompe sûrement parfois, on se fatigue assurément à chaque fois, mais comme dit le philosophe, le progrès n'est qu'une suite d'erreurs corrigées et comme le chante le poète, "ce qui compte c'est pas l'issue, c'est le combat". Merci de mener ces combats !

Merci à ma famille, à ma compagne et à nos filles, pour tolérer que mon travail empiète parfois un peu sur nos vies privées mais surtout, pour me donner envie de le contenir à sa juste place !

Sommaire

Remerciements.....	2
Sommaire.....	4
CURRICULUM VITAE.....	5
Productions scientifiques commentées.....	8
Collaborations.....	17
Encadrement, formation, enseignement.....	19
Préambule : fil directeur de mes recherches.....	23
Travaux de recherches passés.....	27
1. Travaux de thèse.....	27
2. Travaux de post-doctorat.....	34
Travaux de recherches actuels.....	43
1. Vue d'ensemble.....	43
2. Projet n°1 - Coordination des programmes développementaux bractée et fleur lors de la transition transition florale.....	45
3. Projet n°2 - Robustesse de la morphogenèse du méristème et de la phyllotaxie.....	57
4. Projet n°3 - Développement de solutions sur mesure et open-source de phénotypage 3D de précision	67
Perspectives de recherche.....	86
1. Perspectives à moyen terme.....	86
2. Perspectives à plus long terme.....	90
Travail réflexif sur l'encadrement par et pour la recherche académique.....	92
1. Analyse de l'encadrement dans la recherche à un niveau institutionnel.....	93
2. Analyse de mon activité d'encadrement.....	102
3. Des pistes pour ma pratique d'encadrement futur.....	107
4. Épilogue.....	108
Abréviations.....	109
Références.....	110
Annexes.....	121

CURRICULUM VITAE

Fabrice Besnard

né le 2/04/1983

Chercheur INRAE, ENS de Lyon

biologie du développement et biologie intégrative des plantes

robustesse développementale, morphogenèse, différenciation cellulaire, génétique du développement, biologie des systèmes, *Arabidopsis*, hormones végétales, phyllotaxie, phénotypage 3D

- **ORCID:** [0000-0003-4619-5547](https://orcid.org/0000-0003-4619-5547)  ;  **HAL :** [fabrice-besnard](https://hal.inrae.fr/fabrice-besnard) ([CV](#))
- [ResearchGate](#)
- [Google Scholar](#)
- [Github](#) ; [romi project](#) and [docs](#)

Poste actuel

(depuis 2016) Chargé de recherche au [laboratoire Reproduction et Développement des Plantes](#) -RDP- (ENS de Lyon, France), équipe "[Signalisation hormonale et développement](#)"
temps partiel à 90 % depuis 2019

Responsabilités

- Porteur de projets dans l'équipe "signal", co-animation scientifique de l'équipe avec T. Vernoux et Y. Coudert (co-chefs d'équipe) et Géraldine Brunoud (IR).
- Responsable de proximité de 1 TR et 1 IE permanents, ainsi que des non-permanents recrutés sur mes projets (~1 à 3 personnes, étudiants et/ou CDD).

Productions scientifiques

voir la partie détaillée p. 9.

Activités d'encadrement et de formation

voir la partie détaillée p. 19.

Activités d'expertise scientifique

- 2021 - 2025 : membre nommé à la section 23 du CoNRS, collège B, jury des concours CNRS CR/DR
- Revue comme pair dans des journaux scientifiques (2-4 / an): *Science*, *Current Biol.*, *PNAS*, *Plos Biol.*, *New Phytol.*, *JXB*, *Frontiers in Pl. Sci.*, *J. Pl. Res.*, *Planta*
- Jury de thèse: examinateur (2019)
- Comités de suivi de thèse: 7 CST depuis 2017
- Revue comme pair de projets scientifiques : DFG (2017)

Fonctions électives

- Représentant du personnel élu au CSA de l'ENS de Lyon (mandat 2019-2022 ; 2023-2026)
- Représentant du personnel élu au CSAS du centre INRAE Lyon-Grenoble (mandat 2023-2026)

Fonctions diverses

- Membre du Comité de pilotage de la plateforme bioinformatique du RDP
- Responsable des locaux et bureaux au sein du laboratoire RDP
- Webmaster [du site](#) web de la section 23 du CoNRS

enseignements

Période	Niveau	Détails
2022 -	M1	Cours Magistral (2h / an) ; dans module de Physiologie (Département de Biologie, ENS de Lyon)
2016-2022	M1	Cours Magistral (2h / an) ; dans module de biologie du développement (Département de Biologie, ENS de Lyon)
2008-2011	L1-M1, prépa agrégation	Monitorat à l'ENS de Lyon / Université Claude Bernard de Lyon

Financements

- **Projet ANR '4DPlants' (2024-2028)**, collaborateur sur 3 partenaires, 545 k€ total dont 265 k€ en propre): analyser la croissance des plantes en apprenant leur architecture et leur développement à partir de plantes virtuelles et réelles, grâce à des techniques d'intelligence artificielle et de robotique à bas coût.
- **Projet H2020 ROMI** (ROBotics for MIcrofarms ID = 773875, **2017-2022**, 7 partenaires, 3.9 million € total dont 480 k€ en propre). Explorations de solutions technologiques open-source et peu chères adaptés aux contraintes des petites fermes maraîchères péri-urbaines en agriculture biologique. Responsable du WP5, de l'interface WP5-WP6 et du développement d'un robot de phénotypage 3D de précision pour laboratoires de recherche.
- **Projet Phytochimera** (INRAE / Département BAP; **2019-2021** ; 30 k€): capturer les divergences d'expression génétiques associées à une variation développementale lors de la transition florale dans une accession naturelle (séries temporelles de RNAseq sur apex micro-disséqués).
- **Projet Macroshoot** (ENS de Lyon, **2017** ; 25 k€). Exploration et parangonnage de solutions de phénotypage 3D automatisée adaptées à l'architecture aérienne d'*Arabidopsis thaliana*.
- **EMBO short term fellow whip (2014)**: séjour d'un mois dans le Laboratoire du professeur Mark Blaxter (Edinburgh, Scotland, UK). **Objectif** : assemblage du génome du nématode *Oscieius tipulae* et identification d'un mutant de développement de la vulve par analyse génomique.

Communications scientifiques

présentations orales sélectionnées :

2023: Affordable phenotyping IPPN (Angers, France) + workshop dédié

2023: 10th conference on Structural-Functional Plant Models (SFPM) ; [Godin C.](#), Besnard F. (Berlin, DE)

2021: Affordable phenotyping IPPN (online)

2016: Ver Midi XIX (French *C. elegans* community ; Lyon, France)

2011: 22nd International Conference on Arabidopsis Research (ICAR, Madison, USA) ; journées de l'école doctorale BMIC (Lyon, France)

posters : 7th Int. Plant Phenotyping Symposium (IPPS, **2022**, Wageningen, NL) ; 32nd International Conf. on Arabidopsis Res. (ICAR **2022**, Belfast, UK); EMBO François Jacob Symposium (**2015**, Paris, France) ; conf.

Jacques Monod (2015, Roscoff, France) ; Evolutionary Biology of Caenorhabditis and other Nematodes (2014, Cambridge, UK) ; Worm meeting (2013, Los Angeles, USA)

Activités de vulgarisation, communications grand public, média

Nature	description	années
Fête de la science	conception et animation d'un stand de démonstration de robot de phénotypage 3D (accueil de scolaire et grand public, ~100 personnes sur 3 jours)	2019,2022, 2023
Visites de lycées	Programme "Déclit" ou "Comptoir des Sciences"	2019, 2020, 2021, 2024
Conférences grand public	Soirée "Pint Of Science, "Université Ouverte" de Lyon	2017, 2019
Presse scientifique grand public	- photo publiée dans magazine Epsilon 06/2024 - Interview "Science et Vie" 09-11/2021 - Article "Pour la Science" 08/2018	
Journaux généralistes	"Le Monde" 01/2018, reportage	2018

Parcours professionnel et académique

2012-2016	Post-doctorat à Institut de Biologie de l'ENS (IBENS, Paris), équipe " Evolution des Caenorhabditis ", direction: Marie-Anne Félix (DR CNRS). Sujet : « Étude de l'évolution et de la robustesse des relations génotypes-phénotypes dans le développement de la vulve de nématodes des genres <i>Caenorhabditis</i> et <i>Oscheius</i> ».
2008-2012	Thèse au Laboratoire « Reproduction et Développement des Plantes » (Lyon), direction: Teva Vernoux (CR CNRS). Sujet : « Étude du rôle de l'inhibiteur de cytokinines <i>AHP6</i> dans le contrôle de la phyllotaxie chez <i>Arabidopsis thaliana</i> ». Thèse soutenue le 21 octobre 2011.
2006	Reçu au concours externe de l' agrégation des SV-STU
2003	Admission sur concours à l'ENS de Paris, département de biologie.

Productions scientifiques commentées

Notations :

- Mon nom apparaît **en gras** parmi les auteur.rices
- *: contribution équivalente
- ^c: indique si je suis auteur de correspondance
- Nom prénom : personne directement encadrée
- Période : ma production scientifique fait référence aux trois périodes de ma carrière (thèse, post-doctorat -post-doc- et actuelle, c'est à dire après mon recrutement comme CR INRAE), selon que les productions se rapportent aux projets associés à ces trois périodes, et même si le travail est achevé après la fin officielle du contrat correspondant.

Sélection de trois productions

L'ensemble de mes productions sont détaillées ci-après.

Ici, j'ai choisi de mettre en avant 3 productions qui illustrent la diversité de mon travail de recherche.

1. Dieudonné S. et al., biorxiv 2025.

- Dieudonné, S., Kristianingsih, R., Laine, S., Jesson, B., Vidal, V., Wells, R., Morris, R., **Besnard, F.^c, 2025.** Arabidopsis natural variation induces complex transcriptomic heterochronies at the floral transition and perturbs the coupling between leaf and flower development by an unexpected genetic control. **Biorxiv** <https://doi.org/10.1101/2024.08.12.607587>

Dernière en date de mes productions, cet article condense mes compétences actuelles sur les plans scientifique, technique, gestion de projet et managérial (encadrement de thèse notamment). Il constitue également un jalon important dans le développement de mes axes de recherche futurs (mécanismes et impacts du développement de la bractée dans le méristème d'inflorescence, utilisation de la variation naturelle pour étudier la robustesse développementale dans un contexte évolutif).

2. site web "romi": [documentation](#) associée au robot de phénotypage (construction, installation, utilisation)

- <https://docs.romi-project.eu/>

À travers le projet ROMI, j'ai coordonné un projet interdisciplinaire réunissant les contributions de plus de 20 personnes et dont l'aboutissement est une plateforme de phénotypage 3D de précision, à bas coût et open-source, le **plant-imager**, qui produit aujourd'hui ses premiers résultats. Ce travail innove aussi dans le domaine de la vision par ordinateur, en proposant des combinaisons de technologies originales qui répondent efficacement aux besoins d'un phénotypage à bas coût, adaptable aux besoins changeant de la recherche. J'ai encadré sur ce projet 3 étudiants (L3/M1) et 3 CDD (AI/IE). Je supervise aussi les contributions d'Alexis Lacroix (IE permanent) et de **Jonathan Legrand** (IR permanent), **principal contributeur et mainteneur de ce site**, dont l'expertise est aujourd'hui essentielle. Conçue pour évoluer et s'adapter facilement, le plant-imager sera structurant dans mes futurs projets de recherche, tant pour adresser des nouvelles questions biologiques que continuer des innovations technologiques.

3. Besnard F. et al., Pour la Science, 2018.

- Besnard, F., Vernoux, T., Godin, C. **2018.** Quand les plantes font des maths Purlascience.fr. [URL](#)

La transmission auprès du grand public des connaissances produites par la recherche constitue pour moi un aspect important de mon travail de chercheur, auquel je prends beaucoup de plaisir. Je participe ainsi régulièrement à différents événements qui permettent ces échanges avec des scolaires ou le grand public. Cet article publié dans la "Pour la Science" illustre cette activité.

Tableau récapitulatif des productions

Type de production	nombre	dont 1er auteur	dont dernier auteur	dont correspondance (article) /contact principal
articles de recherche	10	4	1	3
articles de conférence	2	0	0	0
Articles de revues	3	0	0	0
Rapports publics	6	5	0	5
scripts, logiciels	6	2	1	3
jeu de données	31	22	8	30
articles grand public	1	1	0	1

Par la suite, mes productions sont détaillées par type, du plus récent au plus ancien.

Articles de recherche

◆ Dieudonné, S., Kristianingsih, R., Laine, S., Jesson, B., Vidal, V., Wells, R., Morris, R., Besnard, F.^c, 2025. Arabidopsis natural variation induces complex transcriptomic heterochronies at the floral transition and perturbs the coupling between leaf and flower development by an unexpected genetic control. **Biorxiv** <https://doi.org/10.1101/2024.08.12.607587>

Période : **actuelle** (projet "Bractée" et thèse de Sana Dieudonné)

Importance : développement dans l'équipe d'une nouvelle thématique (séparation des identités 'bractée' et 'fleur' dans le méristème) et de nouvelles méthodes et approches (génétique quantitative, variation naturelle, dynamiques de transcription) ; résultats nouveaux sur la génétique de formation de la bractée et sur l'impact des hétérochronies sur la robustesse phénotypique.

Contributions : conception du projet, contributions expérimentales et analyses, recherche de financements, management du projet, établissement des collaborations, écriture initiale et révision, dernier auteur avec correspondance, soumission aux journaux.

Encadrement : direction de thèse de Sana Dieudonné ; encadrement direct de la contribution de la doctorante Ruth Kristianingsih sur ce projet ; Encadrement du travail de S. Laine (TR de l'équipe).

◆ Mirande, K., Godin, C., Tisserand, M., Charlaix, J., Besnard, F., Hétroy-Wheeler, F., 2022. A graph-based approach for simultaneous semantic and instance segmentation of plant 3D point clouds. **Frontiers in Plant Science** 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1012669>

Période : **actuelle** (projet ROMI)

Importance : démonstration de l'utilité de notre robot de phénotypage 3D (plant-imager) sur une plante différente de l'arabette ; nouvelle méthode de segmentation d'une architecture aérienne végétale.

Contributions : mise en place de la culture de Chénopode au laboratoire, supervision du phénotypage 3D et des annotations manuelles, coordination du travail dans le cadre du projet ROMI, édition de l'article.

Encadrement : M. Tisserand (CDD AI) et J. Charlaix (CDD IE).

- ◆ **Besnard, F.^{*c}**, Picao-Osorio, J.^{*}, Dubois, C., Félix, M.-A.^c, **2020**. A broad mutational target explains a fast rate of phenotypic evolution. *eLife* 9, e54928. <https://doi.org/10.7554/eLife.54928>

Période : **Post-doc** (projet principal)

importance : première démonstration sur un organisme multicellulaire de l'implication d'une large cible mutationnelle dans la rapidité de l'évolution d'un trait ; l'article a bénéficié d'une cover par les éditeurs de eLife (Yang and Rifkin, 2020)

Contributions : mise en œuvre du projet (méthodes, expérimentations, analyses), écriture initiale du manuscrit et révision, correspondance de l'article.

- ◆ **Besnard, F.^c**, Koutsovoulos, G., Dieudonné, S., Blaxter, M., Félix, M.-A.^c, **2017**. Toward Universal Forward Genetics: Using a Draft Genome Sequence of the Nematode *Oscheius tipulae* To Identify Mutations Affecting Vulva Development. *Genetics* 206, 1747–1761. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.203521>

Période : **Post-doc** (projet secondaire)

importance : développement des outils nécessaires (draft genome, pipeline de cartographie génétique) pour l'identification des gènes affectés dans des mutants de l'espèce modèle satellite de nématode *Oscheius tipulae* et preuve de concept sur un premier mutant. En comparaison avec d'autres espèces de nématode comme *Caenorhabditis elegans*, ce travail permet d'étudier le phénomène de "dérive développementale" (évolution des mécanismes de développement malgré un phénotype inchangé). Ce travail a permis par la suite un meilleur assemblage du génome d'*Oscheius tipulae* (Gonzalez de la Rosa et al., 2021) et la caractérisation moléculaire des gènes affectés dans d'autres mutants (Vargas-Velazquez et al., 2019).

Contributions : mise en œuvre du projet (méthodes, expérimentations, analyses), collaboration active avec le groupe de M. Blaxter, écriture initiale du manuscrit et révisions, correspondance de l'article.

Encadrement : S. Dieudonné (L3).

- ◆ Vargas-Velazquez, A.M., **Besnard, F.**, Félix, M.-A., **2019**. Necessity and Contingency in Developmental Genetic Screens: EGF, Wnt, and Semaphorin Pathways in Vulval Induction of the Nematode *Oscheius tipulae*. *Genetics* 211, 1315–1330. <https://doi.org/10.1534/genetics.119.301970>

Période : **Post-doc** (projet secondaire)

importance : caractérisation moléculaire de 10 nouvelles mutations correspondants à 6 gènes affectés dans des mutants de développement de la vulve de *O. tipulae*, identifiés près de 20 ans auparavant. Ces résultats permettent d'apprécier l'évolution des mécanismes de développement de la vulve au sein des nématodes, révélant des différences autant quantitatives que qualitatives dans les voies développementales impliquées.

Contributions : cartographie génétique et identification moléculaire des 10 mutations, édition du manuscrit.

- ◆ **Besnard, F.**, Refahi, Y., Morin, V., Marteaux, B., Brunoud, G., Chambrier, P., Rozier, F., Mirabet, V., Legrand, J., Lainé, S., Thévenon, E., Farcot, E., Cellier, C., Das, P., Bishopp, A., Dumas, R., Parcy, F., Helariutta, Y.,

Boudaoud, A., Godin, C., Traas, J., Guédon, Y., Vernoux, T., **2014a**. Cytokinin signalling inhibitory fields provide robustness to phyllotaxis. *Nature* 505, 417–421. <https://doi.org/10.1038/nature12791>

Période : Thèse

importance : première visualisation expérimentale d'un champ inhibiteur impliqué dans la phyllotaxie ; identification d'un nouveau rôle de la signalisation cytokininique dans l'organogenèse précoce dans le méristème d'inflorescence d'*Arabidopsis thaliana* ; mise en évidence de la faible robustesse du plastochrone par rapport au positionnement angulaire et l'importance de ce "bruit" sur les irrégularités géométriques de la phyllotaxie. Ma publication la plus citée (> 295 citations en 10 ans).

Contributions : mise en œuvre du projet (méthodes, expérimentations, analyses), écriture initiale du manuscrit et révision.

◆ **Besnard, F., Rozier, F., Vernoux, T., 2014b**. The AHP6 cytokinin signaling inhibitor mediates an auxin-cytokinin crosstalk that regulates the timing of organ initiation at the shoot apical meristem. *Plant Signal Behav* 9, e28788. <https://doi.org/10.4161/psb.28788>

Période : Thèse

importance : données complémentaires au travail publié dans Besnard et al., 2014a, précise le positionnement de AHP6 dans le dialogue hormonal auxine/cytokininique lors de l'organogenèse, en montrant notamment que la signalisation cytokininique potentialise celle de l'auxine pour initier des organes.

Contributions : mise en œuvre du projet (méthodes, expérimentations, analyses), écriture initiale du manuscrit et révision.

◆ Guédon, Y., Refahi, Y., **Besnard, F., Farcot, E., Godin, C., Vernoux, T., 2013**. Pattern identification and characterization reveal permutations of organs as a key genetically controlled property of post-meristematic phyllotaxis. *Journal of Theoretical Biology* 338, 94–110. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2013.07.026>

Période : Thèse

importance : identification des permutations d'organes comme une source importante de variation de la phyllotaxie ; contrôle génétique de la fréquence de permutation (mutant *ahp6*); nouvelle méthode d'analyse des variations de phyllotaxie ; nouvelle approche pour étudier la dynamique d'organogenèse en utilisant *a posteriori* la phyllotaxie post-méristématique.

Contributions : conceptualisation, production des données expérimentales, analyses des résultats et interprétations biologiques, co-écriture initiale du manuscrit et révision.

◆ Mirabet, V., **Besnard, F., Vernoux, T., Boudaoud, A., 2012**. Noise and Robustness in Phyllotaxis. *PLOS Computational Biology* 8, e1002389. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002389>

Période : Thèse

importance : correspondance entre les paramètres théoriques et des paramètres biologiques pertinents dans un modèle de phyllotaxie par champ inhibiteur ; test systématique des effets du bruit affectant différents paramètres sur la phyllotaxie ; première exploration de l'espace phénotypique théorique accessible autorisé par la robustesse intrinsèque d'une phyllotaxie basée sur des champs inhibiteurs.

Contributions : conceptualisation, analyses des résultats et interprétations biologiques, édition du manuscrit et révision.

- ◆ Landrein, B., Refahi, Y., **Besnard, F.**, Hervieux, N., Mirabet, V., Boudaoud, A., Vernoux, T., Hamant, O., **2015**. Meristem size contributes to the robustness of phyllotaxis in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany** 66, 1317–1324. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru482>

Période : Thèse

importance : première caractérisation de la variabilité naturelle de la phyllotaxie, test expérimental du paramètre d'un des paramètres théoriques de la phyllotaxie par champs inhibiteur (taille du méristème).

Contributions : apports méthodologiques et conceptuels, édition du manuscrit, révision.

Article de conférence

- ◆ Godin, C.^c, **Besnard, F.**, **2023**. Hierarchical Developmental Timeline Warping: a generic method to design realistic plant architecture models, in: **10th Conference on Structural-Functional Plant Models**. Berlin (DE), France.

Période : actuelle

importance : développement d'une nouvelle méthode pour créer des plantes virtuelles réalistes en formalisant explicitement les relations ontogéniques et temporelles entre les différentes parties aériennes d'une plante.

Contributions : co-conception du projet, design, expériences, analyses.

- ◆ Refahi, Y., Farcot, E., Guédon, Y., **Besnard, F.**, Vernoux, T., Godin, C., **2011**. A Combinatorial Model of Phyllotaxis Perturbations in Arabidopsis thaliana, in: **Combinatorial Pattern Matching**. Presented at the **Annual Symposium on Combinatorial Pattern Matching**, Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 323–335. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21458-5_28

Période : Thèse

importance : développement d'un modèle combinatoire pour détecter spécifiquement des permutations dans des séquences de phyllotaxie.

Contributions : production des données expérimentales, édition de l'article

Articles de revue

- ◆ Vernoux, T.^c, **Besnard, F.**, Godin, C., **2021**. What shoots can teach about theories of plant form. **Nat. Plants** 7, 716–724. <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00930-0>

Période : actuelle

importance : proposition originale de conceptualisation des processus de morphogenèse dans le méristème apical caulinaire ; analyse par ce prisme des avancées récentes du domaine et des futurs fronts de recherche (éléments manquants, défis technologiques pour répondre à ces questions)

Contributions : co-conceptualisation, co-écriture initiale et révision, réalisation des figures.

- ◆ **Besnard, F.**, Vernoux, T., Hamant, O., **2011**. Organogenesis from stem cells in planta: multiple feedback loops integrating molecular and mechanical signals. **Cell. Mol. Life Sci.** 68, 2885–2906. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0732-4>

Période : Thèse

importance : synthèse des mécanismes de signalisation inter-cellulaire qui coordonnent morphogenèse et différenciation cellulaire dans le méristème apical caulinaire chez Arabidopsis,

approche intégrative et "système complexe" (réunion des signaux chimiques et mécaniques, interactions et rétro-contrôles). Revue bien citée (64 citations en 2025).

Contributions : conceptualisation (plan, figures) ; écriture initiale et révision.

- ◆ Vernoux, T., **Besnard, F.**, Traas, J., 2010. Auxin at the Shoot Apical Meristem. **Cold Spring Harb Perspect Biol** 2, a001487. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001487>

Période : Thèse

importance : synthèse des connaissances moléculaires sur le rôle de l'auxine dans l'organogenèse précoce au niveau du méristème apical caulinaire d'*Arabidopsis thaliana*, en évoquant les différents aspects de la biologie de cette hormone : transport, métabolisme et transduction du signal.

Contributions : conceptualisation (figures) ; co-écriture initiale et révision.

Rapports publics

- ◆ Livrables du projet H2020 ROMI ([project ID: 773875](#))

Principal rédacteur des livrables :

- ✓ D1.4 the SCANNER 3D for scientific users (Management Document), 2020 (**Besnard F.**, Legrand J., Charlaix J., Ait Talib N., Hanappe P.) ; [lien hal](#).
- ✓ D5.2 Demonstration of enhanced 3D segmentation for weeding, 2020 (**Besnard F.**, Charlaix J., Hanappe P.) ; [lien hal](#).
- ✓ D5.3 Demonstration of indoor (and outdoor), 3D reconstruction of plants, 2020 (**Besnard F.** Charlaix J.) ; [lien hal](#).
- ✓ D5.5. Report on the computer vision algorithms and their applications, 2022 (**Besnard F.**, Legrand J., Mirande K., Godin C., Hétroy-Wheeler F.) ; [lien hal](#).

Co-auteur du livrable :

- ✓ D6.4. Realistic model of Arabidopsis based on botanical measurements and extension to new plant species, 2022 (Godin C., Colliaux D., **Besnard F.**) ; [lien hal](#).
- ✓ D6.5 Development and assessment of a validation method for assessment of plant trait extraction from the ROMI pipeline, 2022 (**Besnard F.**, Godin C.) ; [lien hal](#).

Période : Actuelle

importance : livrables attendus par le financeur européen sur le projet H2020 ROMI ; démonstrations des avancées en terme de phénotypage 3D de précision sur architecture aérienne de plante grâce à notre prototype à bas coût open-source, le plant-imager.

Contributions : En tant que responsable du WP5, de l'interface WP5-WP6 et du développement d'un robot de phénotypage 3D de précision pour laboratoire de recherche, j'ai supervisé, coordonné et contribué directement aux activités de recherche et développement associées à ces livrables et j'ai été moteur dans la rédaction des comptes rendus.

Scripts, Logiciels

- ◆ Logiciels associés au **plant-imager** (phénotypage 3D de précision pour architecture aérienne de plante) de plante

- ✓ <https://github.com/romi> : code github de romi (comprends l'ensemble du code généré par le projet romi). J'ai supervisé et contribué aux modules associés au plant-imager: [plant-imager](#), [plantdb](#), [plant-3d-vision](#), [plant-3d-explorer](#), [dtw](#).
- ✓ <https://hub.docker.com/u/roboticsmicrofarms>: images docker des différents modules listés ci-dessus et permettant d'utiliser le plant-imager
- ✓ https://docs.romi-project.eu/plant_imager/ : documentation associée à la construction, installation et utilisation du plant-imager

Période : Actuelle (Ce code est activement maintenu et en constante évolution)

Importance : visibilité du projet romi et de nos développements, démarche open source, permet une collaboration efficace, la continuité du projet et des process d'intégration continue malgré les arrivées/départs fréquents de personnels.

Contributions : je coordonne les contributions et j'ai directement supervisé le travail de nombreux contributeurs, notamment celui de **Jonathan Legrand** (IR permanent de notre équipe), **principal contributeur** et **mainteneur** actuel des différentes sources de code liées au plant-imager

◆ Scripts associés à la simulation de séquences de phyllotaxie et l'évaluation de mesures automatisées

- ✓ <https://github.com/fabfabBesnard/Phyllotaxis-sim-eval> (2022) : code source
- ✓ vidéo de tutoriel pour utiliser le code ; associé au **livrable D6.5 du projet ROMI** ([lien zenodo](#))

Période : Actuelle

Importance: relié au projet romi, en collaboration avec le programme sm-dtw généré par C. Godin et avec l'aide J. Legrand pour l'intégration du code. A terme, ce programme a pour but d'automatiser l'évaluation de mesures de phyllotaxies effectuées par le robot, facilitant les cycles de développement et les tests de paramètres. Cette approche analytique pourrait également être utilisée pour analyser la croissance de tige ou les patterns des séquences de phyllotaxies. Travail encore non publié.

Contributions : production du code et du tutoriel.

◆ Scripts de pipeline de cartographie génétique par séquençage :

- ✓ <https://github.com/fabfabBesnard/Parallel-Variant-Calling> (2022 ; Période actuelle) : implémentation en nextflow d'un pipeline de cartographie génétique par séquençage aux fonctionnalités augmentées.
- ✓ https://github.com/fabfabBesnard/Andalusian_Mapping (2017 ; Période Post-doc) : code source ; publication associée : Besnard et al., 2017

Contributions : code pour Andalusian mapping, supervision

Encadrement : R. Marin et M. Talbi (Master2) pour l'implémentation en nextflow (Parallel-Variant-Calling) ; travail non publié.

Jeux de données

- ◆ Données de génomique / transcriptomique associées au projet "variation naturelle de formation de la bractée" ([dépôt sur recherche.data.gouv.fr](#)). Contient **4 jeux de données**: un de génomique utilisé pour cartographier les déterminants génétiques de bractées basales par BSA, les 3 autres étant du bulk-RNAseq sur méristèmes micro-disséqués dans différentes conditions et fonds génétiques.

Période : actuelle

Contributions : supervision, contrôle et dépôts des données, analyses ultérieures

Encadrement : Sana Dieudonné (Thèse)

Publication associée : Dieudonné et al., 2025.

- ◆ Phénotypage 3D de plantes grâce au plant-imager.
 - ✓ 3 Inflorescences d'*Arabidopsis thaliana*, 1 plante réelle et 2 virtuelles, utilisées comme données de test pour la fonctionnalité des pipelines. Images brutes et sorties d'analyses.
 - ✓ 12 Inflorescences d'*Arabidopsis thaliana*, utilisées pour évaluer la qualité des mesures automatisées. Images brutes sorties du robot. Certains nuages de points ont été utilisés dans Chaudhury and Godin, 2020.
 - ✓ Nuage de points reconstruits à partir du suivi sur 7 jours de 5 *Arabidopsis thaliana* lors de la montaison (émergence de la hampe florale) -> Publication associée (article de conférence 3DV): Pan et al., 2021.
 - ✓ Nuages de points de *Chenopodium album* (24 virtuels et 5 réels acquis sur le plant-imager). Publication associée : Mirande et al., 2022.

Période : **actuelle**

Contributions : supervision, expérimentations, analyses,

Encadrement : Julie Charlaix (IE), Marie Tisserand (AI), Jonathan Legrand (IR)

- ◆ Re-Séquençage génome entier de lignées d'accumulation de mutation issues différents nématodes: 3 projets (ENA accession n° [PRJEB30820](#), [PRJEB30821](#), [PRJEB30822](#))

Période : **Post-doc**

Contributions : production et envoi ADN au séquençage, contrôle et dépôts des données, analyses ultérieures.

Publication associée : Besnard et al., 2020

- ◆ Assemblage provisoire du génome du nématode *Oscheius tipulae* (nOti.v2) ; lien du [projet PRJEB15512 sur WormBase Parasite](#).

Période : **Post-doc**

Contributions : production et envoi ADN au séquençage, contrôle et dépôts des données

Publications associées : Besnard et al., 2017

- ◆ Cartographie par séquençage et identification moléculaire de mutations avec le nématode *Oscheius tipulae*

- ✓ ENA project accession [n° PRJEB19969](#) : re-séquençage génome entier de la lignée sauvage d'*Oscheius tipulae* JU170, utilisée comme lignée de cartographie avec le fonds génétique de référence CEW1.

- ✓ ENA project accession [n° PRJEB199XX](#) (XX: 13, 17, 19, 21-25, 51, 52, 54-58, 60-62) : re-séquençage génome entier de populations F₂ de cartographie de 18 mutants vulvaires chez *O. tipulae*.

Période : **Post-doc**

Contributions : génération des populations F₂, envoi ADN au séquençage, contrôle et dépôts des données, analyses pour cartographie génétique

Publications associées : Besnard et al., 2017; Vargas-Velazquez et al., 2019.

Articles scientifiques grand public

- ◆ Besnard Fabrice, Teva Vernoux, Christophe Godin, **2018**. Quand les plantes font des maths [WWW Document]. Purlascience.fr. URL:

<https://www.purlascience.fr/sd/mathematiques/https://www.purlascience.fr/sd/mathematiques/quand-les-plantes-font-des-maths-14833.php>

Autres

◆ Thèse: "Study of the role of AHP6 in the control of phyllotaxis in *Arabidopsis thaliana* : robustness and spatio-temporal coordination in the development of self-organized organisms" / "Etude du rôle de AHP6 dans le contrôle de la phyllotaxie chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* : robustesse et coordination spatio-temporelle au cours du développement de structures auto-organisées"

- lien [dépôt HAL](#)

- soutenue le 21/10/2011

◆ Dans le cadre du projet ROMI, nous avons produit de nombreuses vidéo auxquelles j'ai participé, comme support de communication à destination de scientifiques (comme livrable du projet) ou du grand public.

Année	Titre	durée	source(s)	Participation
2020	Plant Scanner Video - D5.3	2min21	zenodo + youtube + ROMI website	design, video script writing, figuration, supervision
2022	D5.4: demonstration of 3D reconstruction of plants over time (4D) to follow plant growth	11min15	youtube	design, video script writing and performing, figuration, supervision
2022	Tutorial video to use the 'sm-dtw' assessment tool with simulated synthetic phyllotaxis data (D6.5)	52min30	zenodo + youtube	design, video script writing and performing, réalisation
2022	Tell me more: a deeper dive into the PLANT SCANNER	2min54	zenodo	figuration

Collaborations

Collaborations actuelles

- ◆ (2017 -) **Franck Hétroy-Wheeler** (Pr.), Université de Strasbourg, Laboratoire ICube, France ; (2022 -) **Stéphanie Wührer** (CR Inria), équipe Morpheo Inria Grenoble, France
→ développement d'outils d'analyse de reconstructions 3D+t d'architecture de plantes, nouvelles méthodes de prédiction de la croissance d'une plante par apprentissage sur des plantes virtuelles (partenaire des projets ROMI, 4DPlants). Lors du projet H2020 ROMI, la collaboration avec F. Hétroy-Wheeler a été valorisée par la publication de Mirande et al., 2022 et par le dataset 3D+t ayant servi à l'article de conférence Pan et al., 2021.
- ◆ (2022 -) **Damien Garcia** (CR CNRS), laboratoire IBMP, Strasbourg, France
→ Projet sur les mécanismes moléculaires reliant la machinerie de dégradation des ARN et la robustesse de la phyllotaxie (demandes infructueuses de financement à l'ANR en 2023, 2024 et 2025 ; obtention des premières données préliminaires)
- ◆ (2021 -) **Richard Morris** (Pr.), **Rachel Wells** (Dr.) et **Ruth Kristianingsih** (Ph.D), John Innes Center, Norwich, United Kingdom
→ Analyses mathématiques par alignement de courbe des décalages temporels dans des données transcriptomiques en série temporelle (projet en cours de publication : Dieudonné et al., 2025)
- ◆ (2017 -) **David Colliaux & Peter Hanappe**, Laboratoire Sony CSL, équipe "Sustainability", Paris, France
→ Développement de solution robotiques et logicielles (computer vision) pour l'acquisition et la reconstruction 3D+t de plantes, développement d'outils d'analyse de reconstructions 3D+t d'architectures de plantes (partenaire du projet ROMI, échanges réguliers hors projet)
- ◆ (2017 -) **Christophe Godin** (DR INRIA), laboratoire RDP (équipe Mosaic), Ens De Lyon, France
→ Développement et utilisations de plantes virtuelles, développement d'outils d'analyse de reconstructions 3D d'architectures de plantes (partenaire des projets ROMI, 4DPlants). Les travaux effectués en collaboration avec C. Godin n' ont pas encore été publiés mais a été décrit dans les livrables publics du projet ROMI ([D6.4](#) et [D6.5](#)) et l'un d'entre eux présenté oralement à la conférence FSPM 2023 (Godin and Besnard, 2023).
- ◆ (2016 -) **Teva Vernoux** (DR CNRS), laboratoire RDP (équipe signal), Ens de Lyon, France
→ Soutien sur différents projets (ROMI, 4DPlants, appel à projets et projets non financés en cours), partage de matériel et de moyen, conseils scientifiques (stratégie, projets, relectures) et mentoring de carrière.

Collaborations passées

Note : les titres et institutions attachés aux personnes sont ceux en vigueur au moment des dates indiquées de la collaboration.

- (2013-2017) **Mark Blaxter** (Pr.), **Georgios Koutsovoulos** (Ph.D), University of Edinburgh
Assemblage du génome du nématode *Oscheius tipulae*.

- (2010 - 2012) **Arezki Boudaoud** (Pr.) et **Vincent Mirabet** (Post-doc), laboratoire RDP, Ens De Lyon, France
Établissement d'un modèle spatial théorique non cellularisé de phyllotaxie basé sur la théorie des champs inhibiteurs ; exploration de l'influence du bruit de différents paramètres sur la robustesse de la phyllotaxie en lien avec des données expérimentales. Article issu de cette collaboration: Mirabet et al., 2012.
- (2008-2012) **Yann Guédon** (CR CIRAD) & **Christophe Godin** (DR Inria) et **Yassin Refahi** (Ph.D): Virtual Plants INRIA/CIRAD/INRA Project Team, UMR AGAP, Institut de Biologie Computationnelle, Montpellier, France
Analyses mathématiques (statistiques et combinatoires) des motifs et structures présents dans les mesures de phyllotaxie chez *Arabidopsis thaliana*. Travaux en lien avec cette collaboration: Besnard et al., 2014; Guédon et al., 2013; Landrein et al., 2015; Refahi et al., 2011.
- (2008-2012) **Yka Helariutta** (Pr.) et **Tony Bishopp** (Res. ass.), Institute of Biotechnology/Department of Biosciences, University of Helsinki, Finland
Partage de lignées transgéniques pour l'étude du rôle de *AHP6* dans le méristème apical caulinaire chez *Arabidopsis thaliana*. Travaux en lien avec cette collaboration: Besnard et al., 2014.

Encadrement, formation, enseignement

Doctorant.es encadré.es

Nom / Prénom de la personne encadrée	Année (durée)	Détail de l'encadrement	Valorisations
CHAUMERET Anaïs	2016-2017 (18 mois)	implication directe sur le projet (expériences, analyses) ; co-encadrement non officiel fin de thèse (écriture, soutenance)	Thèse
DIEUDONNÉ Sana	2018-2021 (3 ans 4 mois)	Directeur de thèse par accréditation (co-encadrant officiel pour la soutenance car sans HDR)	- dataset génomique / transcriptomique - Thèse - comm. orales (' genes to plants ' european symp.; Poitiers, FR., 2022 ; Shaping Life 2, SFBD 2021) - Dieudonné et al., 2025
KRISTIANINGSIH Ruth	2022-2024 (2 ans)	encadrement du travail relatif à la collaboration	Dieudonné et al., 2025

Etudiant.es encadré.es

Niveau d'étude	Nom / Prénom de la personne encadrée	Année (durée)	Détail de l'encadrement	Valorisations / suite du stage
M2	DIEUDONNÉ Sana	2018 (6 mois)	projet bractée	Poursuite en thèse
M1	DUBOIS Gwennogan	2018 (7 sem.)	projet <i>filamentous flower</i>	Poursuite en M2/thèse dans une autre équipe du RDP
L3	COLIN Raphaël	2020 (2 mois, distanciel)	projet ROMI (interface de visualisation)	amélioration de l'interface plant-3d-explorer
L3	HOSY Grégoire	2021 (2 mois, distanciel)	projet ROMI (interface de visualisation)	amélioration de l'interface plant-3d-explorer
M2	MARIN Romulad	2021 (6 mois)	projet bio-informatique (cartographie et identification moléculaires des gènes à l'origine de mutation)	- script Parallel-Variant-Calling

Niveau d'étude	Nom / Prénom de la personne encadrée	Année (durée)	Détail de l'encadrement	Valorisations / suite du stage
M2	TALBI Malik	2022 (6 mois)	projet bio-informatique (cartographie et identification moléculaires des gènes à l'origine de mutation)	- script Parallel-Variant-Calling
M1	ZARELLA Evan	2022 (2 mois, distanciel)	projet ROMI (interface de visualisation)	amélioration de l'interface plant-3d-explorer
L3	DARBOIS Timothée	2023 (2 mois)	projet <i>filamentous flower</i>	
M1 + Césure	CORDIER Elliott	2023 (6 mois)	projet <i>filamentous flower</i>	poursuite en M2
M2	CORDIER Elliott	2025 (6 mois)	projet <i>filamentous flower</i>	candidate pour une thèse à l'école doctorale

Personnels encadrés en CDD

Statut des personnes encadrées	Nom / Prénom de la personne encadrée	Année (durée)	Détail de l'encadrement	Valorisations
IE	CHARLAIX Julie	2018-2021 (3ans)	formation, supervision et coordination du travail sur projet ; H2020 ROMI	Rapports, datasets et code open-source du projet ROMI ; Chaudhury and Godin, 2020; Mirande et al., 2022; Pan et al., 2021
IE	MACÉ Aurèle (CDD contrat)	2021-2022 (1an)	supervision et coordination du travail sur le projet romi ; H2020 ROMI	Rapports, datasets et code open-source du projet ROMI
AI	TISSERAND Marie (CDD contrat)	2022-2023 (1an)	formation, supervision et coordination du travail sur projet ; H2020 ROMI	Rapports, datasets et code open-source du projet ROMI ; Mirande et al., 2022
IR	LUCIANI Arthur	2025 - en cours (2ans)	coordination et supervision du travail ; ANR 4DPlants	

Encadrement de Personnels permanents de l'équipe

Statut des personnes encadrées	Nom / Prénom de la personne encadrée	Année	Détail de l'encadrement	Valorisations
TR	HALLET Stéphanie (Stéphanie travaille 40% de son temps sur mes projets)	2016-présent	supervision d'expériences sur divers projets, formations si nécessaire	Dieudonné et al., 2025
IR	LEGRAND Jonathan (Jonathan ne travaille pas à plein temps pour ce projet, son implication variant fortement dans le temps selon ces autres sollicitations intra et extra-équipe).	2018-présent	coordination et supervision du travail lié au Phénotypage 3D (H2020 Romi ; ANR 4DPlants)	Rapports, datasets et code open-source du projet ROMI ; - animation d'un workshop au congrès IPPN ' affordable phenotyping ' (Angers 2023)
IE	LACROIX Alexis (Alexis travaille 40% de son temps sur mes projets)	2023-présent	formation et supervision d'expériences sur projet	

Comités de suivi de thèse

Années	Étudiant.e	Origine / Laboratoire
2017-2018	Mehdi Doumane	Labo RDP - équipe "SiCE"
2017-2018	Nicolas Doll	Labo RDP - équipe "Seed Dev"
2018-2019	Garance Pontier	Labo RDP - équipe "Morphogénèse Florale"
2021-2022	Emmanuel Petit	Labo RDP - équipe "Mosaic"
2021-2023	Angèle NOH	Labo RDP - équipe "Morphogénèse Florale"
2023-2024	Lucie Poupardin	Labo RDP - équipe "Mosaic"
2024-2025	Samuel Laurent	IJPB (Versailles)

Formations suivies en lien avec l'encadrement

Année	Intitulé	durée
2018	Encadrement de doctorants	2 jours (14h)
2019	Ecole des Doctorants et des Encadrants (EDEN 14)	4 jours
2023	Communication non violente	3h (formation collective du laboratoire RDP)

*"J'aime les gens qui doutent
[...]
J'aime leur petite chanson
Même s'ils passent pour des cons"*

Anne Sylvestre

Préambule : fil directeur de mes recherches

La robustesse du développement : une propriété émergente des systèmes développementaux, à la fois produit et déterminant de l'évolution.

Mes recherches ont pour objet la biologie du développement chez les organismes multicellulaires. Ce domaine s'intéresse à la production "formes", c'est à dire l'apparence extérieure et la configuration des organismes (Vernoux et al., 2021). De la cellule œuf à l'organisme adulte, de l'échelle moléculaire à l'échelle de l'organisme entier, émergent des "formes", c'est à dire des motifs, des géométries, des polarités, des structures, des couleurs, des textures... Au fil des divisions cellulaires, bien que la mitose assure la réplication à l'identique de l'information génétique de la cellule œuf dans toutes les cellules de l'organisme, le développement organise une différenciation coordonnée de ces clones mitotiques. Le contrôle précis du comportement des cellules, qui implique une expression différentielle du même génome de manière spécifique dans le temps et l'espace, est donc à l'origine du modelage du vivant. Ce constat constitue la problématique de recherche majeure de la biologie du développement. Comprendre ces phénomènes peut par exemple nous éclairer sur l'origine des similarités ou des différences qui existent entre les différentes formes multicellulaires du vivant, même celles qui ont émergé de manière indépendante au cours de l'évolution. Ces recherches peuvent également nous aider à interpréter ce qui se passe lorsque ce ballet synchronisé des différenciations cellulaires se dérègle, produisant par exemple des malformations ou des tumeurs cancéreuses.

Les formes produites par le développement ont des propriétés particulières, dont les fondements encore mal compris justifient leur étude. Deux propriétés attirent en particulier mon attention : l'**auto-organisation** et la **robustesse** (figure 1).

Mon premier intérêt consiste à déchiffrer les **mécanismes à l'origine des capacités d'auto-organisation** des systèmes développementaux (Atlan, 2011). Utilisant la théorie des systèmes complexes (Edelman et al., 2010), j'adopte l'hypothèse de travail selon laquelle la forme émerge des interactions, souvent non linéaires, entre de nombreux composants à différentes échelles. Un de mes objectifs est ainsi d'établir quelle coordination de comportements cellulaires permet l'émergence d'une forme, quels composants (molécules, matrices extra-cellulaires, organites, cellules, forces physiques...) sont impliqués et enfin, de quelles façons les interactions entre ces composants conduisent aux comportements observés des cellules dans le temps et l'espace pour aboutir à la forme finale. Intégrer la complexité des interactions en jeu requiert souvent des outils de modélisation informatique (Mirabet et al., 2012a; Vernoux et al., 2021). Cette perspective mécanistique nous renseigne d'abord sur la genèse des formes du vivants. Mais, pour peu que l'on puisse en tirer des méthodes d'analyse ou en abstraire des principes généraux, elle peut aussi éclairer d'autres systèmes complexes multi-échelles en auto-organisation, comme un écosystème ou des sociétés humaines (Artime and De Domenico, 2022).

Mon second intérêt est la **robustesse**, qui offre cette fois une perspective évolutive au développement (Félix and Wagner, 2006; Masel and Siegal, 2009). La robustesse se définit comme la capacité d'un système à rester invariant sous l'effet de la variation d'un facteur. C'est une propriété quantitative, qui mesure ici la variation de la forme en fonction de la variation du facteur considéré. Toutefois, la robustesse s'applique également aux phénotypes dit "plastiques", c'est à dire capable de changer en réponse à l'environnement :

une réponse plastique peut être robuste, si la variation observée est reproductible (Abley et al., 2016). Les sources de variations sont généralement regroupées en trois grand type: génétiques, environnementales et stochastiques.

Tout d'abord, en lien avec mon premier intérêt, la **robustesse développementale est elle-même une propriété émergente du système complexe**, dont les mécanismes commencent seulement à être compris (Félix and Barkoulas, 2015; Mestek Boukhibar and Barkoulas, 2016). Un des mes questions est de **comprendre les mécanismes qui contrôlent la propagation des variations** dans un système développemental. Elles peuvent être atténuées, canalisant la forme vers une référence invariante (Debat and David, 2001; Waddington, 1942). Au contraire, elles peuvent être amplifiées, provoquant des nouveaux phénomènes émergents, comme des brisures de symétrie par exemple ou la définition de lignage cellulaire particulier au sein d'un tissu à l'origine homogène (Kong et al., 2024).

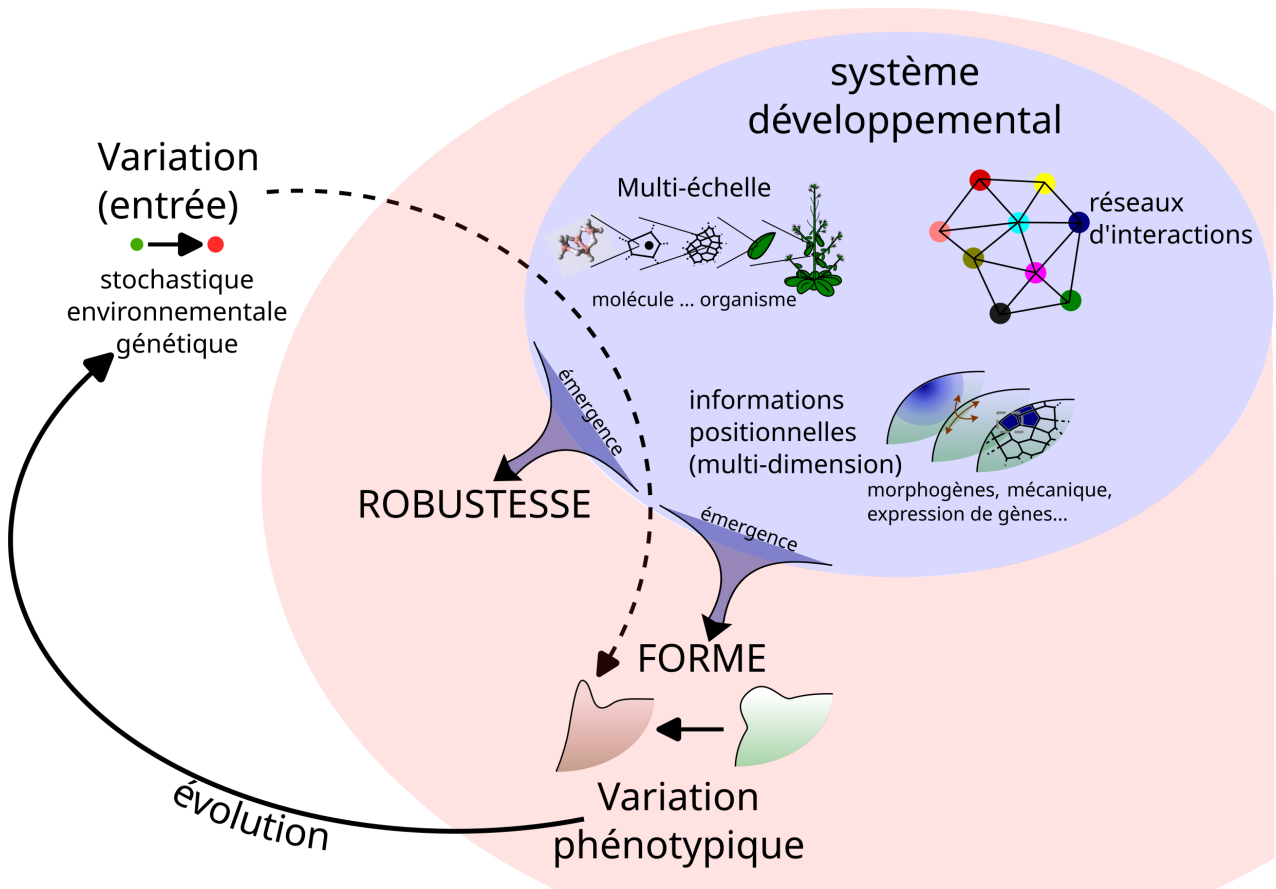


Figure 1: origine, mécanismes et rôles de la robustesse développementale dans la variation phénotypique (représentation conceptuelle de ma thématique de recherche). Du développement des organismes (zone bleue) émergent (zone rouge, "propriétés émergentes") des "formes". Ici, j'ai choisi de représenter une forme inspirée des organes émergeant des méristèmes caulinaires de plantes. L'émergence s'opère via des mécanismes envisagés suivant le prisme de la biologie des systèmes (le système développemental est caractérisé par des interactions entre de multiples éléments de diverses nature, à travers de multiples échelles, selon des processus fortement non-linéaires). La robustesse est également une propriété émergente du développement. Elle se définit par ses effets sur la propagation de variations entrantes dans le système développemental, produisant ou non des variations phénotypiques quantitatives en sortie. Ces variations phénotypiques permettent des rétroactions entre robustesse et évolution.

Ensuite, les **conséquences évolutive de la robustesse** sont importantes. Sans robustesse développementale, le vivant pourrait difficilement exister : au delà de la nécessité de résister aux fluctuations environnementales pour achever la phase de développement, la reproductibilité des formes des organismes adultes est cruciale pour l'adaptation des espèces à leur milieu ou leur reproduction. Mais si le développement était trop robuste, les capacités d'évolution d'un organisme, son évolutivité, serait très réduite, questionnant même la capacité du vivant à traverser le temps. Le niveau de robustesse développementale traduit ainsi l'affrontement de forces évolutives contradictoires, qui, suivant le contexte, apporte des avantages sélectifs à produire des formes variantes ou invariantes.

De plus, à travers l'évolution, la robustesse n'agit pas que sur les phénotypes, c'est à dire dans mon contexte de recherche, les formes du développement. La robustesse agit aussi en retour sur une des sources de variations : la variation génétique et sa transmission héréditaire. En effet, un développement non robuste, par sa forme changée, expose à la sélection, positive ou négative, la mutation à l'origine du changement. En revanche, un développement robuste dissimule les mutations car la sélection directionnelle ne peut agir : ces mutations peuvent alors s'accumuler. A long terme, ces mutations cryptiques participent à la diversité génétique des populations et peuvent en théorie constituer une source de nouvelles adaptations (Masel and Trotter, 2010) ou expliquer en partie la dérive des systèmes développementaux (McColgan and DiFrisco, 2024; True and Haag, 2001).

Ainsi la **robustesse** est une **propriété complexe**, par les **mécanismes non triviaux** qu'elle implique dans les systèmes biologiques, et par ses **relations avec l'évolution** dont elle est à la fois le **produit et un déterminant**. Chaînon incontournable entre la variation génétique et la variation phénotypique, la **robustesse développementale est une propriété centrale pour comprendre comment les organismes se construisent et se diversifient au cours de l'évolution**.

Au cours de ma carrière, j'ai suivi ce fil directeur de l'étude de la robustesse développementale.

J'ai commencé en thèse par étudier les mécanismes de robustesse de la phyllotaxie, l'arrangement spatial des organes (feuilles ou fleurs) autour des tiges, chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. Les étonnantes régularités géométriques de la phyllotaxie questionnent les mécanismes à l'origine de tels motifs, qui apparaissent dès la formation des organes à partir des cellules souches. J'ai identifié un régulateur de la robustesse de ces motifs et plus largement, mon travail a participé à mieux comprendre les propriétés de robustesse de la phyllotaxie en lien avec les acteurs génétiques et moléculaires aujourd'hui connu.

Puis, en post-doctorat, je me suis intéressé au lien de la robustesse avec l'évolution. J'ai choisi de travailler avec des espèces de nématodes, dont l'espèce modèle *Caenorhabditis elegans*. Ces organismes sont notamment connus pour la robustesse de leur lignage cellulaire au cours du développement, comme l'illustre la formation de la vulve à partir de six cellules précurseurs (vulva precursor cell ou VPC). J'ai d'abord démontré l'existence d'un biais développemental expliquant la plus grande variance mutationnelle d'une de ces VPC par rapport aux autres VPC. Ce résultat explique de façon la plus plausible pourquoi le destin de cette cellule évolue plus vite dans les populations de nématodes. Par ailleurs, en développant des outils génomiques pour *Oscheius tipulae*, une espèce dite "satellite" par rapport à la référence *C. elegans*, j'ai pu caractériser l'identité moléculaire de gènes affectés chez des mutants de développement de la vulve. Malgré des phénotypes pratiquement inchangés depuis 160 millions d'années entre ces deux espèces, nos résultats permettent de lever le voile sur une évolution beaucoup plus complexe des mécanismes développementaux sous-jacents, impliquant des conservations mais également tout un spectre de variations quantitatives et qualitatives.

Enfin, depuis mon recrutement comme chargé de recherche à l'INRAE, j'ai repris le méristème apical caulinaire chez *Arabidopsis thaliana* comme modèle. J'étudie la phyllotaxie comme un exemple de d'émergence d'un motif spatio-temporel régulier d'organogenèse. Par des approches génétiques, je cherche des régulateurs de sa robustesse et j'étudie de manière quantitative les perturbations induites

pour les intégrer aux modèles actuels de phyllotaxie. Notamment, pour que la phyllotaxie puisse devenir un vrai trait quantitatif dont on peut étudier la robustesse, je développe des outils de phénotypage 3D innovants, en promouvant un design alternatif open-source, bon marché et modulable. J'ai élargi mes questions de recherche pour intégrer d'autres processus de différenciations cellulaires, notamment la coordination entre la formation des méristèmes latéraux (les fleurs), et les feuilles, deux programmes développementaux qui sont étroitement co-régulés sans que les mécanismes soient bien compris. Enfin, pour intégrer une dimension évolutive, j'utilise aussi la variation naturelle. La nature ayant "travaillé pour nous", la diversité génétique existante offre une ressource inépuisable pour explorer les relations entre variations génétiques et phénotypiques. De plus, comme ces variations ont passé le filtre de la sélection naturelle, elles fournissent des exemples pour étudier concrètement comment la robustesse développementale participe à l'évolution des mécanismes de développement et des phénotypes.

Travaux de recherches passés

1. Travaux de thèse

Après un stage de master 2 sur le même sujet (6 mois), j'ai effectué ma thèse au laboratoire Reproduction et développement des Plantes de septembre 2008 à avril 2012 (3 ans 8 mois).

« Étude du rôle de AHP6 dans le contrôle de la phyllotaxie chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* : Robustesse et coordination spatio-temporelle au cours du développement de structures auto-organisées » ([thèse](#) soutenue le 21/10/2011)

résumé

La phyllotaxie est un des exemples les plus étudiés de motifs produit par le vivant, notamment en raison des intrigantes propriétés géométriques présentes dans ces structures, comme l'angle d'or où les nombres de la suite de Fibonacci. La régularité quasi-cristalline des motifs, qui sont souvent caractéristiques des espèces, a été souvent utilisée comme exemple de robustesse développementale. La plupart des recherches ont tenté d'expliquer les mécanismes permettant de générer un motif idéal, invariant. Lors de mes recherches de thèse, j'ai au contraire **déplacé l'attention sur l'étude des variations du motif**. J'ai montré que chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*, la **phyllotaxie n'est pas invariante** : sa robustesse est quantitative. J'ai **identifié une source majeure de variation** du motif, qui produit des perturbations stéréotypées et qui s'explique par des permutations dans l'ordre de formation des fleurs. J'ai identifié un régulateur génétique du niveau de perturbation, **AHP6**, dont j'ai caractérisé le mécanisme moléculaire et développemental, basé sur des **champs inhibiteurs de la signalisation cytokinine**, une hormone végétale très importante dans le fonctionnement du méristème. J'ai par ailleurs montré que les **cytokinines potentialise la réponse auxine** et son effet sur la formation des organes, suggérant que la modulation des interactions auxine-cytokinine au niveau de la zone de formation des fleurs est un paramètre clé de la robustesse de la phyllotaxie. Nous avons utilisé ces données pour interroger le modèle de phyllotaxie par champs inhibiteur, le plus largement accepté, et questionner plus spécifiquement ses propriétés de robustesse. Notre travail indique qu'un **modèle de phyllotaxie par champs inhibiteur est en effet sensible à certaines sources de bruit** dont certaines produisent aisément des variations dans l'ordre d'apparition des fleurs. Dans leur ensemble, ces travaux ont enrichi notre compréhension des mécanismes qui participent à la genèse des motifs de phyllotaxie, en intégrant des facteurs jusqu'alors négligés, comme les cytokinines. De plus, nous avons montré l'importance et la plus-value d'étudier la robustesse de la phyllotaxie en développant des approches plus quantitatives que qualitatives.

contexte

Les méristèmes primaires situés au bout des tiges ou des racines permettent un développement continu des plantes vasculaires. Parce que leur activité contrôle l'architecture, la biomasse ou la floraison d'une plante, la compréhension de leur fonctionnement est un enjeu majeur tant en biologie fondamentale qu'en agronomie (Lynch and Brown, 2012; Teo et al., 2014). Le méristème apical caulinaire (MAC), qui met en place les parties aériennes de la plante, possède la particularité de produire des nouveaux organes latéraux, feuilles, fleurs ou branches, selon une géométrie précise propre à l'espèce : la phyllotaxie (Ha et al., 2010). La précision quasi-mathématique de ces motifs végétaux en ont fait un modèle de choix pour étudier l'émergence de motifs réguliers dans le vivant, intéressant aussi bien des biologistes que des physiciens ou des mathématiciens (Kuhlemeier, 2017) (figure 2A,B).

Les mécanismes connus de formation de la phyllotaxie au début de ma thèse

Le modèle formel le plus satisfaisant et couramment accepté pour expliquer la phyllotaxie est celui des champs inhibiteurs (Traas, 2013). Chaque organe existant inhibe la formation d'un nouvel organe dans son voisinage proche (HOFMEISTER, 1868). À mesure que les organes croissent et que le méristème fonctionne, les organes s'éloignent de la zone organogénétique : un nouvel organe peut s'initier à l'endroit précis où la somme des effets inhibiteurs est suffisamment basse. La position relative des nouveaux organes et le moment de leur formation émergent spontanément de la dynamique des champs inhibiteurs et de la croissance du méristème (Douady and Couder, 1996a). Ce principe simple est capable de générer l'ensemble des phyllotaxies observées dans la nature (Douady and Couder, 1996a) et rend aussi compte de transitions entre types de phyllotaxie (Douady and Couder, 1996b; Smith et al., 2006) comme de certains types de perturbations ou de motifs rares (Couder, 1998). Quelle pourrait être alors la nature biologique de ces champs inhibiteurs ? Depuis le début des années 2000, une suite de travaux importants a démontré le rôle majeur joué par le transport de l'hormone végétale auxine. Grâce à un réseau de protéines transmembranaires (Bainbridge et al., 2008; Wabnik et al., 2010) dont certaines comme PIN-FORMED1 (PIN1) sont polarisées, des flux dynamiques d'auxines s'auto-organisent dans l'épiderme du méristème (de Reuille et al., 2006a; Reinhardt et al., 2003a). L'accumulation locale d'auxine déclenche la formation d'un organe (Marcus G. Heisler et al., 2005; Reinhardt et al., 2003a; Vernoux et al., 2011), tandis que les organes en croissance empêchent l'émergence d'organe à proximité en puisant l'auxine de leur voisinage (figure 2C-G). Encore aujourd'hui, ce modèle par déplétion de l'activateur, élégant par sa parcimonie et d'une forte puissance prédictive par son ancrage à la théorie des champs inhibiteur, est parfois considéré comme suffisant pour expliquer le mécanisme de formation des motifs phyllotactiques (Bainbridge et al., 2008; Jönsson et al., 2006; Smith et al., 2006; Stoma et al., 2008; Wabnik et al., 2010).

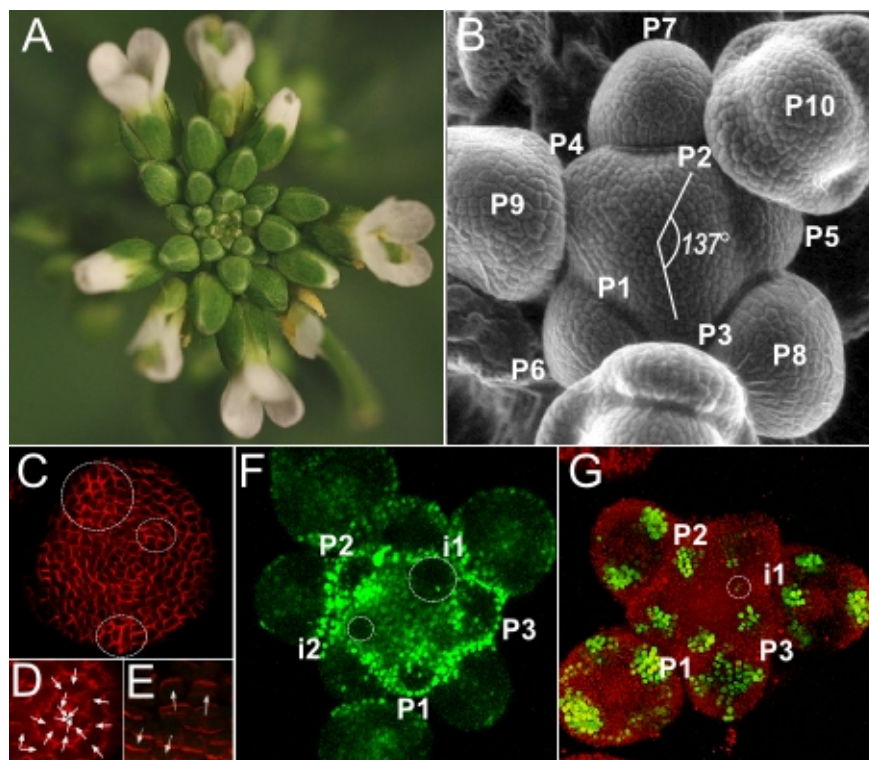


Figure 2 : La phyllotaxie chez *Arabidopsis thaliana* et son contrôle par la signalisation auxine. A, Extrémité de l'inflorescence d'*A. thaliana*. B, Microscopie électronique à balayage du méristème apical caulinair. Chaque nouvelle fleur (primordium, noté P, numéroté du plus jeune au plus vieux) apparaît à un angle de divergence de 137° par rapport au primordium précédent. C-E, Immuno-localisation du transporteur d'efflux d'auxine PIN1 dans

l'épiderme du méristème. **C**, La protéine est sur-exprimée au niveau des organes en formation (cercles en pointillé). Par son orientation polaire PIN1 concentrerait les flux d'auxine vers le centre des organes (**D**) tout en l'évacuant des frontières (**E**). **F**, Le biosenseur de perception cellulaire d'auxine DII-VENUS (dégradé en présence d'auxine) indique la forte concentration d'auxine au niveau des organes en formation. **i** désigne un initium, un site d'organogenèse sans déformation morphologique visible, numéroté du plus vieux **i1** au plus jeune **i2**. Les primordia **P** sont eux numérotés du plus jeune au plus vieux comme en **B**. **G**, Le senseur de signalisation auxine DR5-VENUS révèle que l'auxine déclenche une activité transcriptionnelle dans les organes en formation. Images personnelles hormis (C-E) reproduites de de Reuille et al., 2006b.

Les objectifs de ma thèse : identifier des nouveaux régulateurs de l'organogenèse et de la phyllotaxie

Le modèle du contrôle de la phyllotaxie par les flux d'auxine soulevait plusieurs questions. Au delà des recherches sur la régulation du flux par les transporteurs trans-membranaires d'auxine, l'intégration de ce mécanisme au fonctionnement du méristème est un défi majeur pour une approche de biologie des systèmes. Quels réseaux de gènes sont activés par l'auxine lors de l'organogenèse ? Comment les flux d'auxine interagissent plus largement avec la structuration du méristème en territoires d'expressions génétique et de comportements cellulaires variés (Ha et al., 2010) ? Quelles sont les interactions avec les autres hormones présentes dans le MAC, notamment les cytokinines et les gibbérélines (Besnard et al., 2011a; Gaillochet et al., 2015a) ? Quel est l'impact des forces physiques (Landrein and Hamant, 2013) ? En particulier, comment concevoir que l'auxine puisse à la fois produire des phyllotaxies robustes et par ailleurs être impliquée dans d'autres réponses biologiques très plastiques et dynamiques en lien avec les variations environnementales (les tropismes par exemple) ? Ces questions, déjà d'actualité en 2008 au début de ma thèse, le sont toujours aujourd'hui. Dans ce cadre, **j'ai cherché au cours de ma thèse d'autres régulateurs de la phyllotaxie et de l'organogenèse dans le MAC, avec un intérêt particulier pour les autres hormones végétales.**

principaux résultats

Pour trouver des régulateurs de la phyllotaxie non liés directement à l'auxine, j'ai mené une approche de **génétique inverse** à partir d'un **gène candidat** : ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHOTRANSFERASE 6 (**AHP6**). Ce gène code pour un inhibiteur intracellulaire de la voie de signalisation des **cytokinines** et sa fonction n'avait été étudiée que dans la racine, où il participe au développement du système vasculaire (Mähönen et al., 2006). Des données préliminaires de Teva Vernoux, mon directeur de thèse, indiquait une expression de ce gène lors de l'organogenèse précoce dans le MAC. Comme les cytokinines avaient jusqu'alors été plutôt associées à l'homéostasie des cellules souches au centre du méristème (Besnard et al., 2011b; Gaillochet et al., 2015b; Hong and Fletcher, 2023), nous avons décidé d'**explorer si les cytokinines, via l'expression d'AHP6, pouvait également jouer un rôle dans la formation des fleurs et leur phyllotaxie.** J'ai donc entrepris de caractériser le mutant perte de fonction *ahp6*, du méristème à la phyllotaxie des fruits sur la tige (post-méristématique).

1. En collaboration, j'ai développé **une nouvelle méthode pour mesurer et analyser les variations de la phyllotaxie post-méristématique** dans des inflorescences d'*Arabidopsis thaliana* (figure 3). Les mesures, effectuées selon des protocoles existants, quantifient un à un les angles de divergence entre fleurs successives le long d'une tige d'inflorescence (figure 3A). La séquence d'angle de divergence de la plus vieille fleur à la plus jeune reconstitue alors une trace temporelle de la phyllotaxie produite par le MAC pour chaque plante. En mesurant la phyllotaxie chez des plantes sauvages ou mutantes *ahp6*, j'ai remarqué la présence de **motifs stéréotypés de perturbations** de la phyllotaxie, qui peuvent s'expliquer par des **permutations dans l'ordre d'insertion des fleurs sur la tige** (figure 3B-D). Ces motifs étaient présent aussi bien chez le mutant que le sauvage, mais à des fréquences différentes. La présence de perturbations plus

complexes et de bruit dans nos données nous a conduit à interagir avec des statisticiens et des mathématiciens. Ils ont développé une procédure d'analyse inspirée de la « pattern theory », qui prend en compte l'incertitude de mesure des angles et allie des modèles stochastiques et combinatoires (Guédon et al., 2013b). Cette méthode a permis d'inférer la présence de permutations dans nos données sans les supposer *a priori*. Il résulte que l'ensemble des perturbations de mes données (plantes sauvages ou mutantes pour *ahp6*) peuvent s'expliquer par des permutations de 2 ou 3 organes consécutifs (figure 3E).

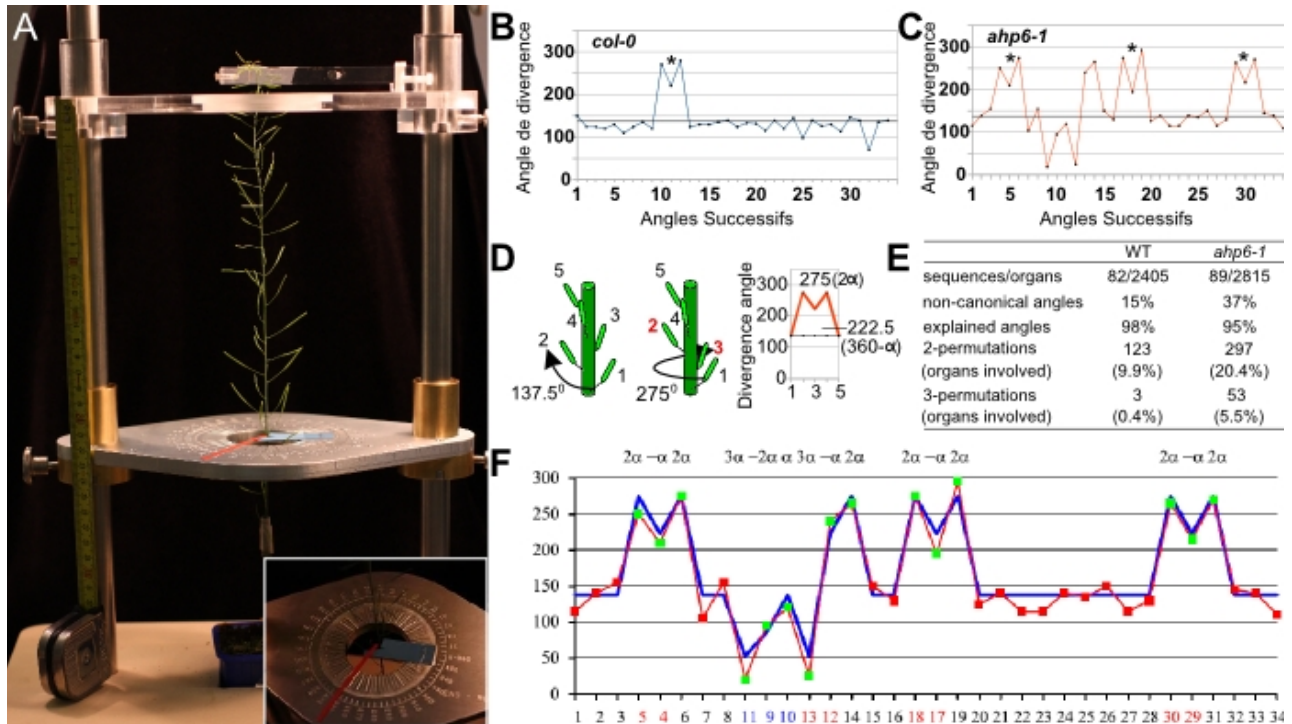


Figure 3: Une nouvelle méthode d'analyse de la phyllotaxie post-méristématique met en évidence des permutations et le contrôle de leur fréquence par le gène *AHP6*. **A**, Appareil de mesure, dans lequel la tige d'inflorescence est placée au centre d'un rapporteur (encart) : les angles de divergence sont mesurés successivement du bas vers le haut. **B-C**, Profils phyllotactiques représentatifs d'une plante sauvage (**B**) et mutante pour le gène *AHP6* (**C**). Les astérisques marquent un motif stéréotypé en forme de M. **D**, Explication du motif en M par une permutation dans l'ordre d'insertion des organes sur la tige. **E**, Analyse par le modèle mixte probabiliste et combinatoire de la présence de permutations dans un jeu de données de phyllotaxies post-méristématiques de deux génotypes (sauvage et mutant pour *AHP6*). **F**, Exemple d'étiquetage par le modèle d'une séquence mutante (la même que C). $\alpha=137.5^\circ$, l'angle canonique des phyllotaxies de Fibonacci. Adapté de Guédon et al., 2013a et Besnard et al., 2014a).

2. J'ai mis en évidence le **caractère très commun** chez *A. thaliana* des **permutations**. Grâce à des suivis temporel de méristèmes vivants en microscopie confocale, j'ai pu tracer que ces permutations ont vraisemblablement leur origine dans le méristème (Besnard et al., 2014b). Nous expliquons ces permutations par l'**initiation simultanée** de deux organes dans le méristème. Mes données démontrent par ailleurs l'instabilité du plastochrone (le délai d'initiation entre deux organes successifs) dans le méristème et soulignent l'importance de la coordination spatio-temporelle dans l'élaboration de la phyllotaxie (figure 4A,B).

3. J'ai démontré l'existence d'un **contrôle génétique de la fréquence de ces permutations** par *AHP6* (Besnard et al., 2014b). Nous avons montré que la protéine *AHP6* agit en établissant **des champs inhibiteurs** de la signalisation cytokinique autour des jeunes organes en croissance, ce qui limite les co-

initiations de nouveaux organes, que nous avons pu observer directement par microscopie (figure 4A,B). Nous avons notamment **démontré la fonctionnalité de ces champs** en bloquant la diffusion de la protéine AHP6 autour des organes par une fusion avec trois molécules VENUS en série, empêchant son passage par les plasmodesmes (figure 4C,E). Bien que toujours capable d'inhiber la signalisation cytokininine dans une cellule, cette version non mobile d'AHP6 ne complémente pas les défauts de phyllotaxie du mutant *ahp6* (figure 4F). **AHP6 est la première protéine connue pour former un champ inhibiteur autour des organes comme le prédit la théorie.** Pourtant, ces champs n'impactent pas la distribution radiale de la phyllotaxie dans le méristème mais impactent la rythmicité avec laquelle les organes sont initiés. En accord avec les prédictions de notre modèle numérique (Mirabet et al., 2012b) (figure 5), nos données expérimentales indiquent que si le positionnement spatial des organes, vraisemblablement déterminé par les champs inhibiteurs d'auxine, est robuste, **le plastochrone reste variable** s'il n'est pas filtré par un deuxième système de champs inhibiteurs de la signalisation cytokininine, généré par AHP6 en aval de l'auxine.

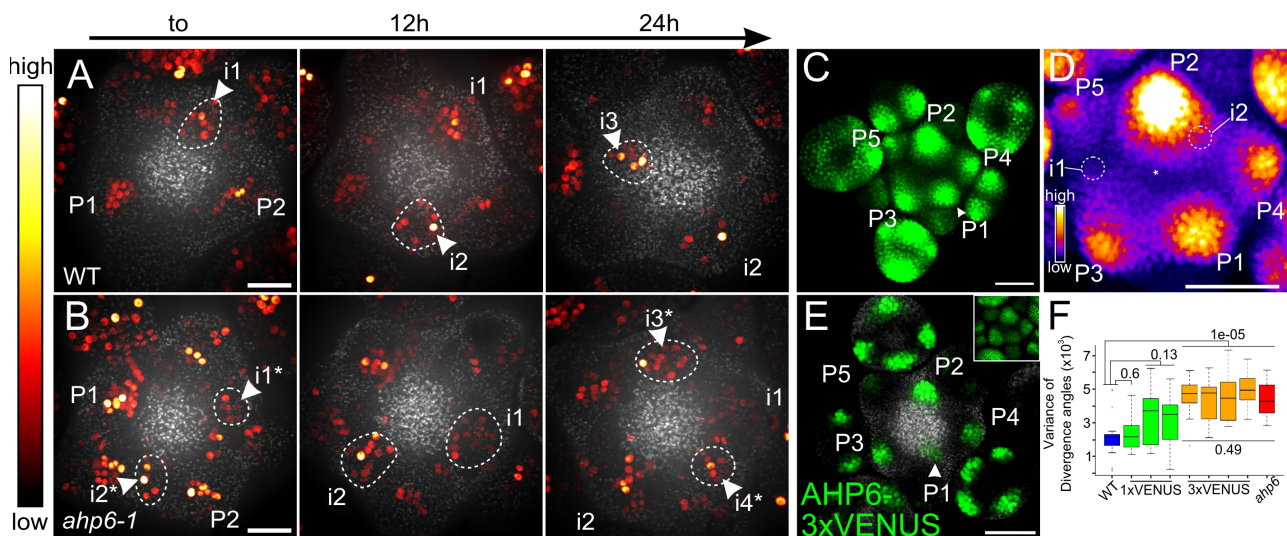


Figure 4 : AHP6 diminue la fréquence des co-initiations d'organes et des permutations en produisant des champs inhibiteurs autour des organes. A-B, Cinétique de formation des organes suivie par le rapporteur DR5-VENUS dans un méristème sauvage (A) et mutant *ahp6* (B). *i3* et *i4* apparaissent en même temps chez le mutant *ahp6* et séquentiellement chez le sauvage. C-D, La protéine AHP6 produit des champs autour des organes où elle est produite. Ces champs créent des différentiels d'expression de AHP6 entre les lieux de formation des plus jeunes organes, *i1* et *i2* (D). E, La fusion de 3 protéines VENUS concaténées à la protéine AHP6 bloque le mouvement de cette dernière et supprime les champs inhibiteurs. F, Dans un fonds mutant perte de fonction *ahp6-1*, une protéine AHP6-1xVENUS (mobile) supprime les défauts post-méristématiques de phyllotaxie (les permutations), contrairement à une protéine non mobile AHP6-3xVENUS. Barres d'échelle : 50 μ m. Adapté de (Besnard et al., 2014a).

4. J'ai exploré les possibles interactions entre auxine et cytokininine lors de l'organogénèse. Nous avons montré que AHP6 est directement activé par l'auxine dans les organes, par le facteur de transcription ARF5 (Besnard et al., 2014b). En plus de leur rôle connu sur le maintien des cellules souches dans le centre du méristème, j'ai fourni des données qui suggèrent que **les cytokinines agissent en synergie avec l'auxine** dans la zone périphérique pour stimuler l'**organogénèse** (Besnard et al., 2014c). Nous avons proposé une boucle de rétro-contrôle où la formation d'un organe déterminé par les flux d'auxine déclenche un champ inhibiteur de la signalisation cytokininine via la diffusion d'AHP6. Ce champ inhibe l'effet synergique que les cytokinines peuvent avoir avec l'auxine, de telle sorte qu'il ralentit l'émergence d'un organe proche, sans affecter sa position (figure 5C).

5. Enfin, j'ai collaboré avec des modélisateurs pour développer un **modèle numérique théorique** pour **tester la robustesse de la phyllotaxie au "bruit"**, c'est à dire à des variations aléatoires de différents paramètres du modèle (Mirabet et al., 2012b). Reprenant le modèle des champs inhibiteurs (figure 5A), nous avons d'abord établi la correspondance entre les paramètres de ce modèle théorique abstrait avec des fonctions biologiques connues impliqués dans la phyllotaxie, comme l'auxine et son transport. Ce test systématique de la robustesse d'un tel mécanisme de champs inhibiteur a révélé différents défauts théoriquement possible de phyllotaxie selon l'origine du bruit et nous les avons comparés avec ceux observés dans la nature. Le modèle indique que des permutations dans l'ordre d'apparition des fleurs peuvent résulter d'un bruit sur le seuil d'activation de la formation d'un organe, ce qui pourrait correspondre aux effets de synergie entre auxine et cytokinine observés expérimentalement. Par ailleurs, en implémentant un deuxième champs inhibiteur mimant celui généré par AHP6, nos données indiquent que ce mécanisme peut bien en théorie filtrer des permutations due à des initiations simultanées (figure 5B).

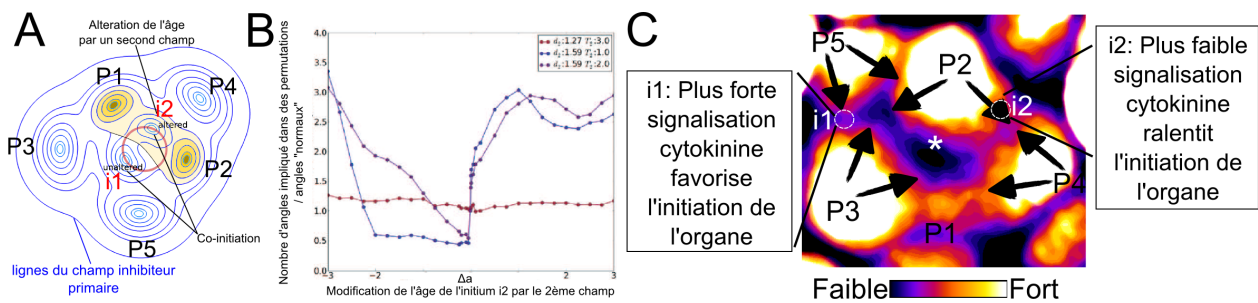


Figure 5 : Modélisation d'un filtre de bruit dans le méristème et modèle proposé pour le fonctionnement des champs AHP6. **A**, représentation d'un modèle numérique de phyllotaxie gouverné par un champs inhibiteur primaire (lignes de champs bleues). Les organes apparaissent sur le disque rouge. L'introduction de bruit dans les paramètres du modèle provoque des co-initiations et des permutations post-méristématiques. Un champ secondaire est introduit (jaune) qui modifie l'âge des jeunes organes à sa portée. **B**, Effet du second champ sur les permutations post-méristématiques en fonction de l'effet que ce champs produit sur l'âge du jeune organe touché ($\Delta a < 0$: organe rajeunit, $\Delta a > 0$: organe vieilli). Exploration des paramètres du second champ : d_2 =taille du champ par rapport au champ primaire, T_2 =décalé d'allumage après apparition d'un organe. Ce modèle prédit qu'un deuxième champ peut corriger l'effet des co-initiations s'il « rajeunit » ou ralentit le développement de l'organe sous son influence. Il doit se mettre en place 1 à 2 plastochrones après l'apparition d'un organe et devrait être plus large que le champ primaire. **C**, Nos données expérimentales correspondent aux prédictions du modèle précédent (excepté pour la taille des champs, celle des champs auxine n'étant pas connue). Adapté de Mirabet et al., 2012a (A-B) et de Besnard et al., 2014a (C).

impacts

Ces travaux ont été notamment valorisés par cinq articles de recherche dont deux où je suis premier auteur, et deux articles de revues dont une où je suis premier auteur. La publication principale (Besnard et al., 2014a) est fréquemment citée depuis sa publication (> 295 citations).

Avant 2008 et le début de ma thèse, j'ai recensé quatre publications contenant des données de mesures quantitatives de la phyllotaxie, dont trois sur *Arabidopsis* (cf. [Annexe 1](#), p.120). Depuis 2011, dix-neuf nouvelles publications sont parues et nos travaux, présentés en congrès dès 2010/2011 (notamment au congrès international ICAR 2011), ont indéniablement participé à diffuser l'intérêt du phénotypage quantitatif post-méristématique chez *A. thaliana*. Au laboratoire notamment, plusieurs équipes ont repris nos protocoles de mesures et d'analyse statistiques pour leur travaux (Fal et al., 2017; Landrein et al., 2015, 2013; Zhao et al., 2019). Des équipes extérieures collaborant avec notre laboratoire se sont également formées à ces méthodes (Burian et al., 2015; Gelová et al., 2021; Zhu et al., 2020).

Nos travaux de modélisation nous ont également conduit à ré-interroger la nature des modèles théoriques de phyllotaxie utilisés. Ces réflexions ont nourri le travail qui a conduit à proposer un modèle de champs inhibiteur stochastique et non plus déterministe de la phyllotaxie (Refahi et al., 2016). En reproduisant des perturbations observées, ce modèle possède un meilleur pouvoir prédictif. Mais surtout, il permet d'utiliser les perturbations comme un moyen de tester les paramètres du modèle, ce qui nous renseigne plus finement sur les mécanismes contrôlant la formation du motif.

perspectives

Dans une perspective plus longue, mes travaux de thèse ont montré l'intérêt de focaliser l'attention sur la robustesse de la phyllotaxie, en développant des outils pour quantifier précisément les phénomènes mis en jeu à différentes échelles, en s'attachant aussi bien aux régularités qu'aux perturbations. Ainsi, de précieux enseignements sur les mécanismes développementaux peuvent être tirés de la quantification des variations de plastochrone, des variations dans le temps ou l'espace des signalisations hormonales dans le méristème ou encore des variations de motifs géométriques générés le long des tiges.

Ces perspectives élaborées suite à ma thèse inspirent aujourd'hui certains de mes axes de recherches (voir p. 43).

travail d'encadrement

J'ai enseigné avec une charge de monitorat pendant ma thèse (64h/an) et j'ai eu l'occasion de faire des expériences très variées (cours magistraux, TP, TD ; au département de biologie de l'ENS de Lyon, en faculté de médecine et à la préparation à l'agrégation de SVTU de l'ENS de Lyon ; des niveaux de la L1 au M1 ; des publics de 10 à 200 étudiants.es). Si je n'ai pas encadré d'étudiants post-bac lors de ma thèse, je me suis investi bénévolement pour initier et mettre en œuvre la déclinaison lyonnaise du [programme science académie](#) qui n'existait pas à Lyon à l'époque. Ce programme avait pour but d'organiser des stages de découverte de la recherche pour des Lycéens sur une semaine, avec une restitution sous forme de congrès. Grâce à une équipe de doctorants.es bénévoles qui m'a suivi, nous avons institué une formation reconnue par les écoles doctorales (validation de crédits pour les doctorant.es encadrant.es) et organisé des stages. J'ai moi-même accueilli des binômes de lycéens 3 années de suite. Nous avons créé une association qui a continué à se structurer et à évoluer. J'ai quitté l'association à la fin de ma thèse, mais celle-ci est restée très dynamique avec de nouveaux bénévoles qui ont su renforcer et pérenniser la structure qui s'appelle désormais "[un peu de bon science](#)".

2. Travaux de post-doctorat

"Relations entre robustesse développementale et évolution phénotypique dans la formation de la vulve chez les nématodes des genres *Caenorhabditis* et *Oscheius*".

J'ai effectué mon contrat post-doctoral d'octobre 2012 à février 2016 (3 ans 1/2), à l'IBENS dans l'équipe "Evolution des *Caenorhabditis*" dirigée par Marie-Anne Félix.

J'ai toutefois poursuivi ce travail après mon recrutement à l'INRAE en 2016, pour attendre des données complémentaires produites dans l'équipe après mon départ, finir les analyses, rédiger et soumettre les articles.

résumé

La **robustesse développementale** est une propriété essentielle pour comprendre l'**évolution** des phénotypes et des mécanismes du développement. Pourtant, les mécanismes de robustesse et leurs conséquences sur l'évolution des processus développementaux restent encore mal compris. Dans ce cadre, j'ai d'abord étudié **pourquoi certaines cellules changent plus facilement de destin** que d'autres pour un même taux de mutation. Autrement dit, pourquoi au sein d'un même organisme, la destinée de certaines cellules a plus de chance d'évoluer sous l'influence naturelle des variations génétiques ? En utilisant une **cellule de *Caenorhabditis elegans* connue pour évoluer rapidement**, j'ai montré que **cette évolution était due à une grande cible mutationnelle** grâce à l'identification précise et à la validation de différentes mutations causales dans des lignées d'accumulation de mutation. Ce résultat montre que l'**évolution rapide d'un trait complexe** comme un destin cellulaire n'est pas forcément le fruit de l'évolution d'un seul gène facilement mutable, mais d'une collection de gènes influant sur un **processus développemental mécaniquement peu robuste**. Si elle influe sur les phénotypes, la robustesse impacte également les mécanismes du développement. En particulier, l'absence d'évolution phénotypique ne signifie pas une absence d'évolution des mécanismes sous-jacents, phénomène connu sous le terme de "**dérive des systèmes développementaux**". Pour étudier cette question, il est nécessaire d'établir des approches comparatives entre plusieurs espèces avec des ressources biologiques et expérimentales comparables. Le **nématode *Oscheius tipulae*** constitue un telle **espèce, dit "satellite"** en référence à *C. elegans*. J'ai d'abord contribué à produire un **assemblage partiel de son génome**. Puis j'ai utilisé cette ressource dans une approche de "**cartographie par séquençage**" pour identifier les mutations causales de **14 lignées mutantes** correspondants à **7 gènes**. En prenant le développement de la vulve comme exemple, nous avons ainsi mis à jour des mécanismes conservés et d'autres ayant évolué quand bien même le phénotype final est resté invariant. En particulier, nos travaux ont mis en évidence l'importance spécifique chez *O. tipulae* de migrations actives des cellules précurseurs de la vulve lors des phases d'induction, par la voie plexin/semaphorin ou par la voie encore méconnue de MIG-13/Lrp12. **Ces résultats illustrent l'importance de biais développementaux**, c'est à dire de variabilité dans la robustesse des systèmes développementaux, qui impactent aussi bien l'évolution des phénotypes que des mécanismes sous-jacents.

contexte

Étudier la robustesse développementale dans une perspective "évo-devo"

Le développement constitue un chaînon central entre les génotypes et les phénotypes. Ainsi, il est attendu qu'il contribue à l'évolution des phénotypes au même titre que d'autres mécanismes comme la mutation, la dérive génétique ou la sélection naturelle. Mais les contributions de ces différents facteurs sont difficiles à démêler (Lynch, 2007). **Une première question est de savoir à quel point et comment le système développemental biaise l'évolution** (Cai et al., 2025). Comme les mécanismes de développement

évoluent eux-même, **une deuxième question est de comprendre la dynamique complexe entre évolutivité des systèmes de développement et l'évolution phénotypique** (Siegal and Leu, 2014). Pour répondre à ces questions, il faut pouvoir étudier les mécanismes à travers les échelles spatiale (du gène au phénotype) et temporelle (à court terme avec l'effet des mutations sur un individu, à moyen terme en considérant les effets de variations génétiques dans les populations et à plus long terme entre espèces). Idéalement, il faut donc disposer (1) de traits phénotypiques dont on peut disséquer les mécanismes de développement idéalement jusqu'à l'échelle moléculaire, (2) de moyens d'étudier ces traits phénotypiques dans différentes populations d'une même espèce et entre espèces différentes pour suivre leur évolution à différentes échelles de temps, (3) d'un organisme qui peut se prêter à l'évolution expérimentale. Chez les organismes multicellulaires, ce type de ressources existe aujourd'hui pour trois grands modèles : les ailes de mouches de la famille des *Drosophilidae* (Houle et al., 2017; Houle and Fierst, 2013) et, **chez les nématodes de la famille des Rhabditinae**, l'étude de différents traits du fuseau mitotique dans l'embryon (Farhadifar et al., 2016, 2015) ou encore de **la formation de la vulve** (Picao-Osorio et al., 2025).

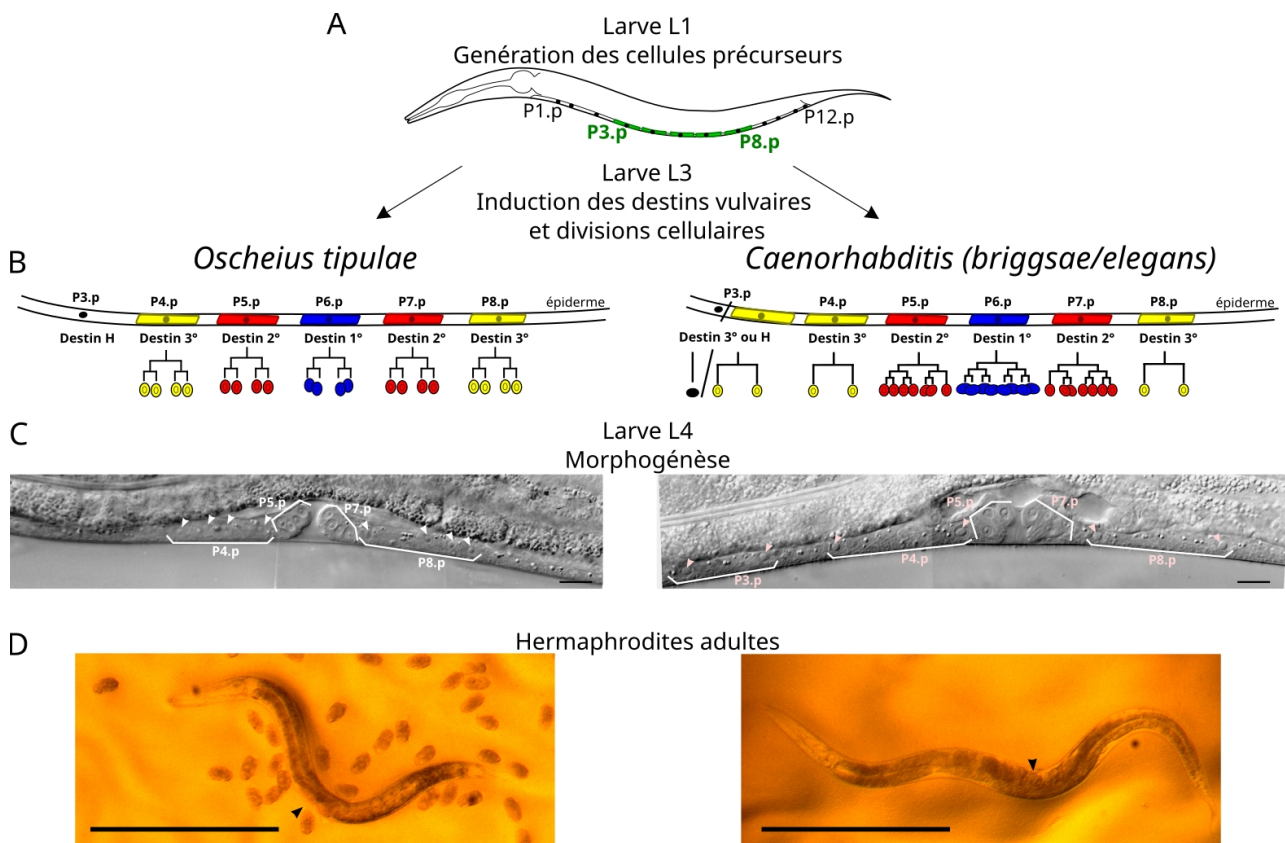


Figure 6 : Développement de la vulve chez les nématodes *Oscheius tipulae* et *Caenorhabditis elegans* (ou *C. briggsae*). **A**, les six cellules précurseurs (VPC, P3.p à P8.p) de la vulve se forment au stade larvaire L1, le long de l'épiderme ventral. **B**, Si on ne tient pas compte des variations de lignages, on constate la conservation d'un schéma de destins adoptés par les VPC : la descendance de P6.p occupe le centre de la vulve (destin 1° en bleu), celle des cellules P5.p et P7.p génère chacune un côté de la vulve (destin 2° en rouge). Les autres cellules soit fusionnent directement avec l'épiderme (destin H), soit se divisent avant de fusionner (destin 3° en jaune). **C**, Imagerie en Nomarski de la vulve au stade larvaire L4 (stade invagination) chez *O. tipulae* et *C. elegans*. Les descendants des différentes cellules Pn.p sont indiquées par des têtes de flèches. Barre d'échelle=10 µm. **D**, Hermaphrodites adultes de *O. tipulae* et *C. elegans*. La position de la vulve est indiquée par une tête de flèche. Barre d'échelle=500 µm.

Que nous apprend la vulve des nématodes sur les liens entre robustesse du développement et évolution phénotypique ?

La vulve des nématodes permet de comparer le développement d'un organe à l'échelle cellulaire entre des dizaines d'espèces ou en évolution expérimentale

Pour comparer des robustesses et des vitesses évolutives entre phénotypes, il faut d'abord que ces traits soient de complexité comparables au sein d'un même organisme, et il faut pouvoir les suivre entre espèces. La vulve des nématodes, l'organe copulateur et de ponte, permet cela. Elle résulte du développement de **six cellules précurseurs** (Vulva Precursor Cells, ou **VPC**) (Sternberg, 2009) dont les homologues sont conservées dans toute cette famille (Sommer, 2001) (figure 6A,B). Au cours du développement, **le destin de ces cellules** peut être **facilement suivi par microscopie** Nomarski (pouvant donc s'observer **chez n'importe quelle espèce**, même non modèle, figure 6C). Ainsi, les **variations de destin de ces cellules** peuvent donc être facilement observées, **quantifiées et comparées**. Grâce au développement du **modèle C. elegans**, les mécanismes moléculaires et cellulaires ainsi que les voies de signalisations sont aujourd'hui connus dans cette espèce avec une très grande précision (Sternberg, 2009). Chez d'autres **espèces non-modèles**, il est possible de tester si certains mécanismes sont conservés, grâce notamment à des ablations lasers (Félix, 2007; Sommer, 2001). Enfin, il a été possible de **développer d'autres espèces modèles** dites "**satellites**" pour des approches comparatives fonctionnelles (Sommer, 2005), qui se positionnent à différentes distance évolutive, comme *Caenorhabditis briggsae* (Gupta et al., 2007), *Oscheius tipulae* (Félix, 2006), ou *Pristionchus pacificus* (Sommer, 2006) (de la plus proche à la plus éloignée). En effet, ces espèces présentent les mêmes avantages que *C. elegans* : des formes libres bactériophages facilement cultivables et congelables, un mode de reproduction andro-dioïque permettant l'auto-fécondation ou des croisements contrôlés, un cycle de vie extrêmement court de quelques jours, et des petits génomes (inférieur à 200 millions de paires de bases).

Notamment, ces espèces se prêtent à un type d'évolution expérimentale : la **génération de lignées d'accumulation de mutation (lignées AM, figure 8A)**. A partir d'une lignée ancestrale, des centaines de lignées sont propagées en parallèle sur des centaines de générations en ne prenant qu'un seul descendant au hasard (Baer et al., 2005; Vassilieva and Lynch, 1999). Ce goulot d'étranglement génétique favorise la fixation et l'accumulation de mutations aléatoires au cours des générations, quels que soient leurs effets du fait de cette sélection minimale (seules la létalité et la stérilité sont contre-sélectionnées). En quantifiant la variation de différents phénotypes entre les lignées AM issues d'une même lignée ancestrale, il est possible de mesurer la **variance mutationnelle (V_M)** de ces phénotypes, c'est à dire la variation des phénotypes produite par des mutations aléatoires (Braendle et al., 2010; Keightley and Eyre-Walker, 1999). En d'autre terme, la **variance mutationnelle** est **inversement** proportionnelle à la **robustesse d'un trait à la variation génétique**. Si différents traits d'un organisme ont des variances mutationnelles différentes, cela indique des **biais développementaux**, c'est à dire que pour une même charge de mutation, certains traits varieront plus que d'autres du seul fait du développement, impactant nécessairement les directions évolutives possibles.

Mécanismes de développement de la Vulve

Les **six VPC** sont des cellules de l'épiderme ventral, alignées le long de l'axe antéro-postérieur. Elles sont chacune désignées précisément par un identifiant allant de **P3.p** (la plus antérieure) à **P8.p**, la plus postérieure. Elles se différencient pour adopter **quatre destins** terminaux possibles, notés destin **1°** à **4°** (figure 6B). Chaque destin forme un lignage, caractérisé par un nombre de division, des comportements et des morphogénèses cellulaires propres, qui sont important pour la formation finale de la vulve. On peut simplement deviner *a posteriori* quel destin a été adopté par une VPC en observant au dernier stade larvaire le lignage qu'elle a produit. Cette propriété permet d'étudier les mécanismes de différenciation cellulaires dans un grand nombre d'espèce par simple microscopie Nomarski (figure 6C). L'adoption des destins 1° à 4° forme un **patron développemental très conservé** au cours de l'évolution, en particulier l'adoption du destin 1° par P6.p et du destin 2° par ses deux voisines, P5.p et P7.p (Kiontke et al., 2007).

Toutefois, **chacune des VPC a la compétence d'adopter les 4 destins** : ce sont des signalisations et régulations intercellulaires qui génèrent ce patron, impliquant notamment des voies de signalisation majeures du développement des *Animalia* comme EGF, Notch ou Wnt (Sternberg, 2009).

Les études de ce système dans différentes espèces ont montré **deux résultats importants**. (1) Bien qu'elles appartiennent à un groupe d'équivalence avec des mécanismes développementaux communs, chaque VPC n'évolue pas à la même vitesse, ces vitesses peuvent varier entre taxons (Kiontke et al., 2007) et **P3.p est la cellule qui évolue le plus vite au sein du genre *Caenorhabditis*** (Braendle et al., 2010; Delattre and Félix, 2001; Pénigault and Félix, 2011). (2) Malgré la constance du patron final de destins formé par les VPC, les **mécanismes sous-jacents ont beaucoup évolué**, notamment **dans le genre *Oscheius*** (Dichtel et al., 2001; Dichtel-Danjoy and Félix, 2004; Félix, 2007; Louvet-Vallée et al., 2003; Sommer, 2005). Mes deux projets de post-doctorat se sont ancrés sur ces résultats.

projets de recherche et questions spécifiques

(1) Projet n°1 : origine de l'évolution rapide de P3.p dans le genre *Caenorhabditis*

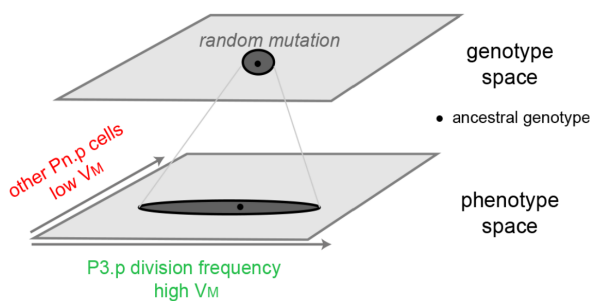


Figure 7 : Forte variance mutationnelle de P3.p. Carte génotype-phénotype schématisique pour les cellules Pn.p. Les points noirs indiquent le génotype et le phénotype ancestral dans chaque espace et les formes grises schématisent la distribution après accumulation de mutation : la mutation génétique est aléatoire, mais pas la variation phénotypique qui est plus grande pour P3.p que pour les autres cellules. Ce biais est-il développemental ou lié à un (quelques) hotspot mutationnel ?

Au sein des espèces de *Caenorhabditis*, P3.p montre souvent deux destins possibles : soit le **destin 3°**, qui consiste en une division et la fusion des deux cellules filles avec le syncytium épidermique hyp7, soit le **destin 4°**, qui voit la fusion directe de P3.p avec hyp7 sans division (figure 6B). Ce choix binaire entre les destins 3° et 4° est stochastique pour chaque animal et est influencé par l'environnement (Braendle and Félix, 2008). Mais le ratio entre les destins 3° (division) et 4° (pas de division), aussi mesuré par la **fréquence de division dans le lignage P3.p**, est caractéristique d'une lignée isogénique dans un environnement fixé et est héritable. **Cette fréquence de division évolue beaucoup** au sein de populations d'une même espèce (*C. elegans* ou *C. briggsae*) et entre espèces différentes, alors que les autres VPC ont un destin très peu variable. **En utilisant des lignées AM**, il a pu être montré que **P3.p évolue aussi le plus vite** en réponse à des mutations aléatoires (figure 7), de façon aussi

variable que dans les populations naturelles (Braendle et al., 2010). Ceci suggère que P3.p dans la nature comme dans les MAL est peu soumis à la sélection et que sa **vitesse d'évolution est surtout entraînée par sa forte variance mutationnelle**.

Deux hypothèses peuvent alors expliquer cette propriété. Soit un même gène (ou quelques uns) ont un fort taux de mutation ("**hotspot**" mutationnel affectant un ou quelques loci), soit une large cible mutationnelle (c'est à dire de nombreux gènes) peut affecter la fréquence de division de P3.p (**faible robustesse des mécanismes du développement**).

Mon objectif était de découvrir l'hypothèse correcte.

(2) Projet n°2 : identification moléculaire et fonctionnelle des divergences de mécanismes de développement de la vulve entre *C. elegans* et *O. tipulae*.

Lorsque le développement de la vulve d'*O. tipulae* est perturbée, soit par des ablations lasers, soit par mutagenèse, les phénotypes générés sont différents de ceux obtenus par les mêmes manipulations chez *C. elegans* (Delattre and Félix, 2001; Dichtel et al., 2001; Dichtel-Danjoy and Félix, 2004; Louvet-Vallée

et al., 2003) (voir aussi un exemple plus bas figure 9A). Ces **différences dans l'espace des phénotypes accessibles** révèlent que les mécanismes du développement ont évolué, bien que le patron central de destin 2°1°2° pour P5.p, P6.p. et P7.p soit resté identique (Félix, 2012), (figure 6A,B). Pour mieux comprendre ce phénomène de "dérive développementale" (True and Haag, 2001), il est indispensable d'identifier les mécanismes en jeu. Entre 2000 et 2004, le laboratoire de Marie-Anne Félix a ainsi isolé et caractérisé **34 mutations affectant le développement de la vulve chez *O. tipulae***, dont **une seule avait été identifié et validée** lorsque j'ai démarré mon post-doctorat. Il s'agissait du gène Hox *lin-39*, très conservé entre *C. elegans* et *O. tipulae*, et qui permet de spécifier les VPC (Louvét-Vallée et al., 2003) : en son absence, les VPC n'ont pas la compétence de percevoir aucun des signaux inducteurs, ce qui résulte en une absence totale de vulve (phénotype caractéristique *vulvaless*). Sans candidat évident, il était en revanche quasiment impossible d'identifier les gènes affectés chez les autres mutants, en particulier lorsque les phénotypes mutants n'existent pas chez *C. elegans*.

Mon objectif était de **mettre en place les ressources génomiques et les outils bio-informatiques pour identifier les mutants vulvaires d'*O. tipulae***, afin de mieux appréhender la conservation et la divergence des mécanismes de développement entre ces deux espèces.

principaux résultats

(1) Projet n°1 (Origine de l'évolution rapide de P3.p chez les *Caenorhabditis*)

Ces travaux ont été publiés dans (Besnard et al., 2020).

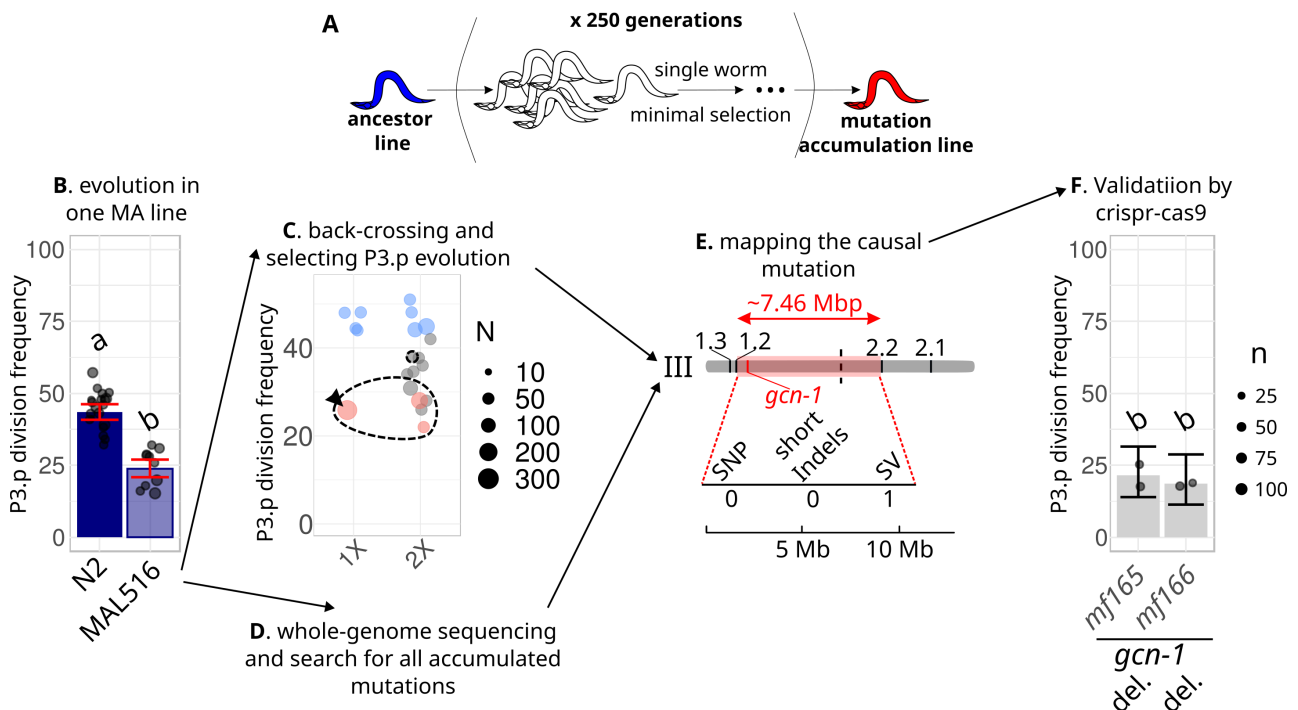


Figure 8 : Principe d'identification des gènes responsables de l'évolution de P3.p dans des lignées AM. **A**, Génération de lignées d'accumulation de mutation (lignées AM) : à partir d'une lignée ancestrale, chaque nouvelle génération est propagée par un seul animal pris au hasard pendant de nombreux cycles (250 générations dans notre étude). Ce processus avec une sélection minimum accroît la probabilité de fixer des mutations spontanées par dérive génétique. **(B-F)** Exemple de la stratégie appliquée pour une lignée AM. **B**, Sélection d'une lignée AM (MAL516) montrant un évolution du taux de division de P3.p (destin 3° versus destin 4°) par rapport à la lignée ancestrale (N2). **C**, Rétro-croisements successifs et suivi de la transmission du taux de division de P3.p (bleu: ancestral, rouge: évolué). **D**, Les mutations accumulées sont identifiées par re-séquençage du génome entier et utilisées comme marqueurs génétiques pour assister les rétro-croisements. **E**, Cartographie du locus ségrégeant avec le taux de division évolué de P3.p (intervalle en rouge). Les traits noirs (1.2, 1.3, ...) indiquent les mutations spontanées utilisées comme marqueurs

généétiques. L'intervalle ne contient qu'une seule mutation, une délétion de 1382 bp (notée SV pour 'structural variation' affectant le gène *GCN-1*). F, La reproduction à l'identique de cette délétion dans la lignée ancestrale (deux lignées crispr indépendantes) est suffisante pour reproduire à l'identique l'évolution de P3.p. Des lettres différentes au dessus des barres en A et F indiquent des différences significatives (analyse *post-hoc* du test exact de Fisher, *fdr* = 0.05). Cinq lignées différentes ont été étudiées (quatre dans *C. elegans* et une dans *C. briggsae*) et cinq gènes différents ont été trouvés, avec des profils de mutations très variés. Figure adaptée de Besnard et al., 2020.

1. J'ai fourni les arguments soutenant l'hypothèse selon laquelle **P3.p évolue plus vite en raison d'une plus grande cible mutationnelle**. Pour y parvenir, j'ai sélectionné à partir de données publiées (Braendle et al., 2010) **six lignées AM** (issues des deux espèces *C. briggsae* et *C. elegans*) qui montraient une **évolution de la fréquence de division de P3.p** après 250 générations d'accumulation de mutations (figure 8A,B). Après re-séquençage des génomes de ces lignées AM, j'ai identifié *in silico* les mutations apparues et j'en ai validé expérimentalement près de 70, démontrant la fiabilité des prédictions de mon pipeline bio-informatique (figure 8D). J'ai ensuite utilisé ces mutations comme marqueurs génétiques dans des schémas de rétro-croisements entre les lignées AM et leur lignée ancestrale. **J'ai ainsi cartographié les loci responsables de l'évolution de P3.p** dans cinq des six lignées AM de départ, pointant à chaque fois la probable mutation causale (figure 8C,E). **Nous avons ensuite validé toutes ces mutations causales en reproduisant exactement les mutations par édition dirigée CRISPR-Cas9 dans le fonds ancestral, reproduisant à chaque fois l'évolution de P3.p entre la lignée ancestrale et la lignée AM** (figure 8F). Les mutations trouvées affectent cinq gènes différents impliqués dans des fonctions biologiques différentes, elles sont dispersés sur les cinq chromosomes et correspondent à des spectres et contextes mutationnels différents sur le plan moléculaire et génomique. En recoupant avec d'autres données génomiques, j'ai montré qu'elles ne sont pas récurrentes dans d'autres lignées MA et que les gènes impliqués n'ont pas un taux de mutation plus élevé dans des lignées AM ou un polymorphisme anormalement élevé dans la nature. **Ces données invalident l'hypothèse selon laquelle un taux de mutation élevé** de quelques loci ou gènes particuliers est le moteur de l'évolution rapide de P3.p, en lignées AM ou dans la nature. En revanche, la diversité des gènes et voies de signalisation identifiées suggèrent que nous avons juste échantillonné un petit aperçu du grand nombre de gènes capables d'influer sur la fréquence de division de P3.p, sa "cible mutationnelle". Ce résultat indique que les mécanismes de développement qui contrôlent le destin de cette cellule sont peu robustes aux variations génétiques. A notre connaissance, ce travail est le **premier exemple de validation fonctionnelle des mutations** causant l'évolution de traits **dans des lignées MA d'organismes pluricellulaires**. Par ailleurs, en montrant l'importance de la **faible robustesse développementale** dans le **lien entre génotype, phénotype et vitesse d'évolution**, notre travail a des **répercussions importantes** aussi bien en **biologie de l'évolution** que dans la compréhension de **maladies génétiques** ou de **progression tumorales cancéreuses** (Yang and Rifkin, 2020).

2. **Sur les cinq gènes identifiés, seul un seul est lié à une voie déjà impliquée dans le destin de P3.p**, la voie Wnt (Kroll et al., 2020; Pénigault and Félix, 2011). Le gène en question, **SFRP-1** (Secreted Frizzled Receptor Protein-1), est un inhibiteur de la signalisation Wnt qui est sécrété à l'avant de l'animal, s'opposant au gradient caudal de ce morphogène (Harterink et al., 2011). En validant que SFRP-1 agit en favorisant le destin 4° de P3.p chez *C. elegans* et *C. briggsae*, **nos données confirment le rôle du gradient antéro-postérieur de signalisation Wnt dans le destin de cette cellule**, qui pourrait être impliqué aussi bien dans les variations stochastiques, environnementales ou génétiques (Kroll et al., 2020). Par ailleurs, **deux gènes ont une fonction quasi inconnue**. Le quatrième gène constitue une **sous-unité du complexe médiateur**, un régulateur majeur de la transcription, aux effets très pléiotropiques. Plusieurs effets développementaux avaient déjà été rapportés, y compris sur la vulve à différents stades, mais pas spécifiquement sur P3.p. Nous avons démontré que d'autres sous-unités du médiateur affectent également P3.p, ce qui pointe **l'importance des capacités de transcription dans le contrôle de la robustesse des décisions cellulaires**. Enfin, le dernier gène, **GCN-1** (General Control Non-derepressible protein 1) est également associé pour la première fois à la division de P3.p. Ce gène agit dans une voie de signalisation

capable de réprimer la traduction de manière globale en réponse au stress (Müller et al., 2023; Rousakis et al., 2013), faisant ainsi écho au rôle général du médiateur, mais à l'étape de la traduction. Ce gène a cependant été impliqué dans la morphogenèse des cellules épidermiques de l'appareil sexuel du mâle chez *C. elegans*, en contrôlant la motilité cellulaire via la voie **semaphorin/plexin** (Nukazuka et al., 2008). Rejoignant étonnamment nos découvertes du projet n°2 (voir ci-après), ce résultat suggère que les **propriétés de motilité cellulaire** des VPC ont peut être été négligées chez les *Caenorhabditis* alors qu'elles **pourraient participer à la robustesse de leur destinée développementale**.

(2) Projet n°2 (Mécanismes du développement de la vulve chez *Oscheius tipulae* et comparaison avec *C. elegans*)

Ces travaux ont été publiés dans (Besnard et al., 2017) et dans (Vargas-Velazquez et al., 2019).

1. En collaboration avec le laboratoire de Mark Blaxter, spécialisé en génomique et dans l'assemblage de génomes de nématodes, nous avons produit **un assemblage de novo et une nouvelle annotation du génome d'*O. tipulae*** (projet PRJEB15512) (Besnard et al., 2017). Avant que les nouvelles technologies "long reads" ne soient encore accessibles, nous avons utilisé un séquençage Illumina profond mêlant des banques de petits inserts (300 bp, ~50 X de couverture) et des grands inserts (3 kbp, ~150X) séquencés en "mate pairs", c'est à dire uniquement sur 100 bp de bordures pour faciliter l'assemblage de contigs au delà de séquences répétées problématiques (Kumar et al., 2012). **Avec 60 Mbp, le génome d'*O. tipulae* est étonnamment petit** (59% de celui de *C. elegans*), s'expliquant par un contraction du nombre de gènes (14 938, soit 74% de *C. elegans*) et d'autres facteurs (densité génique, taille des gènes et des introns, répétitions, transposons). Alors que ***O. tipulae* et *C. elegans* ont des traits d'histoire de vie comparables** (forme de vie libre, bactériophages, mode reproduction andro-dioïque), ce résultat pose la question des **facteurs biologiques et événements historiques qui ont façonné différemment le génome** de ces deux espèces au cours de l'évolution.

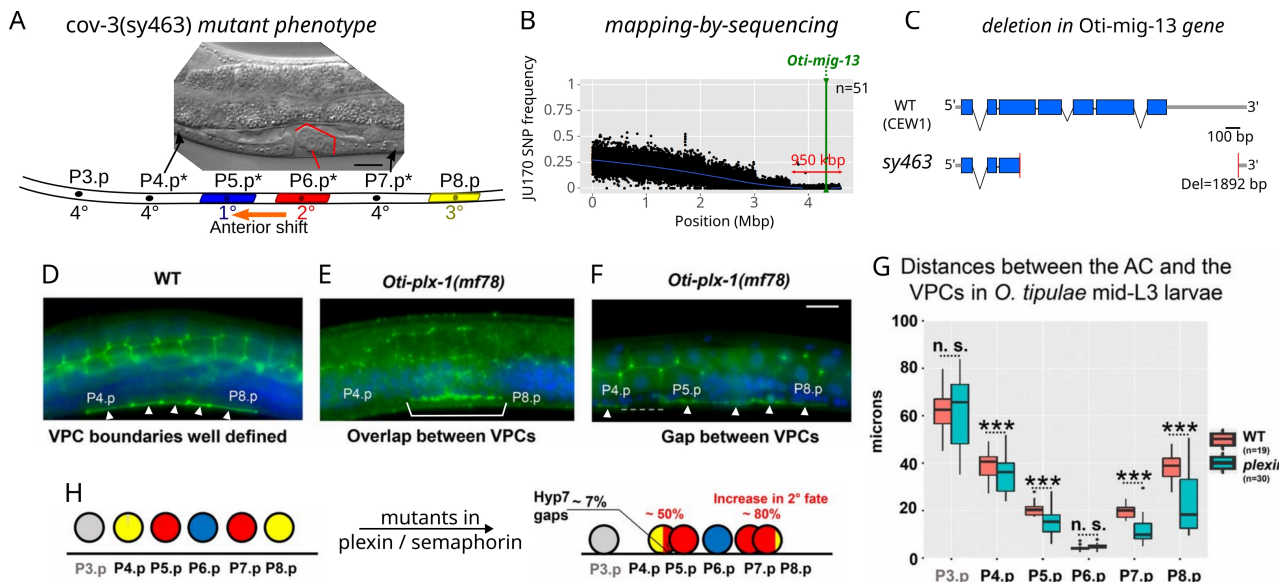


Figure 9 : mise en évidence par génétique directe de l'importance des voies de motilité cellulaire MIG-13 et plexin/semaphorin dans l'induction vulvaire chez le nématode *Oscheius tipulae*. **A**, Phénotype du mutant *cov-3*, caractérisé par une perte de compétence (destin 4°) et un décalage antérieur du patron d'induction (centrage sur P5.p). Ce phénotype mutant n'est quasiment pas présent chez les mutants de *C. elegans*, ou à des pénétrances très faibles. **B**, Cartographie par séquençage de l'allèle *cov-3(sy463)*, révélée par la chute de la fréquence des SNP associés à la lignée polymorphique JU170 à la fin de ce scaffold (assemblage partiel du génome). L'ADN séquencé provient de l'amplification en pool de 51 animaux F2 sélectionnés sur leur phénotype *cov-3* (mutation récessive). **C**, L'analyse

des variations présentes dans l'intervalle cartographié identifie une délétion dans le gène *Oti-mig-13*. Trois autres allèles connus de *cov-3* révéleront trois autres mutations perte-de-fonction indépendantes dans ce même gène. **D-E**, les mutants *iov-2* et *iov-3* caractérisés par un excès d'induction (destin 2°) ont été identifiés comme les gènes *semaphorin-1* et *plexin-1*, respectivement. La perte de fonction de *iov-3/Oti-plx-1* induit soit des chevauchements de VPC (**E**) soit des disjonctions (**F**), contrairement à leur alignement régulier chez le sauvage (**D**), mise en évidence par immuno-marquage des jonctions cellulaires (anticorps MH27). **G**, Dans le mutant *Oti-plx-1*, les VPC se rapprochent du centre P6.p et de la cellule ancre de la gonade qui délivre le signal inducteur EGF. **H**, modèle expliquant l'excès d'induction dans le mutant *plx-1* causé par les chevauchements de P4.p et P8.p vers les Pn.p plus centrales. A-C adapté de Besnard et al., 2017 et D-H de Vargas-Velazquez et al., 2019.

2. Du génome comptant six chromosomes, notre assemblage produit 191 scaffolds de plus de 500 bp avec un N50 de plus de 1.5 Mbp. Cette **qualité s'est révélée suffisante pour cartographier et identifier les gènes affectés dans sept mutants vulvaires récessifs jusqu'alors inconnus** (Besnard et al., 2017; Vargas-Velazquez et al., 2019). Nous avons appliqué une stratégie de **cartographie par séquençage** consistant à **séquencer en masse un pool d'animaux mutants F₂** issu d'un croisement avec une lignée sauvage polymorphique : la présence du locus mutant dans un intervalle est révélé par la baisse de la fréquence des allèles de la lignée polymorphique (figure 9C). Comme la collection de mutants contient des séries alléliques pour quatre des sept loci étudiés, leur validation n'a souvent nécessité que la confirmation de mutations indépendantes du même gène dans les autres, montant à **15 sur 34 le nombre de mutations identifiées moléculairement dans la collection mutante**. Par ailleurs, en mettant en œuvre pour la première fois des techniques de **smFISH** ou **crispr-cas9** sur cette espèce (travail réalisé par A. Vargas-Velazquez), **nos travaux ont doté *O. tipulae* des atouts suffisants pour en faire une espèce modèle en génétique fonctionnelle**.

3. L'identité des gènes des différents mutants a commencé à dévoiler **la complexité de l'évolution des mécanismes de développement de la vulve, entre conservation et divergence**. Par exemple, notre étude du mutant *iov-1(mf86)* indique la **conservation** de la sécrétion très spécifique par la **cellule ancre dans la gonade de EGF**, nécessaire à l'induction des destins 1° et 2°. Ensuite, nos données indiquent que comme chez *C. elegans*, les **voies Wnt et EGF** agissent en synergie pour promouvoir compétence et induction, avec toutefois des **différences quantitatives subtiles** révélés par les variations de pénétrance phénotypique des différents mutants. Enfin, nos travaux montrent une **évolution importante dans le contrôle du positionnement des VPC** : de manière spécifique à *O. tipulae*, la perturbation des voies **plexin/semaphorin** (Vargas-Velazquez et al., 2019) et **MIG-13** (Besnard et al., 2017) modifie le destin des cellules en modifiant leur positionnement et leur répartition le long de l'axe antéro-postérieur lors des stades larvaires précoces (figure 9). Cet effet se comprend bien vu l'implication de gradients inducteurs (Wnt/EGF) dans le développement vulvaire. Chez *C. elegans*, des mouvements actifs des VPC, en lien avec les signaux Wnt et EGF, sont aussi importants pour assurer la robustesse des inductions (Grimbert et al., 2016), mais sans que les voies plexin/semaphorin ou MIG-13 soient significativement impliquées. **Ce résultat pose donc la question de l'évolution des mécanismes de motilité des VPC** : ce paramètre est crucial pour générer un **contexte spatial reproductible** dans lequel les signaux inducteurs inter-cellulaires ont des réponses robustes.

impacts

Ces travaux ont été notamment valorisés par 3 articles de recherche (dont deux où je suis premier auteur et co-auteur de correspondance) et la mise à disposition d'une nouvelle version du génome du nématode *Oscheius tipulae*. L'article de eLife (Besnard et al., 2020) a été mis en valeur par les éditeurs de eLife (Yang and Rifkin, 2020).

Quatre ans après notre travail, l'équipe de notre collaborateur Mark Blaxter a publié une nouvelle version du génome d'*O. tipulae*, ([PRJNA644888](https://doi.org/10.1101/2021.03.15.438888))(Gonzalez de la Rosa et al., 2021), avec un assemblage

télomère-à-télomère des six chromosomes. Ce travail a confirmé nos résultats et permis d'explorer plus profondément l'évolution de l'assemblage chromosomique des génomes au sein du large groupe des *Rhabditida*.

perspectives

En montrant l'importance des relations entre faible robustesse de développement et vitesse rapide d'évolution d'un trait chez les *Caenorhabditis*, notre travail pose la question de la généralité de cette association. Dans le genre *Oscheius*, P4.p et non P3.p est la cellule qui évolue le plus vite, mais la variance mutationnelle de cette cellule n'était pas connue. Récemment, mes co-auteurs sur ce travail (mon encadrante Marie-Anne Félix et le chercheur post-doctoral João Picao-Osorio) ont réussi à montrer qu'en effet, l'évolution de la variance mutationnelle entre les genres *Oscheius* et *Caenorhabditis* étaient bien corrélées avec les tendances évolutives observées au sein de ces taxons (Picao-Osorio et al., 2025).

Par ailleurs, notre travail a permis d'établir des outils performants de génétiques fonctionnelles pour *O. tipulae*. Notamment, avant mon départ, nous avons généré des données de cartographie par séquençage pour 22 loci pour lesquels j'ai identifié 19 gènes candidats, dont 7 seulement ont été publiés à ce jour. Renforcé par l'apport du dernier assemblage du génome (Gonzalez de la Rosa et al., 2021), ces résultats faciliteront la poursuite de l'étude des mécanismes du développement vulvaire chez *O. tipulae*.

travail d'encadrement

J'ai encadré deux étudiants en L3 sur des stages courts, Flora Borne et Sana Dieudonné. Sana Dieudonné a participé à des expériences qui seront valorisées dans un article (Besnard et al., 2017). Cette expérience positive l'a conduite à me recontacter pour effectuer son stage de M2 et sa thèse sous ma direction à partir de 2018 (01/2018 - 12/2021, voir p. 55).

Travaux de recherches actuels

1. Vue d'ensemble

Mes recherches actuelles visent à **comprendre de façon multi-échelle comment les mécanismes de développement au sein du méristème apical caulinaire génèrent de la robustesse phénotypique sur différents traits d'architecture de la partie aérienne** (figure 10). J'utilise pour cela la plante modèle *Arabidopsis thaliana* et je suis particulièrement intéressé par des traits qui impliquent des communications entre cellules au sein du méristème : la phyllotaxie ou la relation fleur-bractée. Étroitement connectés scientifiquement, les trois projets sont toutefois indépendants sur le plan opérationnel.

Le projet n°1 concerne la coordination du développement des bractées et des fleurs. Il constitue une nouvelle direction thématique dans l'équipe, impliquant aussi des nouvelles méthodes (étude des variations naturelles, génomique, génétique quantitative). J'ai encadré le travail de deux doctorantes (dont l'une comme directeur de thèse) et d'une technicienne permanente.

Le projet n°2 est centré sur la caractérisation d'un mutant de phyllotaxie et le rôle du gène *FILAMENTOUS FLOWER (FIL)*. D'abord issu d'une collaboration pour une doctorante de l'équipe, j'ai ensuite repris ce projet que nous avons fait avancer grâce au travail de fond de notre technicienne permanente Stéphanie Lainé et de plusieurs stagiaires (de L3 à M2). Par son lien avec la phyllotaxie et l'expression de *FIL* dans les bractées, ce projet est à la jonction entre les projets n°1 et n°3.

Le projet n°3 a pour objectif la mise au point d'un robot de phénotypage 3D de précision pour automatiser les mesures de phyllotaxie chez *A. thaliana*. J'ai assumé un rôle moteur dans un grand consortium multidisciplinaire (projet H2020) pour coordonner les travaux et compétences de plusieurs personnes. J'ai directement encadré trois ingénieurs en CDD, deux ingénieurs permanents et trois stagiaires.

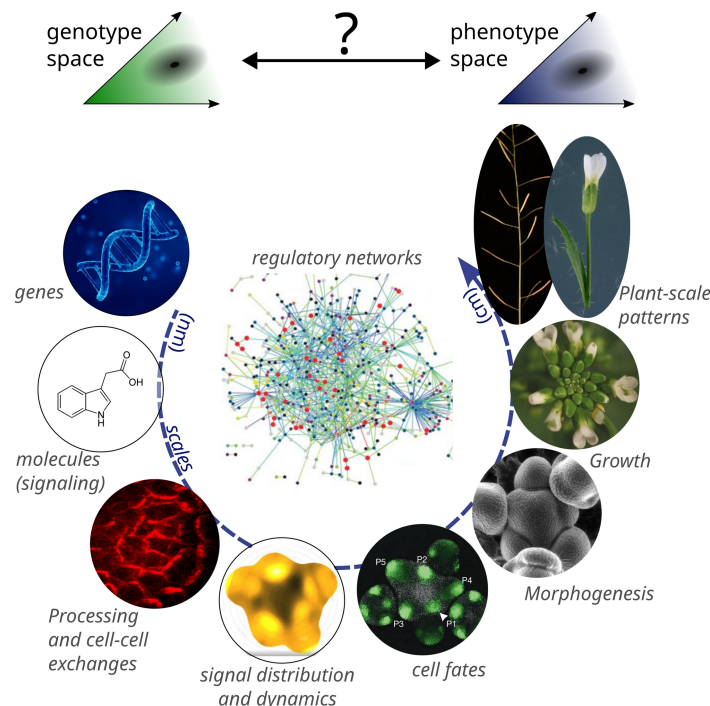


Figure 10: Robustesse développementale à travers les échelles dans les parties aériennes d'*A. thaliana*. Cette

figure illustre ma thématique de recherche actuelle. Ma question est de comprendre comment les mécanismes du système développemental à l'œuvre dans les méristèmes déterminent la variabilité des phénotypes produits, en particulier en réponse à la variabilité génétique. J'ai notamment un intérêt pour la variabilité génétique naturelle, qui permet d'évaluer dans quelle mesure la robustesse développementale contraint la variabilité des phénotypes observés dans la nature. J'étudie comment cette variabilité se propage ou est canalisée à travers les échelles, depuis les molécules jusqu'à l'architecture finale. Parmi les mécanismes impliqués, j'étudie particulièrement les hormones (auxine -dont la formule chimique est figurée ici-, cytokinines, gibberélines), leur distribution (sont représentés la localisation du transporteur d'auxine PIN1 en rouge et la carte de perception cellulaire d'auxine par le senseur qDII en jaune) et leur impacts sur les destinées cellulaires (en vert, l'expression du gène *AHP6*, marqueur d'organogenèse précoce). Les phénotypes que j'étudie sont la phyllotaxie ou plus récemment la formation des bractées.

2. Projet n°1 - Coordination des programmes développementaux bractée et fleur lors de la transition florale

contributeurs et contributrices

Personnes encadrées: Sana Dieudonné (M2 puis thèse) ; Ruth Kristianingsih (doctorante collaboratrice), Stéphanie Lainé (TR)

Collaborations: Richard Morris et Rachel Wells (JIC, Norwich, U.K)

résumé

Arabidopsis thaliana, comme la plupart des plantes de la famille des *Brassicaceae*, **cesse de faire des feuilles lorsqu'elle commence à faire des fleurs**. Pour expliquer le **couplage entre répression de la feuille d'inflorescence (aussi appelée bractée) et formation de la fleur**, il a été proposé que la mise en place de **l'identité florale** induit cette répression, mais les mécanismes restent encore inconnus. Nous avons d'abord questionné ce modèle en observant une **synchronisation imparfaite entre fleur et bractée** lors de la transition florale dans de nombreuses **accessions naturelles** d'*A. thaliana*. Par génétique quantitative, nous avons **identifié au moins quatre loci** expliquant cette variation naturelle, dont **aucun** ne correspond aux gènes connus de **l'identité florale**. En combinant génomique, imagerie confocale fonctionnelle et transcriptomique sur méristèmes micro-disséqués lors de la transition florale, nos données indiquent que les **programmes développementaux de la fleur et de la bractée peuvent en effet co-exister** lors de la transition florale. Nos analyses pointent vers des **nouveaux gènes et voies développementales** qui pourraient expliquer ce phénomène. Par ailleurs, en analysant les dynamiques transcriptionnelles entre deux accessions par une approche mathématique d'alignement de courbe, nous avons mis à jour la superposition d'une **multiplicité de décalages temporels (ou hétérochronies)** à l'échelle du transcriptome. Ce résultat indique d'abord que la persistance d'une feuille dans l'inflorescence ne correspond pas à une "juvénalisation" du développement, contrairement à une interprétation existante. De plus, nous montrons que les **hétérochronies transcriptionnelles favorisent les divergences transcriptionnelles** en particulier lors de la transition florale. En écho au modèle du "sablier inversé", nos résultats suggèrent que les **hétérochronies transcriptionnelles** issues de variations naturelles **favorisent les instabilités développementales et la variabilité phénotypique**, en particulier lors de transition développementales abruptes comme la transition florale.

contexte

La coordination développementale : un aspect fondamental du développement des plantes

Dans un organisme pluricellulaire, plusieurs programmes développementaux se coordonnent pour générer un plan d'organisation. Les **changements dans la coordination temporelle du développement, ou hétérochronies**, sont des moteurs de l'évolution phénotypique (Alberch et al., 1979). Très documentée chez les animaux, grâce notamment aux fossiles, les mécanismes moléculaires sous-jacents restent encore mal compris (Dobrevá et al., 2022). Chez les plantes, l'importance des hétérochronies est également reconnues mais leur étude, notamment mécanistique, est encore moins avancée (Buendía-Monreal and Gillmor, 2018; Geuten and Coenen, 2013; Petrone-Mendoza et al., 2023). Pourtant, chez les plantes, la coordination temporelle du développement aérien se pose de manière aiguë pour trois raisons : (1) l'extrême modularité du développement, capturé par la notion de **phytomère** (figure 11) ; (2) le fonctionnement continu et itératif des méristèmes ; (3) leur capacité à produire des architectures et structures spécifiques en fonction du stade du cycle de vie.

Le **phytomère** est la brique de base fabriquée par un méristème aérien (BARLOW, 1989; SUSSEX, 1989). Il comprend une **feuille**, reliée à la tige au niveau d'un nœud, un **méristème latéral** situé à la jonction entre la feuille et la tige, et la portion de tige séparant deux nœuds (**l'entre-nœud**). De plus, le phytomère est produit par le **méristème apical** terminal qui se régénère. Quatre programmes développementaux se coordonnent donc dans la construction d'un phytomère : le méristème terminal, le méristème latéral, la feuille et l'entre-nœud. Des variations de ces quatre éléments et leur combinaison génèrent **différents types de phytomères**, en grande partie responsable de la **diversité de formes et d'architectures** observables au cours du cycle de vie de la plante (figure 11) (Barthélémy and Caraglio, 2007). Par exemple, la célèbre intuition de Goethe sur la "métamorphose" des feuilles en pétales s'explique aujourd'hui par la transformation homéotique de l'identité de la feuille en pétale par les gènes de l'identité florale, la fleur étant un assemblage compact de phytomères modifiés (Coen, 2001). De plus, les plantes montrent aussi bien des changements graduels (par exemple les formes de feuilles dans une rosette) qu'abrupts (par exemple la floraison) dans la forme et la composition des phytomères (Poethig, 2003). Ceci implique des contrôles précis de la **coordination entre les éléments du phytomère**. Au niveau d'organisation supérieur, la dynamique précise des **transitions entre différents types de phytomères** impacte cette fois l'architecture entière de la plante (figure 11).

Malgré le rôle central de ces coordinations développementales, la plupart des connaissances actuelles focalisent sur les éléments des phytomères isolément (feuille, méristème ou entre-nœud) et peu sur leurs interactions. Un des cas les mieux étudiés reste celui de la coordination entre feuille (bractée) et fleur.

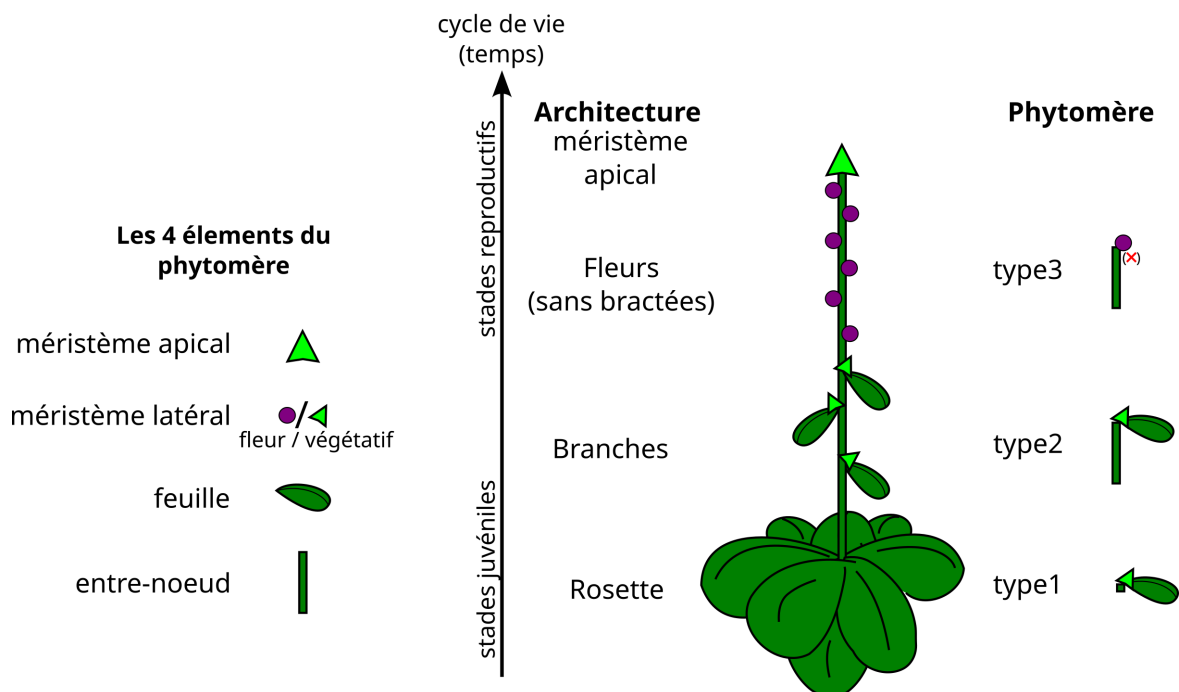


Figure 11 : Phytomère et coordination du développement au cours de cycle de vie d'*Arabidopsis thaliana*. À gauche, les 4 éléments de base du phytomère. À droite, la succession des formes d'architecture prise par la plante au cours de son cycle de vie correspond à des modifications des éléments du phytomères et de leur combinaison. Le développement de la plante implique de coordonner à l'échelle du phytomère les programmes de développement de chaque élément et à l'échelle de la plante, les transitions entre chaque type de phytomère.

La suppression de la bractée : un exemple de coordination développementale entre feuille et fleur



Figure 12 : Diversification des bractées chez les angiospermes. Galerie de bractées chez différentes espèces d'angiospermes, dont la forme permet de supposer des fonctions adaptatives dans (de gauche à droite) la protection des fleurs (*Rhinanthus* sp.), l'attraction de pollinisateurs (*Bougainvillea* sp.), la protection des fruits (*Castanea sativa*) ou la dispersion des graines (*Arctium* sp., connu comme velcro naturel). Suivent des exemples de bractées utilisées par l'homme comme le tilleul (*Tilia cordata*) ou l'artichaut (*Cynara cardunculus*).

Les bractées désignent les feuilles associées aux inflorescences des angiospermes (Endress, 2006; Prenner et al., 2009). Elles ont évolué une grande diversité de formes en lien avec différentes adaptations : photosynthèse, protection mécanique, attraction des pollinisateurs, dispersion des graines (figure 12)... Beaucoup d'espèces d'angiospermes ont, de manière convergente, perdu des bractées, comme les *Poaceae* ou les *Brassicaceae* (Whipple et al., 2010), possible adaptation à certain pollinisateurs, à l'anémogamie ou encore à une modification de l'allocation des ressources entre organes végétatifs et reproductifs (Mach, 2010; Whipple et al., 2010). Chez des espèces cultivées, leur présence peut impacter la productivité, l'adaptation au climat, la pollinisation ou la récolte. Ainsi, tant sur le plan fondamental qu'appliqué, la compréhension de la suppression des bractées a des implications majeures.

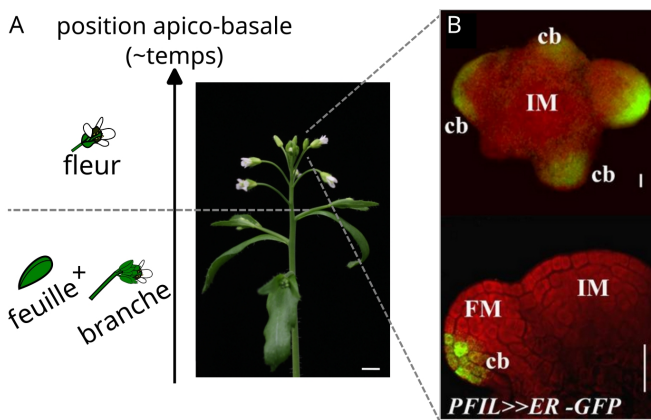


Figure 13 : Suppression abrupte de la bractée à la transition florale chez *A. thaliana*. A, Transition florale sur la tige principale. B, Imagerie dans le méristème apical (vue du dessus et en coupe longitudinale) de l'expression du gène *FILAMENTOUS FLOWER* (*FIL*), marqueur de feuille. IM/FM: inflorescence/floral meristem, cb=cryptic bract. (B est extrait de Goldshmidt et al., 2008).

Chez *Arabidopsis thaliana*, la suppression de la bractée est un phénomène très abrupt : en une seule itération, la méristème apical passe de la production d'un phytomère végétatif (avec un méristème latéral végétatif sous-tendu par une feuille) à un phytomère reproductif (dont le méristème latéral acquiert une identité florale et dont la feuille ou bractée est absente, figure 13). Dans le méristème apical, la formation de la fleur est précédée de peu par l'établissement d'un petit domaine cellulaire dont l'expression des gènes rappelle celui de la feuille (Dinneny et al., 2004; Goldshmidt et al., 2008; Marcus G Heisler et al., 2005; Long and Barton, 2000), mais dont le développement s'arrête précocement dès que la fleur se développe (Kwiatkowska, 2006). Ces arguments indiquent qu'une bractée commence à se former mais qu'elle est rapidement stoppée et reste cryptique. Par ailleurs, plusieurs mutants restaurent la formation de bractée, la plupart correspondant à une perte de fonction dans la voie de l'identité florale (Chuck et al., 2010; Dieudonné et al., 2025).

Ces données suggèrent un modèle simple de coordination au sein du phytomère : l'acquisition de l'identité florale par le méristème latéral induit la répression de la bractée. Comme les bractées sont homologues et très similaires aux feuilles produites par les phytomères végétatifs ("juvéniles"), leur présence, associée à un défaut de mise en place de l'identité florale, a parfois été interprétée comme le prolongement d'un programme développemental végétatif (Hempel et al., 1998), une sorte de

"juvénalisation" des inflorescences. On retrouve également cette interprétation dans les mutants de bractées chez les *Poaceae* (Chuck et al., 2010, 2007; Itoh et al., 1998; Kawakatsu et al., 2009, 2006; Wang et al., 2021).

Principales questions concernant la suppression de la bractée chez *A. thaliana*

Les mécanismes par lesquels les domaines voisins de la fleur et de la bractée communiquent restent inconnus, aucun signal ou relai indirect n'ayant été identifié. D'un point de vue évolutif, le modèle actuel implique que la perte de la bractée chez les *Brassicaceae* résulte du recrutement par la voie de l'identité florale de ce mécanisme (inconnu) suppresseur de bractée. Comment expliquer alors la persistance de bractées à la base de l'inflorescence de nombreuses espèces de *Brassicaceae* (Al-Shehbaz, 2015; German et al., 2023; Kiefer et al., 2014) ? Il est donc possible qu'il existe des mécanismes de suppression de la bractée plus complexes qu'une simple suppression induite par les fleurs.

Objectifs du projet et questions spécifiques

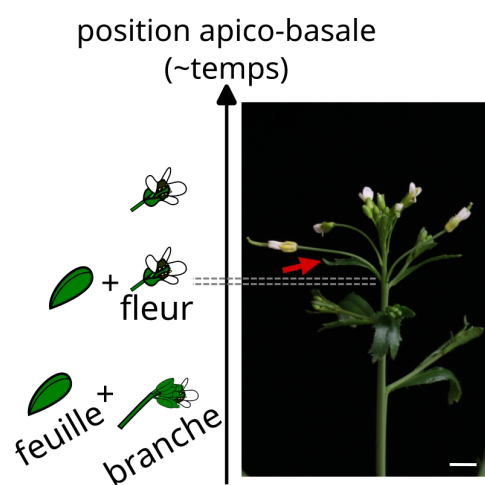


Figure 14 : Désynchronisation entre suppression de la bractée (flèche rouge) et formation des premières fleurs (accession naturelle *Tsu-0*)

En observant que certaines accessions naturelles d'*A. thaliana* produisent transitoirement quelques bractées à la base des inflorescences (figure 14), nous avons saisi cette opportunité pour poser les questions suivantes:

- quelles sont les mécanismes permettant à ces bractées naturelles de se former malgré le déclenchement de la formation des fleurs ?
- quels sont les liens avec la voie de l'identité florale précédemment impliquée dans la suppression de la bractée ?
- pourquoi ce phénomène est-il transitoire et quels sont les liens avec la transition florale ?

principaux résultats

Ces résultats sont disponibles dans (Dieudonné et al., 2025) dont les figures 15 à 19 sont inspirées.

1. Dans les **populations naturelles** d'*A. thaliana*, la **synchronisation de la suppression de la bractée et de la transition florale** est **très variable** (figure 15). En échantillonnant vingt-trois accessions couvrant une large diversité géographique et génétique, nous avons observé une variation continue de la présence "**bractées basales**" (bractées cantonnées au premières fleurs situées après la transition florale sur une branche). Aucune corrélation avec l'origine génétique ou géographique n'a pu être mise en évidence. Les conditions de culture, qui peuvent avancer ou reculer la floraison de plusieurs jours, n'influencent pas cette désynchronisation transitoire (figure 15). Nous avons établi un **score** permettant de **quantifier les bractées basales**. Nous avons concentré nos analyses sur deux accessions : l'une avec une synchronisation parfaite (l'accession de référence *Columbia-0* ou **Col-0**), et l'autre montrant une désynchronisation très fréquente, *Tsushima-0* (**Tsu-0**).

2. La **formation d'une bractée** dans les phytomères de la transition florale ne résulte **pas d'un défaut majeur de l'identité florale dans la fleur**, selon plusieurs arguments. (1) les fleurs associées aux bractées ne

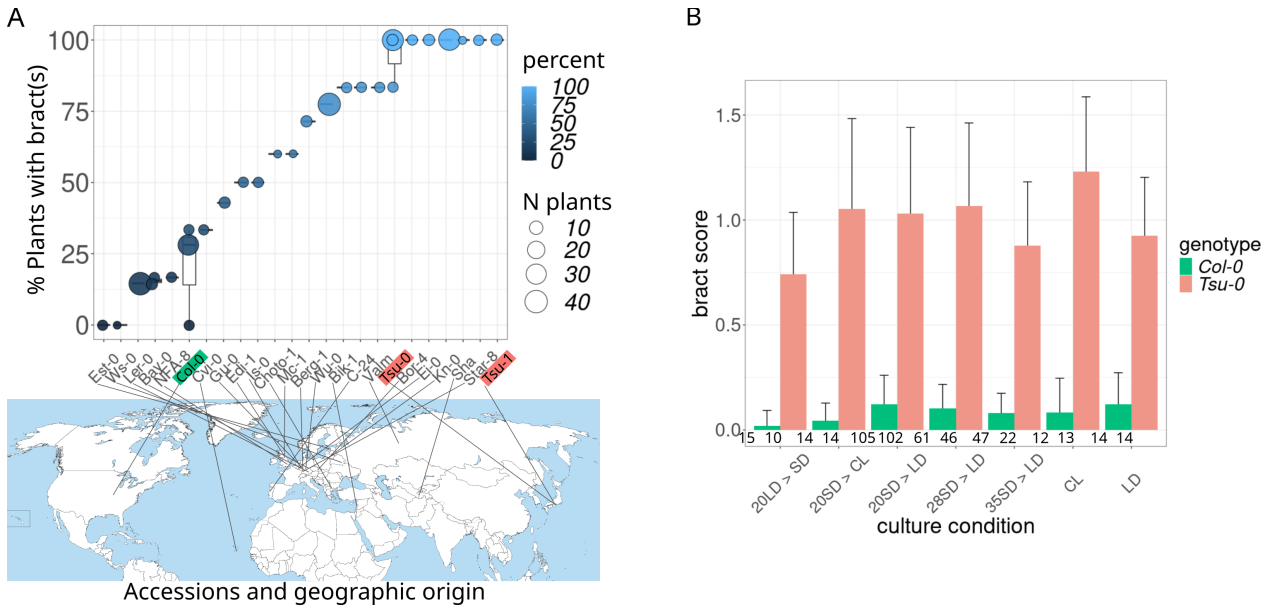


Figure 15 : Désynchronisation de la suppression de la bractée dans les populations d'*A. thaliana*. **A**, Variation importante de l'occurrence de "bractées basales" dans différentes accessions aux origines géographiques variées. **B**, Chez *Tsu-0*, accession où ce trait est très fréquent, les conditions de photopériode (qui impactent pourtant le temps de floraison) n'affectent pas la formation de bractées. (LD : long day ; SD : short day ; CL : continuous light, les nombres indiquent les jours passés dans une condition ; '>' : transfert vers une autre condition. Les nombres en dessous des barres représentent le nombre de plantes observées).

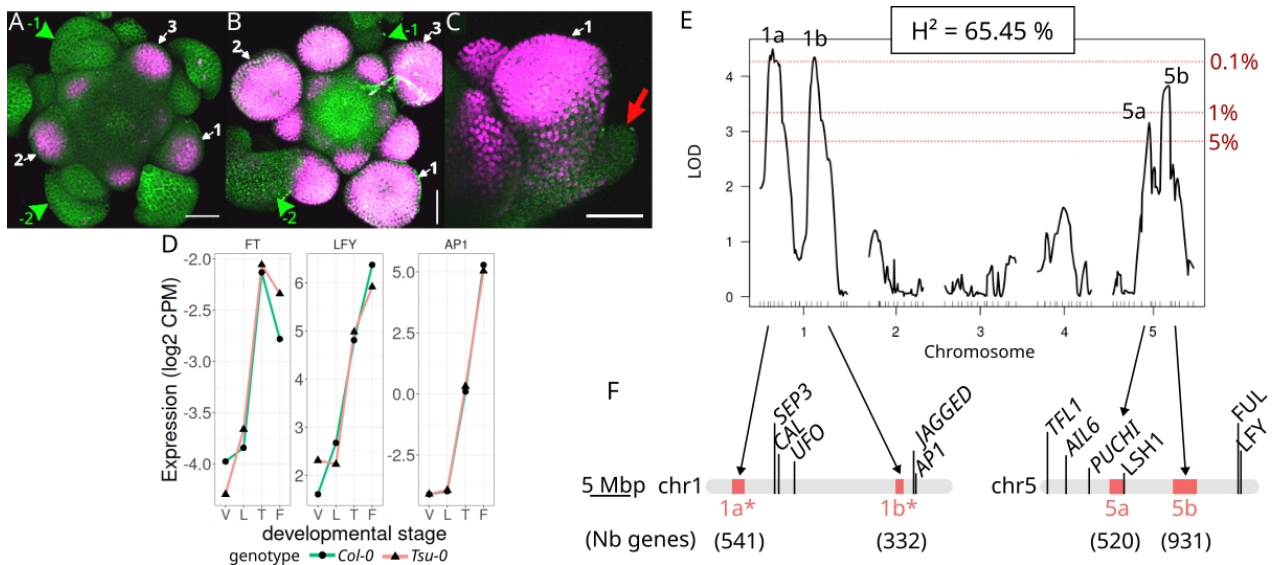


Figure 16 : La formation des bractées basales ne dépend pas directement d'un problème d'identité florale dans les fleurs du même phytomère. **A-C**, Expression d'un rapporteur transcriptionnel *LFY* (magenta) dans le méristème apical (vue du dessus, image confocal en projection maximum) capturé à la transition florale chez *Col-0* (A) et *Tsu-0* (B,C, le vert marque la membrane des cellules). Les fleurs avec bractées de *Tsu-0* (n°1 en B, vue de profil en C, bractée pointée par la flèche rouge) présentent une expression normale de *LFY*. Tête de flèche verte : méristème végétatif, numéroté par ordre de production décroissant à partir de la transition florale ; flèche blanche : fleur numérotée par ordre croissant à partir de la transition florale ; échelle : 50 μ m. **D**, Par RNA-seq sur méristèmes micro-disséqués, il n'est détecté aucune différence quantitative dans l'activation de *LFY* et *AP1* au cours de la transition florale (en abscisse, stades de développement : V=Vegetative, L=Late vegetative, T=Transition, F=Floral,

voir aussi figure 17). E, Cartographie de quatre QTL associés à la formation de bractées basales dans des RIL entre *Col-0* et *Tsu-0*. H^2 : mesure de l'héritabilité (sens large) au sein de ces RIL. F, Cartographie finale des QTL après réduction (*) des intervalles 1a et 1b par utilisation de lignées HIF (heterologous inbred families). Aucun gène connu de l'identité florale n'est présent dans ces intervalles (les gènes connus antérieurement associés à la formation de bractée et présents sur ces chromosomes sont indiqués).

présentent pas d'anomalies et sont de type sauvage ; (2) les mutants affectés dans les gènes de l'identité florale ne font pas de bractées à la transition florale mais à des nœuds plus tardifs ; (3) aucune différence d'expression de ces gènes n'est détectée en RNAseq et *LEAFY (LFY)*, un gène central du réseau génétique de l'identité florale, s'active fortement dans les fleurs avec bractée comme le montre de l'imagerie confocale sur méristème vivant (figure 16A-D); (4) aucun gène de l'identité florale précédemment associé à la formation de bractée n'est contenu dans les quatre loci associés aux bractées basales identifiés entre *Tsu-0* et *Col-0*. Ces **quatre loci ont été identifié par génétique quantitative**, par deux approches convergentes d'analyse de ségrégeants en masse ("bulk segregant analysis" ou BSA) et de lignées recombinantes autofécondées ("recombinant inbred lines" ou RIL, figure 16E-F).

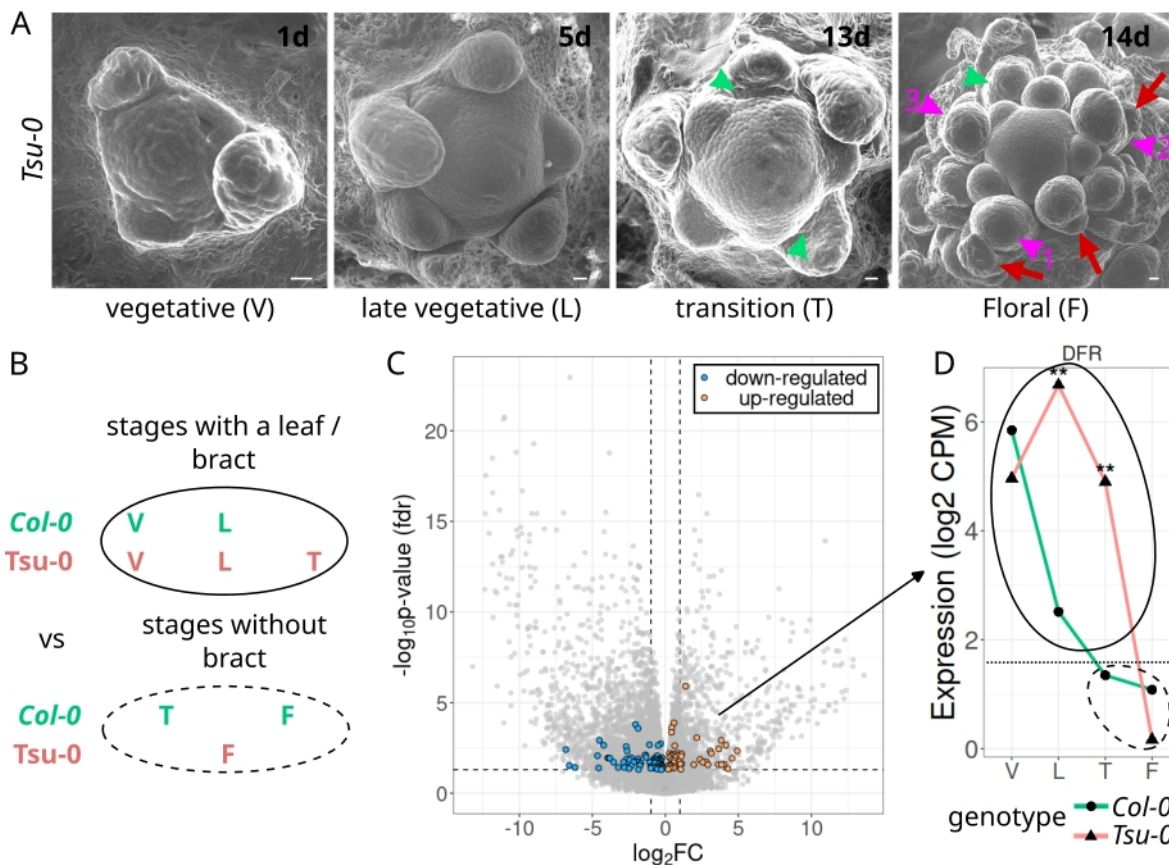


Figure 17 : Caractérisation d'une signature transcriptionnelle du méristème associée à la production de feuilles et de bractées. A, Imagerie (microscopie électronique à balayage) du méristème apical (ici *Tsu-0* en exemple) aux différents stades de développement (le nombre de jours après transfert en jour long est indiqué en haut à droite de chaque image) ayant été utilisés pour une analyse RNAseq, chez *Tsu-0* et *Col-0*. Chez *Tsu-0*, le stade T est celui où sont initiées les bractées sur les premiers phytomères floraux. B, Stratégie d'analyse pour isoler des gènes dont la dynamique transcriptionnelle est associée à la présence de feuille et/ou bractée. C, Volcano plot mettant en évidence les gènes (n=124) correspondant au critère défini en B (les points gris correspondent à tous les gènes exprimés dans le méristème). D, Dynamique d'expression comparée chez *Col-0* et *Tsu-0* d'un gène sur-exprimé au

stade T (points oranges en C). DFR est une enzyme clé de la biosynthèse des anthocyanines. 12 gènes seulement montrent à la fois un tel profil, sont présents dans un des quatre QTL loci (figure 16) et portent des polymorphismes entre les deux accessions naturelles.

3. La **signature transcriptionnelle** associée à la formation prolongée de **bractées** dans les méristèmes en transition pointent des **gènes** et des **fonctions biologiques inattendues**, pointant de possibles nouveaux mécanismes **impactant la synchronisation fleur-bractée**. Nous avons reconstitué par RNAseq sur méristèmes micro-disséqués l'évolution du transcriptome, de stades végétatifs aux stades floraux, sur les deux accessions (figure 17). Ce jeu de donnée de grande qualité nous a permis d'identifier que la **divergence des transcriptomes** entre les deux accessions **culmine au moment de la transition florale**, lorsque les bractées sont produites. Seulement **124 gènes** présentent une **expression corrélée à l'absence ou la présence de feuille/bractée**. Étonnamment, cette liste ne contient aucun gène ou processus jusqu'alors associé au développement des feuilles ou des fleurs, et des **voies métaboliques inattendues** (métabolisme des **anthocyanines** ou de la réponse à l'**acide salicylique**). En recoupant l'ensemble de nos données -omiques et génétique, **12 de ces gènes** tombent dans les loci identifiés et sont polymorphiques entre les deux accessions : ils seraient des **candidats potentiels à valider**.

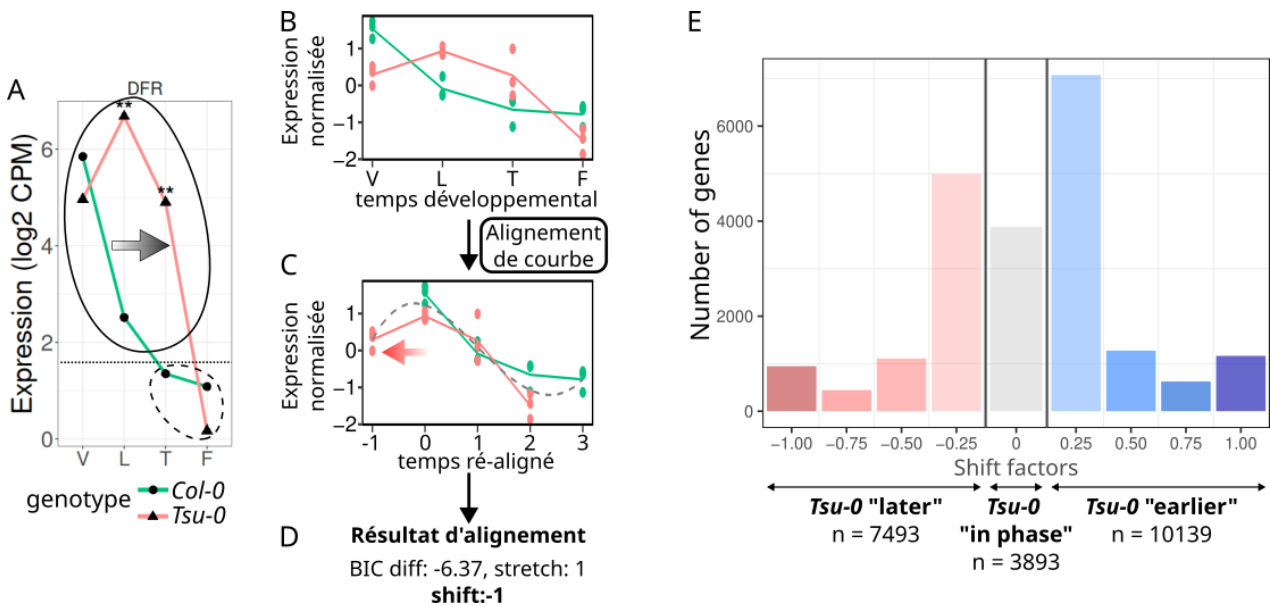


Figure 18: Mise en évidence d'hétérochronies transcriptionnelles massives et très diversifiées entre les méristèmes apicaux aériens des accessions naturelles *Col-0* et *Tsu-0*. **A**, Exemple de l'expression du gène DFR (cf. figure 17). Les dynamiques sont semblables, mais avec un retard (flèche grise) chez *Tsu-0* par rapport à *Col-0*. **B-D**, Analyse mathématique du décalage temporel par alignement de courbe après normalisation des niveaux d'expression (**B**), recalage des courbes (**C**) et calcul des paramètres d'alignement (**D**), notamment le décalage ("shift"), ici de valeur -1 (flèche rouge indiquant le décalage). **E**, Distribution des "shifts" pour l'ensemble des gènes exprimés dans le méristème. Malgré le recalage phénotypique sur des stades développementaux identiques (V,L,T,F, cf. figure 17), 82 % des gènes montrent des décalages temporels entre les deux accessions naturelles, avec tout un gradient de shifts possibles.

4. La suppression retardée des **bractées ne correspond pas** à un **décalage global** du transcriptome vers des **stades plus jeunes**. En appliquant une approche mathématique rigoureuse d'alignement de courbe (Kristianingsih, 2024), nous avons démontré que les gènes montrent un **large spectre possible de décalages temporels** entre les deux accessions (figure 18). En accord avec d'autres travaux récents (Calderwood et al., 2021), ce résultat semble indiquer un phénomène très courant entre espèces ou au sein de populations d'une même espèce. Notre analyse indique même que, chez *Tsu-0*, plus de gènes sont en avance qu'en

retard. De plus, nous avons montré que **les hétérochronies favorisent les différences de niveau d'expression des gènes**, en particulier au **moment de la transition**, contribuant à créer un **pic de divergence** du transcriptome à ce stade entre les deux accessions naturelles (figure 19).

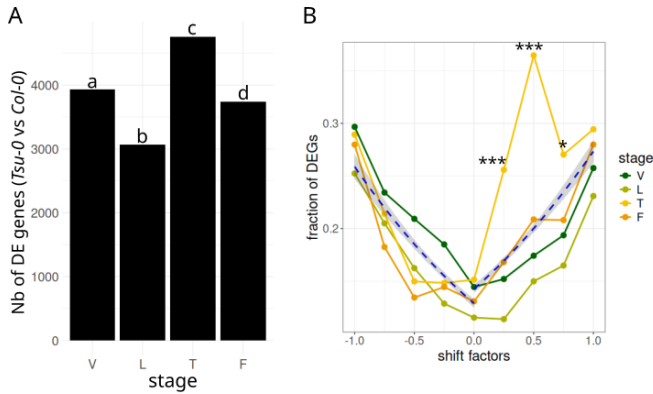


Figure 19 : Correlations entre divergence transcriptomique, hétérochronie et variation développementale. Le stade de transition T, où se forme les bractées basales, est le moment où le plus de gènes sont différentiellement exprimés (A, lettres indiquant les groupes différents selon un test Chi²) et où l'effet des hétérochronies sur les différences d'expression est le plus fort (B, modèle statistique de régression linéaire par morceau avec code de p-value : *** < 0.001, * < 0.05).

Notre travail fait écho au modèle développemental du "sablier inversé" ("*inverse hourglass model*"). Ce modèle postule que les divergences de transcriptome lors d'étapes intermédiaires spécifiques du développement sont des moteurs de la diversité phénotypique (Levin et al., 2016). Chez les plantes, une étude entre espèces de *Solanaceae* a montré que la divergence des transcriptomes méristématiques lors de la transition florale est un bon proxy des différences d'architecture finale de l'inflorescence entre espèces (Lemmon et al., 2016). De plus, ces divergences de transcriptomes pouvaient s'interpréter comme des hétérochronies entre espèces. Pareillement, notre étude montre qu'à l'échelle intra-spécifique, la transition florale est un stade où l'on peut facilement observer d'importantes divergences de transcriptomes, notamment en raison d'hétérochronies, et aussi des variations développementales aux conséquences phénotypiques importantes, comme la formation d'une bractée entière.

impacts

Ce travail est disponible en *preprint* depuis août 2024 et en révision au moment de l'écriture de ce mémoire (Dieudonné et al., 2025).

Il a été sélectionné pour présentation orale par Sana Dieudonné à deux congrès : 'genes to plants' european symposium (Poitiers, FR., 2022) et Shaping Life 2 (SFB 2021). Il a également été présenté en poster au congrès ICAR 2022 (Belfast).

Les données générées, notamment les séries temporelles de RNAseq sur méristèmes micro-disséqués, sont disponibles sur archives ouvertes (recherche.data.gouv.fr).

Ce travail a fourni de la matière à nos collaborateurs Ruth Kristianingsih et Richard Morris du John Innes Center (Norwich, Angleterre) pour élaborer de nouveaux outils et méthodes d'analyses permettant d'effectuer des alignements temporels d'expression de gènes, disponibles dans un nouveau package [greatR](#) (Kristianingsih, 2024). Ce travail constitue la première utilisation et citation de ce nouvel outil.

perspectives

Nos résultats ont plusieurs implications.

Sur le plan des **mécanismes du développement**, ils ouvrent des perspectives pour **trouver des régulateurs de formation de la bractée** et des mécanismes de signalisation intercellulaire qui **coordonnent le développement de la fleur et de la bractée**. Comprendre comment la plante peut activer ou supprimer la formation d'un organe aussi central que la feuille peut avoir des impacts considérables, tant sur le plan fondamental qu'appliqué. Caractériser les mécanismes en jeu est essentiel, notamment élucider à quel

point ces mécanismes sont inféodés à des contextes développementaux particuliers (transition florale, formation de la fleur, ...).

En ayant disculpé une origine liée à la mise en place l'identité florale, nous pouvons imaginer **deux scenarii** distincts concernant le **mécanisme impliqué** (figure 20): soit il agit **en aval** de la voie de l'identité florale, soit **en parallèle**. Dans le premier cas, le mécanisme de suppression de la bractée normalement induit par la fleur serait directement inactivé ou amoindri, sans que l'identité florale soit affectée. Dans le deuxième scénario, un autre mécanisme, indépendant de celui induit par la fleur, permettrait à la bractée de se développer, dominant l'effet supprimeur de la fleur. Comme nous avons trouvé quatre loci, avec une additivité pour deux d'entre eux, ces deux scenarii pourraient coexister.

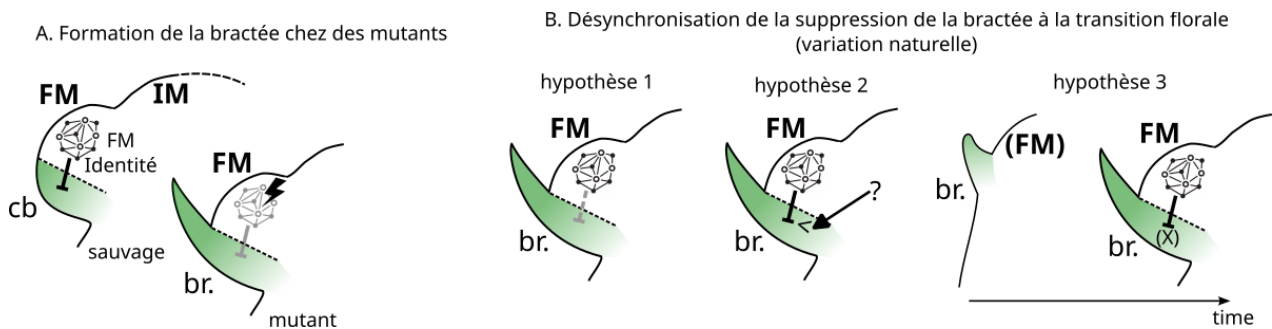


Figure 20 : Diverses hypothèses sur la formation des bractées dans des contextes mutants et naturels chez *A. thaliana*. A, Les mutants de bractées affectent tous des gènes du réseau de l'identité florale, suggérant un mécanisme de suppression en aval de cette voie. B, Trois hypothèses envisagées pour la formation de la bractée à la transition florale d'accessions naturelles. Hypothèse 1 : la transition florale perturbe spécifiquement le mécanisme de suppression en aval de l'identité florale. Hypothèse 2 : une autre voie indépendante favorise le développement de la bractée et domine l'effet supprimeur exercée par les fleurs. Hypothèse 3 : l'émergence de la fleur est décalée dans le temps, laissant à la bractée le temps d'émerger (dessin de gauche). Lorsque la fleur émerge, l'effet supprimeur n'est pas suffisant ou trop tardif pour empêcher la formation de la bractée ('x' symbolise le fait que l'effet inhibiteur ne fonctionne plus). FM : méristème floral, IM : méristème d'inflorescence, br. : bractée.

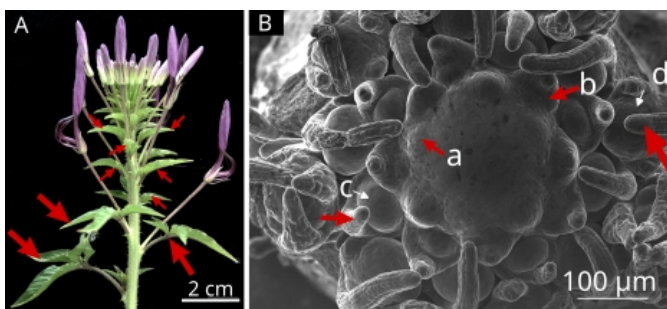


Figure 21 : Formation des bractées chez la Cleomacée *Tarenaya hassleriana*. A, bractées sur l'inflorescence principale (flèches rouges). B, Méristème d'inflorescence (microscopie électronique à balayage) où les bractées (flèches rouges) commencent par se former (étapes a, b), le méristème floral apparaissant plus tardivement (c,d, flèches blanches).

Trouver ou générer des fonds génétiques qui produisent plus de bractées (pas seulement la première fleur) permettrait de suivre en temps réel le développement d'une fleur et de sa bractée. Une alternative est d'étudier les relations feuille-méristème latéral dans d'autres contextes où les feuilles se forment : par exemple, les branches caulinaires d'*A. thaliana* ou les inflorescences des *Cleomaceae*, famille sœur des *Brassicaceae* chez qui les bractées sont conservées (figure 21). Pour les branches d'*A. thaliana*, on peut remarquer que plus le méristème latéral émerge tard, plus la feuille est petite. Chez les *Cleomaceae*, un délai assez long existe entre formation de la bractée et de la fleur.

Ceci évoque un **troisième scénario possible**, basé sur une **hétérochronie** (figure 20): une réduction du délai entre déclenchement de l'initiation de la bractée et celui de la fleur (méristème latéral) favoriserait la suppression de la bractée. Plusieurs mécanismes sont envisageables en aval : une plus grande sensibilité des jeunes initia de bractées à un signal supprimeur

venant des méristèmes latéraux, une simple compétition pour des ressources (hormones et/ou métabolisme), ...

Concernant la **robustesse développementale**, notre travail nous a amené à l'hypothèse selon laquelle les hétérochronies transcriptionnelles favorisent des variations phénotypiques, en particulier lors de transitions abruptes. Ainsi, les hétérochronies rendraient visibles lors de la transition florale les traits développementaux les moins robustes. En plus des bractées, ce phénomène pourrait expliquer la fréquence d'autres phénotypes anormaux observés chez les *Brassicaceae* lors de la transition florale (Arber, 1931a, 1931b). Si les hétérochronies sont vraisemblablement le fruit d'une évolution par dérive ou par adaptation (comme celle du temps de floraison), les variations développementales observées n'en seraient alors que les conséquences indirectes. Ces hypothèses ne sont pas faciles à tester. Quantifier les hétérochronies transcriptionnelles au niveau de populations serait une première étape pour évaluer leur importance et leur liens avec des phases particulières du cycle de vie.

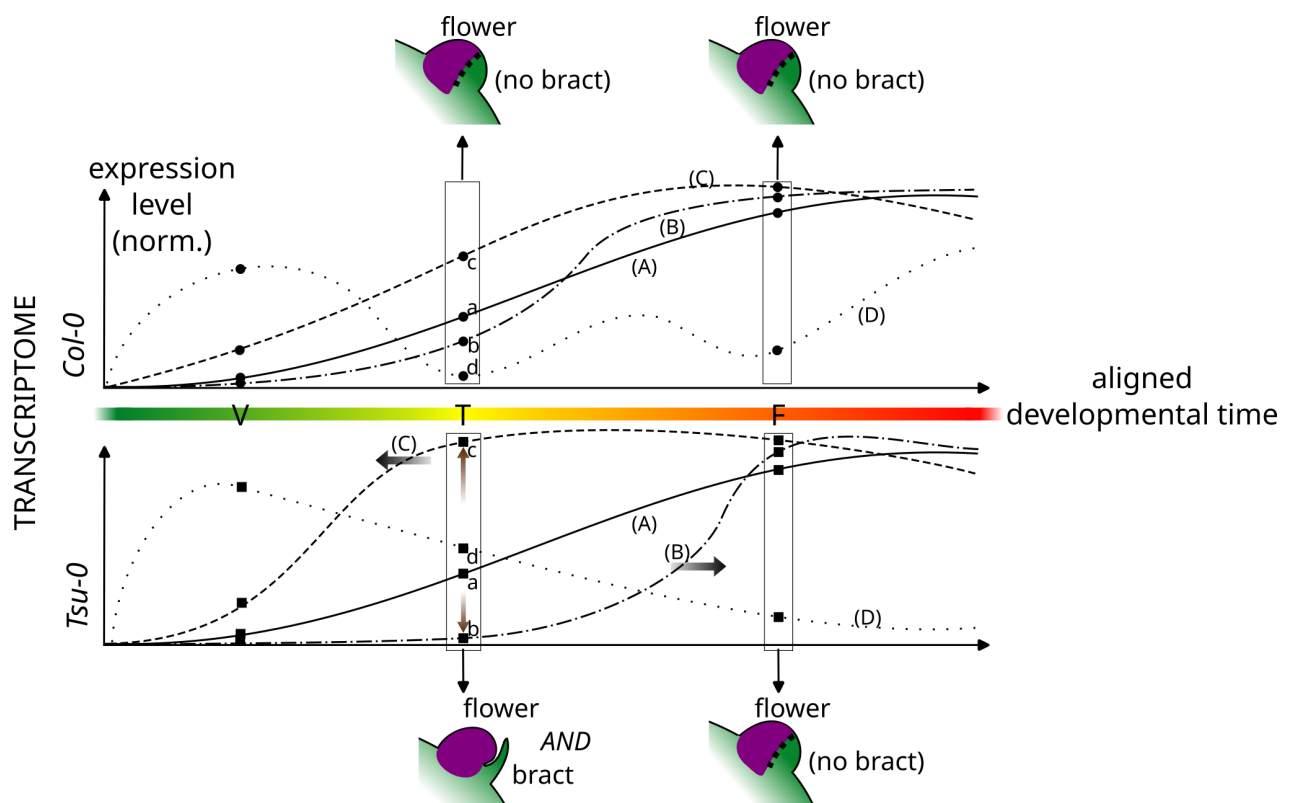
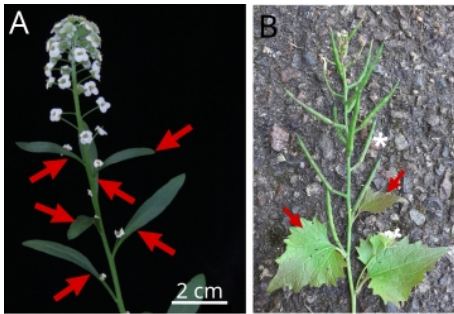


Figure 22 : Modèle de travail explorant l'effet des hétérochronies sur la divergence des transcriptomes et la formation des bractées à la transition florale dans des accessions naturelles. Quatre gènes hypothétiques sont représentés, dans *Col-0* (en haut) et *Tsu-0* (en bas). A est un gène synchronisé avec la transition de floraison dans les deux accessions (par exemple *LFY*), la dynamique de B est décalée tardivement et celle de C est décalée précocement. Les flèches grises horizontales mettent en évidence ces hétérochronies transcriptionnelles pour les gènes B et C dans *Tsu-0* par rapport à *Col-0*, et les flèches verticales brunes mettent en évidence les différents niveaux d'expression résultant au stade T dans *Tsu-0* pour ces deux gènes (les petites lettres a à d indiquent la courbe du gène à chaque instant). D représente un gène hypothétique dont la dynamique différente entre *Col-0* et *Tsu-0* ne s'explique pas par un simple décalage hétérochronique. Globalement, le nouvel état d'expression génique au stade T chez *Tsu-0* favorise le développement des fleurs et des bractées. Cet état est transitoire et l'inhibition des bractées est restaurée à mesure que le méristème progresse vers le stade F. Extrait de Dieudonné et al., 2025.

Sur le **plan évolutif**, nos données ouvrent de nouvelles perspectives. Le scénario actuel de perte de la bractée repose sur l'hypothèse qu'une fonction inhibitrice de la bractée a été recrutée par la voie de l'identité florale chez les *Brassicaceae* ou par celle des gènes frontières chez les *Poaceae* (Whipple et al., 2010; Xiao et al., 2022). La caractérisation des mécanismes précis qui prolongent la formation de la bractée malgré la formation des fleurs permettra de tester ce scénario chez *A. thaliana*. En fonction du mécanisme



Lobularia maritima *Alliaria petiolata*

Figure 23 : Evolution de la présence bractées basales au sein des Brassicacées. A, Présence étendue à plusieurs fleurs sur la base de la branche. B, Présence limitée au deux premières fleurs. (flèches rouges : bractées)

identifié (voir ci-dessus et figure 20), notamment si celui-ci est indépendant de la voie de l'identité florale, des convergences aux niveaux moléculaire et cellulaire pourraient apparaître entre *Brassicaceae* et *Poaceae*. Par exemple, un effet hétérochronique (hypothèse 3, figure 20) pourrait impliquer les mêmes mécanismes dans ces deux contextes, constituant un nouveau cas d'évolution répétée (Martin and Orgogozo, 2013). Par ailleurs, nos travaux pourraient éclairer l'évolution des bractées au sein des *Brassicaceae* sous un angle nouveau, en s'inspirant de travaux comme ceux que j'ai mené sur les nématodes. Chez les *Brassicaceae*, on observe une importante variabilité intra- et inter-espèce pour la suppression des bractées à la base des inflorescences, sans valeur adaptative évidente (figure 23). Il est possible que ce trait ait une forte variance mutationnelle, révélée non pas par mutations aléatoires mais par l'exploration de nombreux états du transcriptome par hétérochronie. Dans ce cas, les variations de la présence de bractées dans les inflorescences

indiqueraient la direction d'un biais développemental en réponse aux hétérochronies. Autrement dit, l'évolution rapide de la présence de bractées à la base des inflorescences des *Brassicaceae* pourrait être la conséquence d'une faible robustesse développementale de ce trait. Ce trait serait constamment perturbé par les multiples hétérochronies de gènes qui se décalent par adaptation ou dérive, produisant une divergence maximum au moment de la transition.

travail d'encadrement

Sur ce projet, j'ai encadré à 100% **Sana Dieudonné** en **master 2** (janvier-juillet 2018) puis en **thèse** (septembre 2018 - décembre 2021). Sana a bénéficié d'une bourse CDSN de l'ENS de Paris (fléchée sur les élèves normalien.nes). En 2018, j'ai obtenu une accréditation de l'ENS de Lyon pour être son encadrant de thèse à 100 % en l'absence d'HDR. Toutefois ayant choisi de ne pas passer l'HDR avant la soutenance de Sana (voir p. 106 pour la justification de ce choix), Teva Vernoux a gracieusement accepté de porter officiellement ce rôle dans le jury pour permettre à la soutenance de thèse de se tenir. Comme chef d'équipe, Teva connaissait très bien Sana et avait été régulièrement mis au courant des avancées du travail de Sana lors de séminaires internes. Ce projet a constitué la première expérience d'encadrement de thèse à 100%, me confrontant directement aux différents aspects de cette fonction, administratifs, scientifiques, pédagogiques, et aussi humains, particulièrement importants dans une expérience aussi engageante qu'une thèse sur 3 ans. Notre collaboration s'est poursuivie au delà de sa soutenance puisque Sana, employée au RDP dans une autre équipe, s'est rendue disponible plusieurs jours en 2023/2024 pour effectuer des expériences et elle a participé activement aux re-lectures et éditions de l'article dont elle est première autrice.

J'ai également encadré une partie du travail de **Ruth Kristianingsih**, doctorante au John Innes Centre de Norwich (Royaume Uni). Après avoir initié la collaboration, je lui ai proposé un projet pour qu'elle postule à une bourse de l'ambassade de France en Angleterre. Cette bourse lui a permis de venir nous rencontrer au laboratoire en novembre 2021. Nous avons ensuite établi une collaboration

exclusivement en visio, à travers des réunions de travail régulières sur sa contribution au projet (analyses des données et préparation de l'article, texte et figures).

Enfin, j'ai encadré le travail de **Stéphanie Lainé**, technicienne permanente de l'équipe (à 50% avec moi), qui a participé à de nombreuses expériences de ce projet, notamment la mise en place du génotypage par la méthode KASP et du phénotypage de diverses lignées.

3. Projet n°2 - Robustesse de la morphogenèse du méristème et de la phyllotaxie

contributeurs et contributrices

Personnes encadrées: Anaïs Chaumeret (doctorante équipe) ; Romuald Marin (M2) ; Malik Talbi (M2) ; Gwennogan Dubois (M1) ; Timothée Darbois (L3) ; Elliott Cordier (M1)

Collaborations: Teva Vernoux (RDP signal)

résumé

Motif développemental emblématique et très étudié, la phyllotaxie n'en demeure pas moins un phénomène dont les mécanismes biologiques sont encore mal compris. L'auxine, par sa distribution et sa perception, joue un rôle central, qui suscite encore des questions. De plus, les modèles théoriques comme les données expérimentales indiquent que des éléments mécanistiques restent à identifier pour expliquer comment le méristème, malgré son fonctionnement continu, maintient une structure stable dans laquelle chaque nouveau site d'organogenèse est prédictible, conforme à la géométrie dessinée par les précédents organes. Pour **découvrir sans a priori de nouveaux gènes impliqués dans la phyllotaxie**, nous avons caractérisé la **souche mutante DRB27**, isolée pour son phénotype de phyllotaxie spectaculaire. À la place des fleurs, cette plante produit des amas d'organes filamenteux en pseudo-verticilles, où la distribution angulaire semble aléatoire. Par diverses **approches de génomique et génétique**, nous avons démontré que les phénotypes de ce mutant étaient causés par la perte de fonction du gène **FILAMENTOUS FLOWER (FIL)** dans le **fonds génétique Ws-4**. Bien que ce gène aux fonctions pléiotropes soit connu depuis longtemps, son rôle précis dans la phyllotaxie a été mentionné mais peu décrit. Nous avons caractérisé ou généré cinq nouveaux allèles *fil* mutant. Alors que neuf des dix mutants connus provenaient du même fonds génétique Ler, nos données montrent que des combinaisons d'allèles mutants *fil* et de **fonds génétiques génèrent des phénotypes variables**, affectant notamment le développement des fleurs et la phyllotaxie. L'étude quantifiée de la phyllotaxie indique que la **perte de fonction de fil** a des **effets** (directs ou indirects) à différentes étapes, notamment sur la **formation des entre-nœuds**, sur la **taille et la forme du méristème** et sur le contrôle de l'initiation des organes. Comme *FIL* est exprimé dans un petit territoire adjacent aux fleurs, ces données questionnent les mécanismes qui induisent ces effets à distance.

contexte

L'étude de la phyllotaxie a révélé à ma connaissance peu de mutants spectaculaires par des cribles génétiques aléatoires. Chez *A. thaliana*, les plus connus sont les mutants liés à l'auxine tels que *pin-formed1 (pin1)*, *pinoid (pid)* ou *monopteros (mp)*, générant des tiges sans fleurs et des méristèmes dans lesquels aucun organe ne se forme en périphérie (Reinhardt et al., 2003b). Chez le maïs, le mutant *abnormal phyllotaxis1 (abphyl1)* transforme la phyllotaxie normalement alternée (une feuille par nœud, angle de 180°) en type "opposée-décussée" (angles de 90° entre paires de feuilles opposées), observée chez d'autres espèces (Jackson and Hake, 1999). C'est *a priori* le seul exemple rapporté de mutant capable de transformer une phyllotaxie régulière d'un type en une phyllotaxie régulière d'un autre type (Kuhlemeier, 2007). La plupart des mutants ont souvent des motifs ou arrangements qui semblent irréguliers (par exemple Fal et al., 2017; Guenot et al., 2012; Itoh et al., 2000; Pinon et al., 2013), même si des patterns peuvent y être trouvés (Guédon et al., 2013a; Guenot et al., 2012). Alors que les changements de phyllotaxie sont courants entre groupes taxonomiques et qu'au sein même d'une plante plusieurs types de phyllotaxie régulières peuvent être produites selon le stade du cycle de vie, cette difficulté à atteindre par mutation des types de phyllotaxies régulières mais différentes interroge. On peut penser que cela traduit des contraintes importantes associées aux mécanismes qui génèrent la phyllotaxie, et qu'on ne

comprend toujours pas. Mais, l'exemple du maïs plaide pour essayer des mutagenèse dans d'autres espèces, car il est connu que l'espace des phénotypes accessibles par mutations est très dépendant des traits et des espèces (voir à ce sujet mes travaux de post-doctorat, projet n°2).

Au sein d'une même espèce, la variabilité génétique peut parfois être suffisante pour accéder par mutation à des espaces phénotypiques différents. Lors de sa thèse, Teva Vernoux a ainsi pu explorer la banque de mutants générés par mutagenèse T-DNA dans l'accession *Wassilewskija-4* (*Ws-4*), produite à l'institut J.-P. Bourgin parmi les collections du [VASC](#) (Versailles Arabidopsis Stock Center) (Ricou et al., 2024). Il a isolé plusieurs souches mutantes par un crible visuel sur les défauts d'architecture et de phyllotaxie, dont la souche **DRB27** (figure 24). Ce mutant, stérile et maintenu à l'état hétérozygote dans la souche, frappe par deux défauts majeurs. Tout d'abord, le développement floral est profondément affecté, avec des rares fleurs réduites, sans pétales ni étamines et dont la morphologie des carpelles et sépales restants est très perturbée. Très souvent, les fleurs sont absentes et sont remplacées par des petits filaments de 1 mm de long environ, dont l'identité n'est pas définie. Ensuite, ces organes, fleurs anormales ou filaments, sont distribués de façon très perturbée le long de la tige : des amas d'organes (entre-nœuds inférieurs ou égaux à 1 mm) sont espacés de longs entre-nœuds, contrastant avec la répartition régulière des fleurs sur une tige d'inflorescence d'*A. thaliana* (figure 24B-D). À notre connaissance, **ce phénotype particulier de phyllotaxie n'a pas été décrit**.

Ce mutant ne fait pas partie des lignées qui ont été maintenues et dont les séquences flanquantes des T-DNA ont été séquencées (Balzergue et al., 2001). L'identité moléculaire du ou des gènes affectés restait donc inconnue. Lorsque que je suis arrivé dans l'équipe en 2016, Anaïs Chaumeret, doctorante (2014-2017) sous la direction de Teva Vernoux, avait entrepris de caractériser ce mutant.

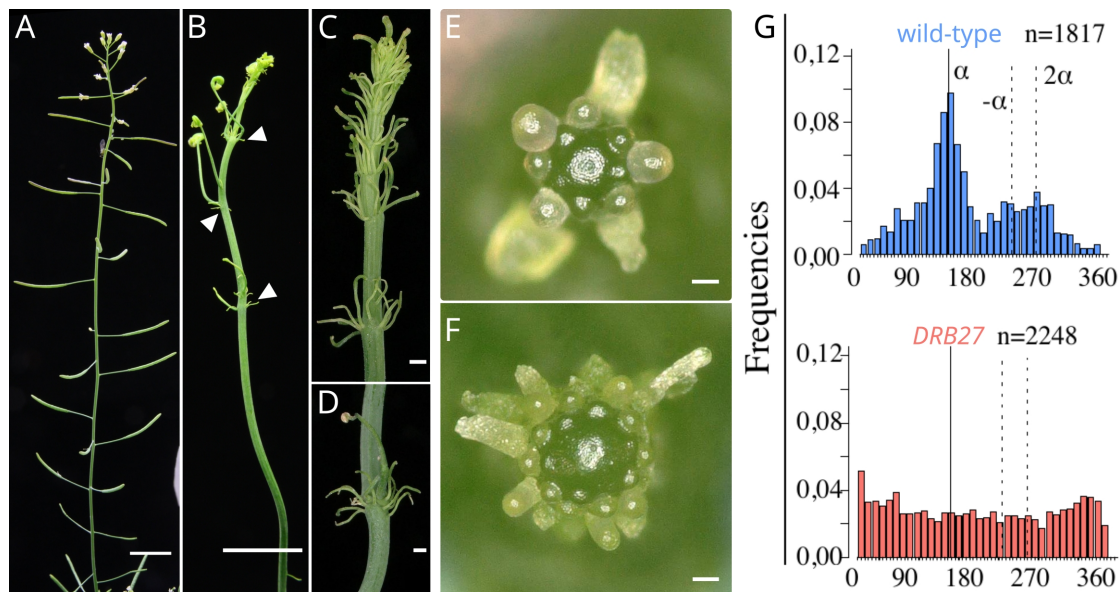


Figure 24: DRB27, un mutant spectaculaire de la phyllotaxie post-méristématique. A,B, Inflorescence sauvage (A, accession *Ws-4*) et *DRB27* mutante (B). C-D, Détails d'amas de filaments sur la tige, caractéristiques de ce mutant, à l'extrémité d'une branche (C) ou au milieu d'une tige (D). E,F, Observation (loupe) des méristèmes apicaux d'inflorescence sauvage (E) et mutant (F). Le mutant montre un méristème élargi dans lequel la distribution régulière des organes selon une spirale phyllotactique n'est plus du tout évidente. G, Distribution des angles entre organes successifs le long de la tige primaire d'inflorescence de plantes sauvages (bleu, N=39) et *DRB27* mutantes (rouge, N=33). α indique 137° , l'angle dominant chez *A. thaliana*, $-\alpha$ et 2α marquent les valeurs générées par des permutations, fréquentes même chez des sauvages (Guédon et al., 2013a; Landrein et al., 2015), voir aussi figure 3. Barres d'échelles: A,B = 1 cm ; C,D = 500 μm ; E,F = 100 μm . G extrait de Chaumeret, 2017.

Objectifs du projet et questions spécifiques

Le projet de thèse d'Anaïs Chaumeret avait pour but principal la caractérisation moléculaire et fonctionnelle du mutant DRB27. Considérant mon intérêt pour la phyllotaxie, ce projet constituait pour moi une base intéressante, soit pour prolonger les résultats obtenus par Anaïs en lien avec DRB27, soit pour développer des outils et méthodes permettant de caractériser d'autres souches mutantes isolées par Teva Vernoux dans la mutagenèse en fonds *Ws-4* du VASC (Chaumeret, 2017). J'ai donc assisté Anaïs sur différents aspects de sa thèse, puis j'ai poursuivi ce projet dans l'équipe après son départ, grâce à l'aide de notre technicienne Stéphanie Lainé et au concours de plusieurs étudiants.

En particulier, j'ai poursuivi les objectifs suivants :

- Développer des outils de génomique pour l'équipe ;
- Identifier le gène impliqué dans la souche mutante DRB27 ;
- Valider le(s) gènes candidats et clarifier le lien avec les phénotypes de phyllotaxie.

principaux résultats

1. L'analyse génomique du mutant DRB27 révèle un triple mutant d'insertion T-DNA.

S'il est possible d'isoler le locus d'insertion d'un T-DNA par des méthodes de PCR sélectives (O'Malley et al., 2007), la chute des coût de séquençage permet d'envisager des solutions par re-séquençage de génome entier et analyses génomiques. En récupérant les données de séquençage générées avant mon arrivée, j'ai d'abord identifié qu'elles n'étaient pas issu de rétro-croisement de DRB27 dans le fonds génétique *Ws-4*, mais d'un croisement avec un fonds génétique très différent, probablement *Col-0*. Profitant de cette confusion, et malgré le faible nombre de plantes F2 rassemblées dans le séquençage (sept, voir Chaumeret, 2017), j'ai appliqué une approche de cartographie par séquençage en masse de ségrégeants en analysant la variation des fréquences alléliques de *Col-0* et *Ws-4* le long des cinq chromosomes nucléaires d'*A. thaliana* (Besnard et al., 2017; Schneeberger, 2014). J'ai cartographié un intervalle de 1.8 Mbp à la fin du chromosome 2 (figure 25A,B). Une simple analyse des variations génomiques dans cette région produit de nombreux variants, mais avec un fort taux de faux positifs dû au fait que le génome de *Ws-4* n'est pas réassemblé et de moins bonne qualité que celui de la référence *Col-0*. J'ai alors développé des outils pour spécifiquement traquer l'insertion de T-DNA, basés sur l'analyse croisée des signaux laissés par les lectures appariées entre les génomes de la plante et du T-DNA (figure 25C,D). **La souche DRB27 a révélé contenir (au moins) 4 T-DNA insérés dans ou à proximité de trois gènes, validés par PCR : AUTOPHAGY 8E (ATG8E), FIL et le micro ARN MIR166A.** Espacées de 550 kbp, ces trois mutations sont liées génétiquement (<2 cM) et donc très difficiles à séparer (figure 25E).

2. Développement et intégration d'outils de génomiques pour des approches de génétique directe

En partie issu et adapté de mes travaux de post-doctorat (voir p. 38, voir aussi le code de [Andalusian Mapping](#)), la mise en place de ces outils dans l'équipe a ensuite pu me servir dans d'autres projets (voir p. 48 au sujet du BSA entre les accessions *Col-0* et *Tsu-0* pour le phénotype de bractée). Au vu de l'intérêt de plusieurs de mes collègues pour accéder à des approches génomiques dans des projets de génétique directe, j'ai ensuite exploré la possibilité de **développer des pipelines** (ou chaîne de traitement) qui soit à la fois **très automatisés et accessibles à des biologistes non bio-informaticiens**. Par ailleurs, je souhaitais un code plus modulaire, facilitant la mise à jour, ou le remplacement, ou l'utilisation optionnelle des divers logiciels utilisés, notamment via l'utilisation d'images docker pour faciliter l'installation. Sur le plan bio-informatique, je souhaitais incorporer les dernières technologies d'analyse de **variants structuraux**, dont la détection est compliquée en séquençage "shot gun" de petits inserts sur de plateformes de type Illumina. Ma méthode de détection des T-DNA pourrait par exemple s'intégrer comme une option à ce pipeline. D'un point de vue stratégique, ces outils pourraient me faciliter diverses collaborations sans me prendre trop de temps d'analyse. Yoan Coudert, chargé de recherche dans l'équipe,

était demandeur de tels outils dans le cadre d'un projet de mutagenèse sur la mouche modèle *Physcomitrium patens*, qu'il lançait avec sa doctorante Priyanka Patra (2021-2024). Ce projet pouvant servir de preuve de concept, j'ai accueilli deux stagiaires de master 2 en bio-informatique sur ce sujet (Romuald Marin en 2021 et Malik Talbi en 2022).

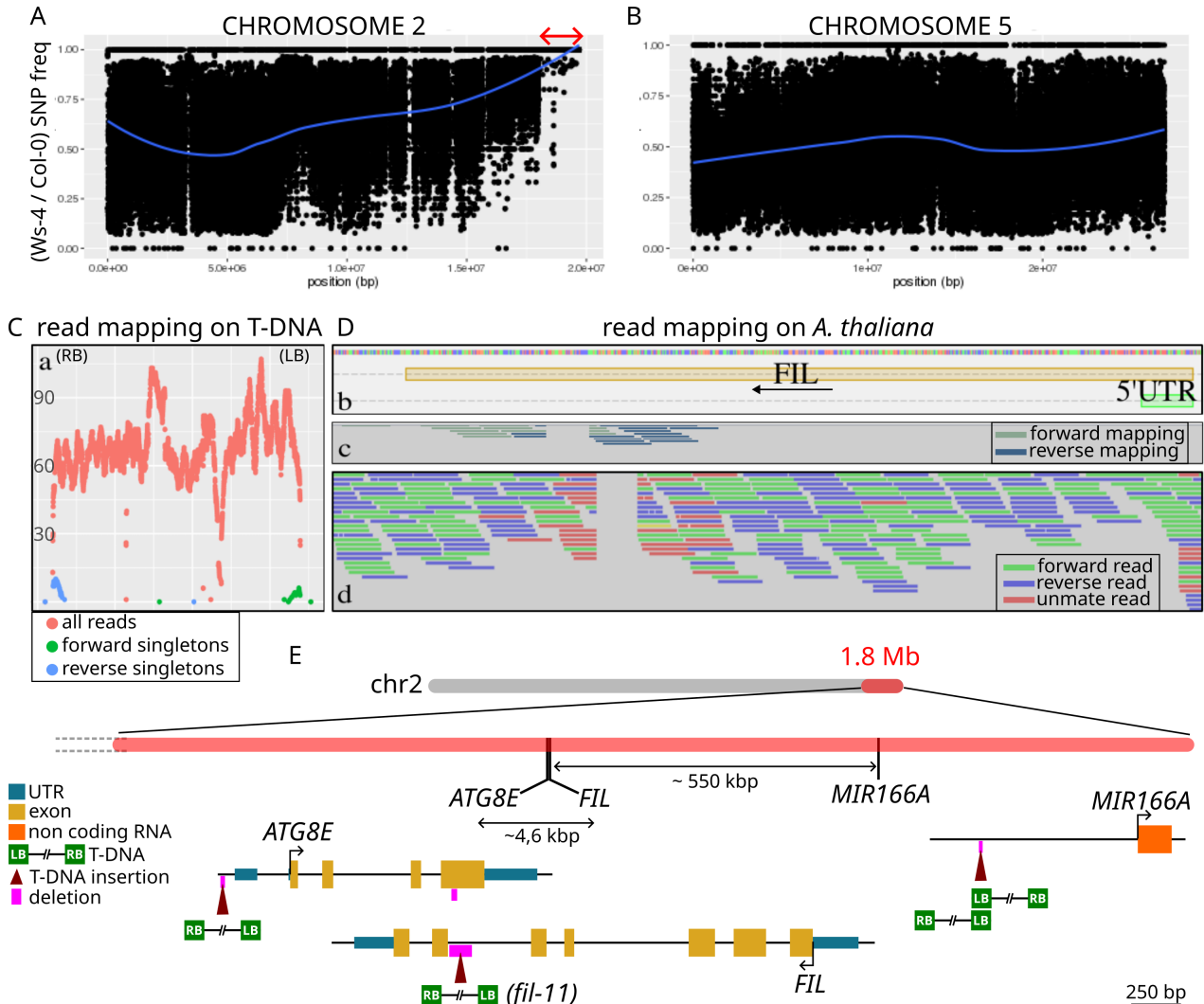


Figure 25 : Caractérisation moléculaire des mutations de la souche mutante *DRB27*. **A-B**, Cartographie génétique par re-séquençage du génome de mutants F2 issus d'un croisement entre *DRB27* et *Col-0* : les allèles de SNP associés à *Col-0* sont absents sur l'extrémité du chromosome 2 (**A**, flèche rouge), alors qu'une fréquence de 50% est attendue (ex. chromosome 5, **B**). Ligne bleue : courbe de tendance locale de la fréquence des allèles de *Ws-4* (méthode LOESS). **C-D**, Cartographie des loci d'insertions T-DNA par re-séquençage du génome mutant en lectures appariées (paired-end) (**a**) les séquences alignées sur le génome du T-DNA indiquent une très forte couverture (~60X en moyenne contre ~15X pour le génome de *A. thaliana*), suggérant l'insertion de quatre T-DNA. En bordure, des lectures désappariées ('singletons') sortantes permettent d'ancrer le T-DNA dans le génome de la plante en recherchant leurs lectures appariées concentrées dans un même locus. (**c**), exemple d'un des loci trouvés (gène *FIL*, **b**). Les orientations des lectures entre les 2 génomes sont compatibles avec une insertion. (**d**) L'alignement de toutes les lectures sur le génome de la plante confirme la présence de lecture désappariées flanquant le locus et indique également une délétion au locus de l'insertion du T-DNA. **E**, Cette méthode identifie quatre insertions T-DNA (dont une probable en tandem inversé) dans l'intervalle génétique cartographié en **A**, proche des gènes *ATG8E* (338 bp avant le codon ATG), *FIL* (entre les exons 5 et 6, causant la mutation rebaptisée *fil-11*) et dans le promoteur du gène *MIR166A* (800 bp avant l'annotation). Ces trois insertions ont été validées par PCR. Les gènes sont représentés dans l'orientation du chromosome. A-D issu de Chaumeret, 2017.

L'approche est basée sur celle développée dans Besnard et al., 2020, et optimisée pour permettre l'analyse

Fonctionnement General du pipeline

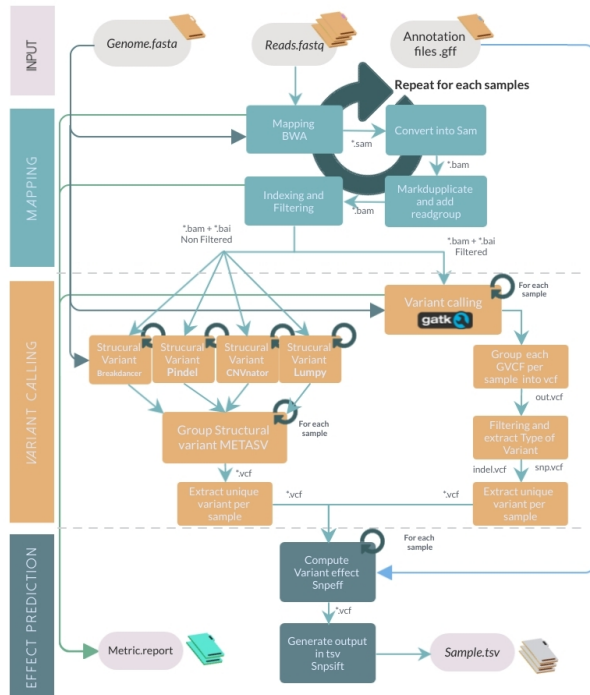


Figure 26 : automatisation d'un pipeline bio-informatique d'analyse de variants génomiques pour lignées mutantes ([Parallel-Variant-Calling](#))

en parallèle de plusieurs lignées mutantes pour améliorer la spécificité de la sélection de variants (figure 26). Nous avons mise en place la technologie Nextflow pour gérer l'automatisation du pipeline, facilitant la mise à l'échelle du nombre des données et offrant des outils de contrôle du processus. Le code est disponible sous github ([Parallel-Variant-Calling](#)).

Toutefois, j'ai décidé de ne pas poursuivre le projet. Le code n'est pas encore tout à fait fonctionnel et demande du travail, notamment pour apporter une vraie plus value par rapport à l'existant sur l'analyse des variants structuraux. Le séquençage "long read" offre par ailleurs des alternatives pour analyser ces variations, et leur coût devrait devenir très compétitif par rapport aux technologies "short reads". Malgré l'apport indéniable de Nextflow dans l'automatisation des étapes et de leur enchaînement, ce pipeline nécessite un travail important pour son développement, sa maintenance et son adaptation aux variations inévitables des design expérimentaux. Délivrer une solution "en un clic" aux biologistes expérimentaux demande un travail plus conséquent que ce que j'avais anticipé, m'accaparant sur un projet technologique au détriment de questions biologiques. Ma stratégie consiste désormais à me focaliser sur les développements technologiques dont j'ai directement besoin dans mes projets de recherche.

3. les phénotypes de la souche DRB27 résultent de la perte de fonction de FILAMENTOUS FLOWER

Par qRT-PCR, A. Chaumeret a montré que l'expression des trois gènes *ATG8E*, *FIL* et *MIR166A* était diminué dans les méristèmes mutants *DRB27* (Chaumeret, 2017). Pour identifier la ou les mutations causales du phénotype *DRB27*, nous avons testé chaque gène par complémentation. Sans grande surprise, une version fonctionnelle du gène *ATG8E* ne restaure pas le phénotype sauvage (Chaumeret, 2017). En effet, *ATG8E* fait partie du cœur de la machinerie de l'autophagie (Sláviková et al., 2005). Ce processus métabolique vésiculaire permet la dégradation de composants cellulaires, et est essentiel pour l'homéostasie cellulaire et le recyclage de l'azote, notamment lors de la senescence ou suite à des stress biotiques ou abiotiques (Avila-Ospina et al., 2014). Avec neuf paralogues (*ATG8 A-I*), la fonction *ATG8* semble très redondante et aucun phénotype développemental n'a été rapporté pour les mutants simples ou les sur-expressions (Chen et al., 2019). La question était plus ouverte pour *FIL* et *MIR166A* car ces gènes, exprimés tous les deux dans la zone abaxiale des organes en développement (voir figure 13 pour *FIL*), font partie de la même voie d'établissement de la polarité adaxiale/abaxiale (Manuela and Xu, 2020). **Les complémentations indiquent que seul *FIL* est capable de restaurer complètement les phénotypes sauvages** de développement de la fleur et de phyllotaxie, même si *MIR166A* montre un niveau partiel de complémentation (figure 27A-F). Pour exclure le rôle de *MIR166A*, nous avons isolé deux nouveaux allèles de *FIL* dans *Ws-4* depuis la collection du VASC, sélectionnés d'après les séquences flanquantes des T-DNA puis confirmées par PCR. Ces allèles sont vraisemblablement des pertes de fonction totale ("knock-out", k-o). Les lignées mutantes portant ces deux nouveaux allèles, renommés *fil-12* et *fil-13* (l'insertion T-DNA

dans DRB27 ayant été renommée *fil-11*, figure 27H-R) montrent exactement les mêmes phénotypes que DRB27, concernant les fleurs et les filaments, les amas d'organes le long des tiges et la morphologie du méristème. Ces résultats indiquent que la perte de fonction *FIL* est bien à l'origine des phénotypes sélectionnés dans la souche DRB27.

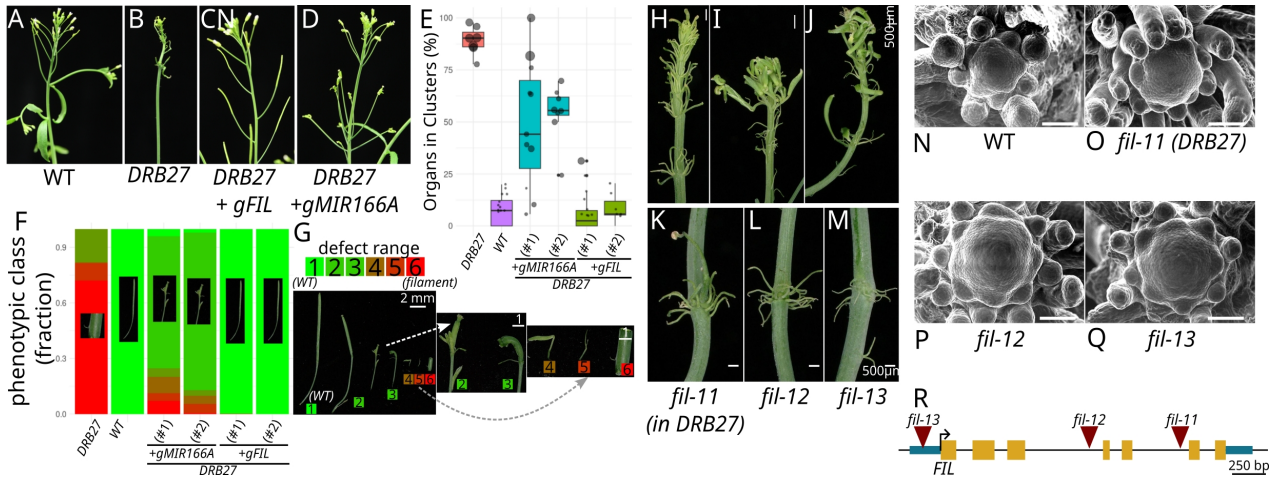


Figure 27 : La perte de fonction de *FIL* est principalement responsable des phénotypes observés dans la souche DRB27. A-G, *FIL*, mais pas *MIR166A*, complète totalement le mutant DRB27. Les séquences génomiques ('g') sauvages (*gFIL* et *gMIR166A*) de ces deux gènes ont été transformées dans la souche DRB27 et la complémentation est observée sur les inflorescences (A-D). Quantifications montrant que *gFIL* complète les amas d'organes sur la tige mature (E) ainsi que les problèmes de développement des fleurs (F,G). En E la taille des points correspond à la taille des clusters (de 2 à 8 organes). H-R, Deux nouveaux allèles mutants de *fil* dans *Ws-4* phénotypent DRB27 à l'échelle macroscopique (H-M, échelles : 500 μ m) comme dans le méristème (N-Q, microscopie électronique à balayage, échelle : 50 μ m). R, Carte des insertions des T-DNA causant les nouvelles mutations perte-de-fonction *fil-12* et *fil-13*.

4. L'expressivité des phénotypes engendrés par la perte de fonction *FIL* est modifiée par le fonds génétique

Le mutant *FIL* étant connu depuis longtemps, nous avons cherché à comprendre pourquoi l'intensité du phénotype observé dans la souche DRB27 n'a pas été rapporté par les nombreux travaux précédents (Bonaccorso et al., 2012; Chaudhury, 1993; Chen et al., 1999; Douglas et al., 2017; Goldshmidt et al., 2008; Kumaran et al., 2002, 1999; Lugassi et al., 2010; Nole-Wilson and Krizek, 2006; Okada et al., 1989; Sawa et al., 1999a, 1999b; Shi et al., 2018; Siegfried et al., 1999). Sur les 10 allèles connus publiés de *FIL* (*fil-1* à *fil-10*), *fil-9* est dans un fonds *Col* (Lugassi et al., 2010) et tous les autres dans le fonds *Landsberg erecta* (*Ler*), couramment utilisé dans les années 1990 pour la génétique. Pour comprendre l'effet des allèles et du fonds génétique, nous avons donc généré **différentes combinaisons d'allèles et de fonds génétiques pour tester le rôle de ces différents facteurs** (figure 28). Nous avons notamment généré des nouveaux allèles k-o dans le fonds de référence *Col-0* par *crispr-cas9* (*fil-14* et *fil-15*, figure 29A). **Dans le fonds *Ler*, le développement des fleurs est moins affecté et les filaments moins nombreux qu'avec le même allèle *fil-8* dans *Ws-4*.** Curieusement, *fil-8* provoque un effet fort sur les fleurs dans l'accension *Landsberg-1* (*La-1*), censée être l'accension ancestrale de *Ler*. La mutation *erecta* ne réduisant pas les phénotypes dans *Ws-4*, il est probable que *Ler* ait accumulé d'autres mutations responsables de la moindre expressivité du phénotype *fil* dans les fleurs. Pour les fleurs, *Col-0* montre une expressivité intermédiaire entre *Ws-4* et *Ler*. Concernant la formation des amas d'organes sur les tiges matures, on constate également une plus forte expressivité dans *Ws-4*, suivi de *Ler* et *Col-0*. Toutefois, comme la mutation *erecta* réduit la taille des plantes et des entre-nœuds en général, la présence d'amas est visuellement moins évidente et nécessite de laisser grandir la plante plus longtemps pour les observer, expliquant peut-être

leur absence de documentation dans la littérature. Chez *Ws-4* en revanche, et dans une moindre mesure chez *Col-0*, la présence de long entre-nœuds nus fait ressortir les amas d'organes par contraste.

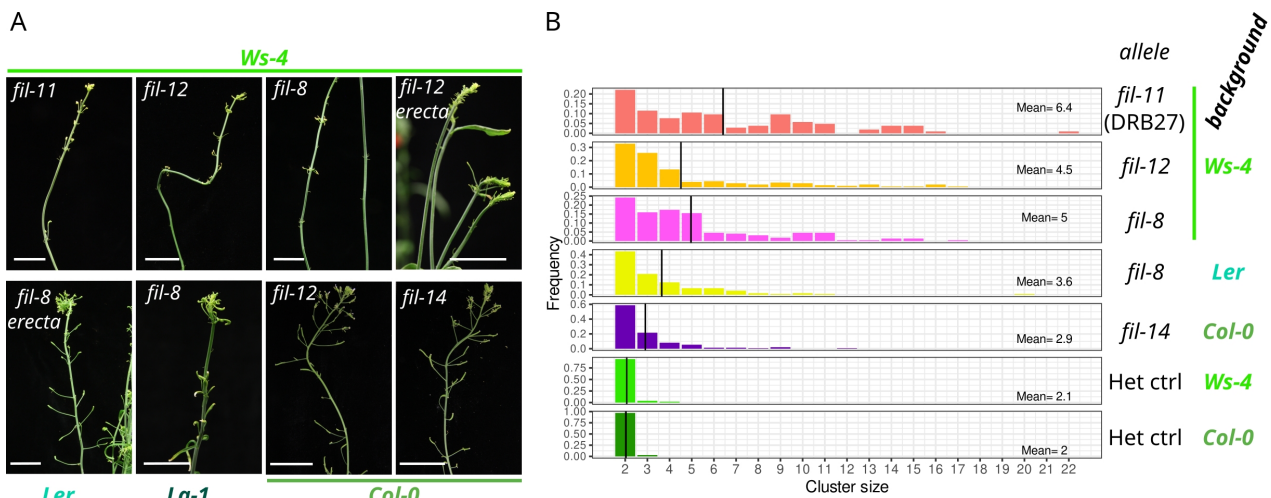


Figure 28 : Effets de la perte de fonction *FIL* sur la phyllotaxie dans différents fonds génétiques. **A**, Détails d'inflorescences de plusieurs allèles *fil* (tous des k-o validés ou probables) dans différents fonds génétiques. Le fonds génétique *Ws-4* (rang du haut) produit essentiellement des fleurs extrêmement perturbées ou des filaments, et forme des amas très visibles sur les tiges. **B**, Distribution de la taille des amas ("Cluster") dans les différentes combinaisons d'allèles et de fonds génétiques. Les amas dans un fonds *Ws-4* contiennent plus d'organes (les contrôles sont des plantes sauvages ségrégeantes parmi la même descendance que les plantes mutantes). Barres d'échelle en A : 2 cm.

5. Bien qu'il existe un effet du fonds génétique, la perte de fonction *FIL* génère des défauts de phyllotaxie importants dont une partie à des origines méristématiques.

Bien qu'il soit moins marqué que dans *Ws-4*, les défauts de phyllotaxie causés par une perte de fonction *FIL* dans *Col-0* sont très importants sur les tiges matures, qu'on les mesure par la formation des amas (figure 28B, figure 29B-F) ou par la distribution globale des angles de divergence et de la taille des entre-nœuds (figure 29G,H). Le mutant *fil* montre notamment une proportion élevée de petits angles, autour de 50° dans les deux directions. La phyllotaxie sur la tige mature résulte de plusieurs étapes de développement, démarrant avec l'initiation des organes dans le méristème apical suivi de la formation des entre-nœuds. En comparant la phyllotaxie dans le méristème et sur la tige, il est possible d'évaluer ces différentes contributions (Peaucelle et al., 2007). La **morphologie des méristèmes *Ws-4* est extrêmement affectée**, avec un élargissement conséquent, un bombement spectaculaire et des problèmes de phyllotaxie évidents (figure 30). Si l'élargissement est également évident dans *Col-0*, la phyllotaxie est plus régulière, ne montrant pas autant de défaut que sur la tige. Ceci suggère l'**effet d'étapes post-initiations dans le contrôle de la phyllotaxie dans *fil/Col-0***, lors du développement des **entre-nœuds** par exemple. Toutefois un examen attentif de *fil/Ws-4* suggère aussi que le positionnement des organes n'est pas aléatoire et pourrait suivre une spirale de Fibonacci avec des **décalages angulaires fréquents qui se propagent** sur plusieurs initiations. Dans *fil/Col-0*, de tels décalages et leur propagations sont également visibles, bien que moins intenses (figure 30A,B). Chez les sauvages, les décalages angulaires sont immédiatement compensés et n'affectent pas la géométrie globale du motif. Il est donc possible que la **perte de *FIL* diminue la robustesse du motif**, c'est à dire la capacité à compenser des **déviations angulaires ponctuelles dans les sites d'initiation des organes**.

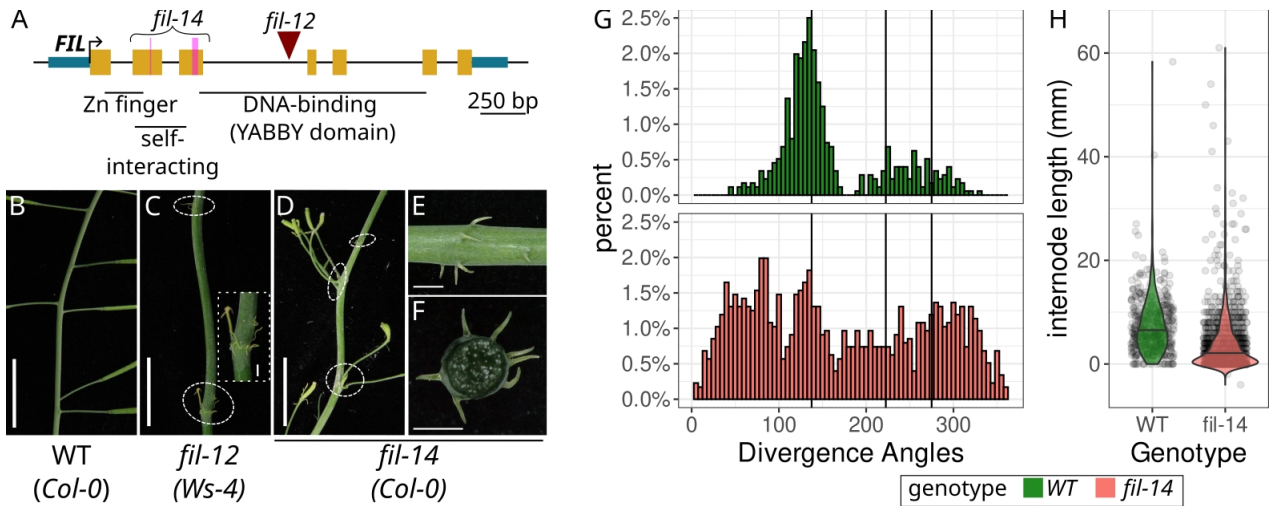


Figure 29 : Effets de la perte de fonction *FIL* sur la phyllotaxie post-méristématique dans le fonds génétique *Col-0*. **A**, Deux nouveaux allèles *k-o* utilisés, *fil-12* (insertion T-DNA dans *Ws-4*) et *fil-14* (délétions induites par crispr-Cas9 dans *Col-0*). La correspondance avec les domaines fonctionnels de la protéine *FIL* sont indiqués. **B-F**, perturbations de la phyllotaxie sur la tige. Des amas (entouré en pointillé) d'organes se forment sur les tiges dans les deux fonds génétiques, mais sont plus marqués chez *Ws-4*. **E-F**, Dans les amas, la répartition angulaire des organes est visiblement affectée (F correspond à la coupe de la tige de part et d'autre de l'amas en E). **G-H**, Quantifications des défauts de phyllotaxie du mutant *fil-14* dans *Col-0* (rouge, N=18 plantes ; contrôle sauvage en vert, N=16). **G**, Angles de divergence entre organes consécutifs le long de la tige (barres verticales indiquent 137°, 222° et 274°, les trois valeurs autour desquelles se concentrent les mesures chez un sauvage). **H**, Taille des entre-nœuds (barres horizontales sur les distributions = médiane : WT = 6,2 ; *fil-14* = 2,0). Les mesures ont été effectuées manuellement pour les mutants et automatiquement avec le robot plant-imager pour le sauvage (voir p. 70) . Échelles : B-D = 1 cm ; E,F = 1 mm.

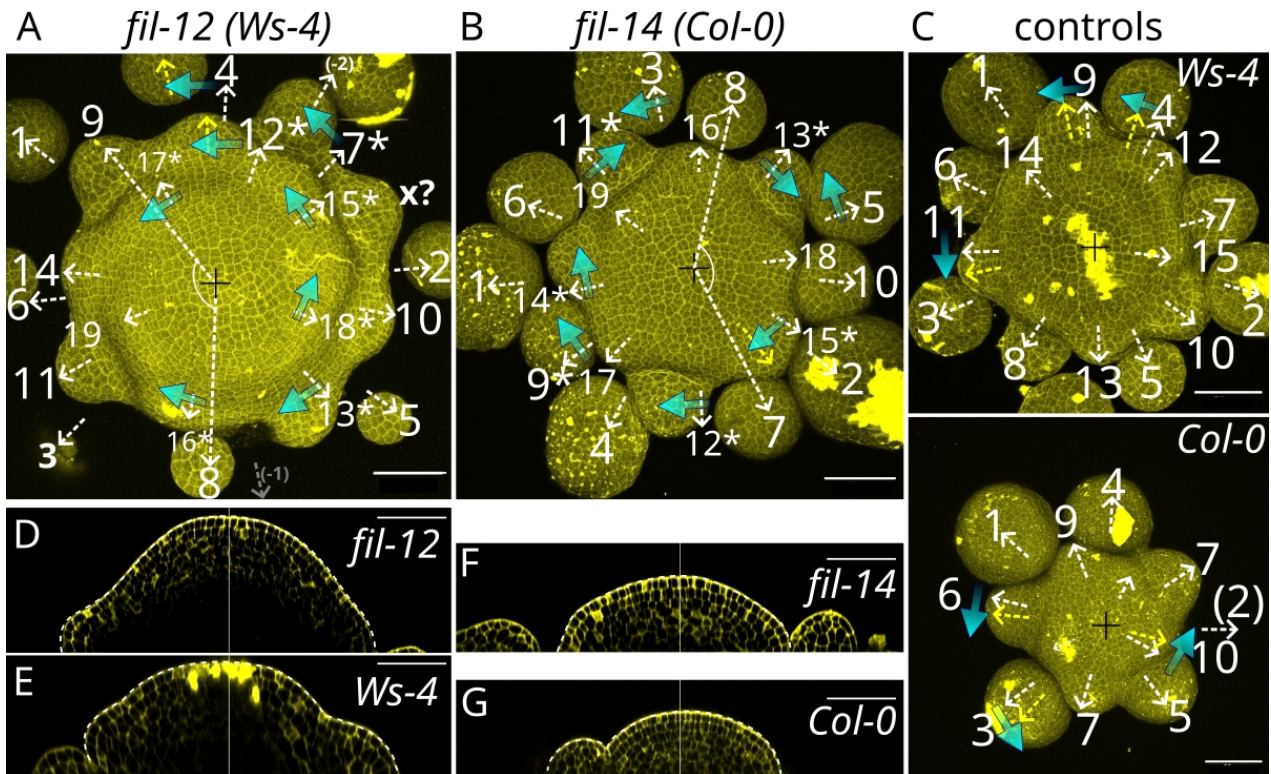


Figure 30 : Effets méristématiques de la perte de fonction *FIL* dans différents fonds génétiques. Méristèmes d'inflorescence observés par microscopie confocale (jaune : marquage des parois au iodure de propidium), en

projection maximale vue du dessus (A-C) ou en coupe longitudinale médiane (D-G). Le méristème s'élargit très visiblement dans les deux fonds génétiques (A,B) et se bombe spectaculairement chez *Ws-4* (D). A-C, Interprétations de la phyllotaxie. Chaque organe est numéroté selon un ordre putatif de production, du plus vieux au plus jeune, déduit de leur taille et de leur position dans une spirale de phyllotaxie de référence, avec un angle régulier de 137° . Le centre du méristème est repéré par une croix noire et les flèches blanches pointillées indiquent l'angle de 137° avec l'organe précédent. Certains angles dévient parfois (flèches tangentielles bleues : déviations ; flèches radiales pointillées jaunes : nouvelles positions une fois recentrées sur l'axe de l'organe). Chez les sauvages, les déviations n'impactent pas l'angle suivant qui retrouve la valeur canonique de 137° à partir du centre de l'organe (flèches jaunes, compensation immédiate). Chez les mutants, plusieurs angles consécutifs sont déviés (*) avant qu'un angle de 137° se rétablisse (pas de compensation immédiate). Chez *Ws-4*, un effet visuel de spirale dans la zone périphérique semble accompagner les décalages. Un organe supplémentaire est présent (x?), sans qu'il soit possible de le rattacher à une position de la spirale de référence. Échelles : $50\ \mu\text{m}$.

impacts

Les résultats de ce projet non pas encore été publiés dans un journal à comité de lecture.

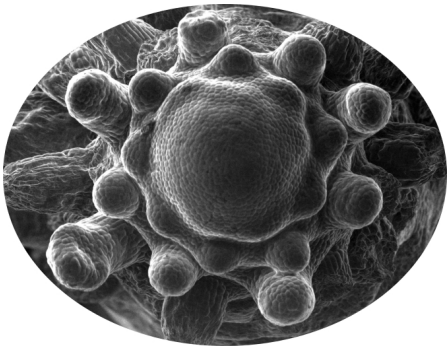


Figure 31 : "bourgeoisement tentaculaire", photo lauréate du concours CNRS "La preuve par l'image" 2023.

La caractérisation moléculaire du mutant DRB27 a été décrite dans la thèse d'Anaïs Chaumeret (Chaumeret, 2017).

Certains outils génomiques utilisés sont disponibles sur mon compte github ([Andalusian Mapping](#) et [Parallel-Variant-Calling](#)).

Dans le cadre de ce projet, nous avons soumis à l'édition 2023 du [concours CNRS "la preuve par l'image"](#) un cliché en microscopie électronique à balayage réalisé par Stéphanie Lainé d'un méristème mutant *fil* dans le fonds *Ws-4* (le nouvel allèle *fil-12* que nous avons caractérisé dans *Ws-4*). Cette photo a également été reprise par le magazine scientifique grand public Epsilon dans son numéro de juin 2024.

perspectives

J'envisage deux axes de recherches pour poursuivre ce travail.

Le premier consiste à identifier les modificateurs génétiques qui augmentent la pénétrance du *k-o fil* dans le fonds génétique *Ws-4*. Il serait intéressant de savoir si les différents phénotypes (formation des fleurs/filaments, formation des amas sur la tige, élargissement du méristème, bombement du méristème) dépendent de modificateurs différents ou pas. Comme expérimenté avec le projet bractée entre les accessions *Tsu-0* et *Col-0*, (voir p. 48) caractériser les bases génétiques dans des variations naturelles n'est pas aisé. Les génomes de *Ws-4* et *Col-0* sont très différents (1 SNP tous les 160 pb en moyenne, Chaumeret, 2017) et les modificateurs naturels ne sont pas uniquement des pertes de fonctions, rendant leur identification difficile. Grâce au matériel génétique que nous avons généré, une première exploration de la transmission des phénotypes "atténués" (comme dans *Col-0*) ou "accentués" (comme dans *Ws-4*) pourra nous indiquer la complexité de l'architecture de ce trait et s'il est réaliste d'en identifier les bases. Par ailleurs, une approche par gène candidat peut aussi être démarrée, en investiguant par des approches de doubles mutants des gènes connus pour leurs allèles particuliers dans *Ws-4* (Bowman et al., 1993) ou pour leur effet sur des phénotypes spécifiques comme le bombement du méristème (Bertran Garcia de Olalla et al., 2024; Kinoshita et al., 2020; Sang et al., 2022).

Le deuxième axe consiste à identifier les mécanismes déclenchés par la perte de FIL dans le méristème et de reconstituer le rôle de FIL dans ce système développemental à l'échelle moléculaire, en identifiant les fonctions en interaction et en aval de ce régulateur transcriptionnel putatif. Nous explorons prioritairement ce thème aujourd'hui, grâce à Elliott Cordier, étudiant en M2 (voir partie perspectives, p.85)

travail d'encadrement

Ce projet m'a offert une première expérience d'**encadrement -non officielle- avec une doctorante**. J'ai d'abord beaucoup accompagné techniquement **Anaïs Chaumeret** sur les aspects de génétique, de génomique, de phénotypage de la phyllotaxie, d'imagerie confocale et d'analyse de données. J'ai ensuite participé activement à la correction et relecture de son manuscrit de thèse et à la préparation de son oral de soutenance.

J'ai également encadré plusieurs étudiants en début de formation (**Timothée Darbois en L3, Gwennogan Dubois et Elliott Cordier en M1**), avec des stages tournés vers la découverte du modèle expérimental, l'apprentissage de techniques (imagerie, génétique) ou d'outils d'analyses (ImageJ, R, python...), ou encore la mise en place de méthodes de travail. Les étudiants semblent avoir apprécié ces premières expériences de recherche qui les a plutôt inciter à continuer dans la voie de la recherche.

Dans le cadre du projet de génomique, les étudiants **Romuald Marin et Malik Talbi** effectuaient leur dernier stage long pour l'obtention d'un **master 2 professionnel** en bio-informatique. Le stage était conçu comme un projet d'ingénierie bio-informatique pour assembler et optimiser le pipeline : cela les préparait à des missions d'ingénieurs d'étude, qui possèdent une expertise technique forte, les obligeant à être autonome, et qui doivent rendre des livrables définis sur des pas de temps assez courts. Ils ont d'ailleurs tous les deux trouvé des emplois par la suite comme IE CDD dans des laboratoires de recherche académiques.

Enfin, j'ai pu mener ce projet grâce au travail de fond de **Stéphanie Lainé**, notre **technicienne d'équipe**. Il a été l'occasion de la former et de la faire monter en compétence sur différentes techniques : expériences de génétique (génération de lignées, schémas de croisements, analyse de ségrégations, nomenclatures, pratiques de stockage et d'archivage des lignées...), imagerie MEB et confocale et analyse des images, génération de lignées mutantes par crispr-cas9.

4. Projet n°3 - Développement de solutions sur mesure et open-source de phénotypage 3D de précision

contributeurs et contributrices

Personnes encadrées: Julie Charlaix (IR), Aurèle Macé (IR), Marie Tisserand (AI), Alexis Lacroix (IE), Jonathan Legrand (IR), Raphaël Colin (L3), Grégoire Hosy (L3), Evan Zarella (M1)

Collaborations: Peter Hanappe, David Colliaux, Timothée Wintz, Nabil Ait Taleb, Aliénor Lahlou (Sony CSL); Franck Hétroy-Wheeler, Katia Mirande (Université de Strasbourg, laboratoire Icube); Jonathan Legrand (RDP Mosaic-signal); Christophe Godin (RDP Mosaic); Teva Vernoux (RDP Signal)

résumé

La phyllotaxie de l'inflorescence de la plante modèle *A. thaliana* offre un formidable système pour étudier les mécanismes de robustesse développementale de l'échelle moléculaire à l'échelle macroscopique. Régularités et variations dans le motif enregistrent les états du système au cours du temps et renseignent sur les mécanismes impliqués. Le contrôle génétique de la fréquence des variations offre notamment un moyen d'accéder à l'échelle moléculaire en connaissant les gènes impliqués. Toutefois, **utiliser la phyllotaxie et sa robustesse comme un trait quantitatif dans des approches de génétique** nécessitent de mesurer de larges échantillons, ce qui n'est pas réaliste avec une méthode manuelle. Toutefois, les outils existants de capture et quantification de l'architecture aérienne 3D de plantes sont insatisfaisants. En effet, il est difficile de trouver une solution technique qui réunisse la résolution adaptée à la finesse des inflorescences d'*A. thaliana*, le débit souhaité et un coût raisonnable. Par ailleurs, l'accessibilité open-source de tous les composants et la modularité du design font quasi systématiquement défaut. Pourtant ces deux propriétés sont essentielles à des technologies de recherche fondamentale, favorisant de manière complémentaire le partage, la reproductibilité, le maintien dans le temps, l'amélioration, l'adaptation sur-mesure ou le ré-emploi. Nous avons donc **conçu une plateforme de phénotypage de précision en 3D pour les parties aérienne de plantes** qui répond à nos besoins de quantifier la phyllotaxie chez *A. thaliana* tout en intégrant des contraintes fortes pour assurer son utilité auprès d'une large communauté de recherche : des composants **open-source**, un **coût bas**, un **design modulaire**, couvrant **toutes les étapes de l'acquisition à l'extraction des traits** d'intérêt. Ces contraintes nous ont conduit à proposer **une nouvelle solution robuste et sobre de reconstruction 3D** adaptées à notre design, produisant des **nuages de points** des plantes imagées. Notre plateforme est capable de reconstruire en 3D **plusieurs plantes d'architectures variées** et de quantifier des **différences de phyllotaxie entre génotypes** d'*A. thaliana*. Nous avons également développé une **méthode pour évaluer le résultat des phénotypages de phyllotaxie**, pouvant accélérer l'exploration de paramètres ou la comparaison des performances de pipelines. L'interprétation des nuages de points étant clef pour l'utilisation des données, nous avons produit **cinq méthodes de segmentation différentes** permettant de mesurer la phyllotaxie, d'identifier les organes ou de suivre la croissance. Enfin, pour répondre aux **besoins d'apprentissage** des nouvelles technologies prometteuses de **l'intelligence artificielle (IA)**, nous avons travaillé à la **génération de plantes virtuelles plus réalistes**.

contexte

un défi scientifique : enregistrer les "bruits de la phyllotaxie" pour révéler le fonctionnement du méristème

Dans les trente dernières années, la compréhension de la phyllotaxie a fait des progrès immenses, à la fois sur le plan théorique et sur l'identification des mécanismes biologiques concrètement impliqués (Kuhlemeier, 2017). La **microscopie quantitative** de rapporteurs fonctionnels sur apex vivants permet d'étudier le phénomène en temps réel, là où il se passe, dans le méristème. Les nouveaux biosenseurs d'hormones permettent même de visualiser les signaux échangés dans le tissu (plus précisément leur perception cellulaire), comme l'auxine, l'acteur central de la phyllotaxie, ou les gibbérellines (Galvan-Ampudia et al., 2020; Shi et al., 2024). Ces approches de microscopie quantitatives localisées dans le méristème permettent de tester le modèle actuel des champs inhibiteurs avec une finesse et une acuité inégalée. Elles permettent de ré-interroger des aspects essentiels de la biologie du système comme l'auto-organisation du transport d'auxine ou la réponse des cellules à ce signal. Toutefois ces approches ont aussi des **limites importantes**. Les dissections des méristèmes et leur observations en microscopie confocale ne sont pas compatibles avec du haut débit, et le suivi temporel d'apex disséqués en culture est expérimentalement difficile et exigeant. De plus, un apex disséqué ne laisse voir au mieux qu'une dizaine d'organes distribués autour du méristème, et seulement quelques uns aux stades précoces clés pour étudier le déterminisme phyllotactique du site d'initiation. Dans ces conditions, il n'est pas aisé d'étudier la régularité du phénomène sur de nombreuses itérations.

En revanche, étudier la **phyllotaxie à l'échelle macroscopique peut être très complémentaire des travaux à l'échelle du méristème**.

D'abord le phénotype est accessible sans dissection et peut donc se prêter à des expériences impliquant de nombreuses plantes, comme en génétique, si sa mesure est automatisée. Ensuite, comme elle contient de nombreuses fleurs, une hampe florale permet de mieux évaluer la robustesse d'un motif de phyllotaxie. Par ailleurs, cette accumulation de fleurs a une autre signification biologique. Construit par itérations successives, le **motif de phyllotaxie** constitue une **mise en mémoire du fonctionnement de son méristème**, un enregistrement partiel de la balance permanente entre renouvellement du méristème et production d'organes. Quantifier la phyllotaxie et ses variations peut donc révéler comment cette balance a fonctionné au cours du développement post-embryonnaire et à quel point est elle sensible à certaines variations, génétiques ou environnementales.

Enfin, quantifier plus facilement les variations de la phyllotaxie pourrait renouveler la façon d'étudier ce phénomène biologique. Les mutants fortement affectés dans l'auxine nous sont permis de comprendre le rôle central de cette hormone. Mais lorsque la formation des organes est supprimée comme dans un mutant *pin1*, il n'est plus possible de comprendre comment la formation d'un organe donné contrôle l'initiation des futurs organes dans le temps et l'espace, c'est à dire le cœur de la mécanique de phyllotaxie. Autrement dit, pour aller plus loin dans la compréhension de la phyllotaxie, il est sans doute nécessaire de perturber le système de manière plus modérée, pour le laisser fonctionner avec des perturbations. En reprenant l'idée que **les irrégularités d'un motif trahissent autant les mécanismes sous-jacents que ses régularités** (Refahi et al., 2016), **mesurer et modéliser ces perturbations** pourraient ainsi permettre de combler les trous de connaissances entre des modèles théoriques aux fortes capacités prédictives mais très abstraits, et leur incarnation dans des mécanismes moléculaires, cellulaires et développementaux concrets.

un défi technologique : un phénotypage 3D précis, accessible et adaptable

Quantifier des phénotypes macroscopiques sur une plante est une tâche fastidieuse qui demande du temps et de la main d'œuvre. A l'ère "omique", tirée par l'essor de la génomique, le phénotypage haut-débit est vite apparu comme le facteur limitant pour aller du gène au phénotype, aussi bien pour répondre à des questions fondamentales de génétique fonctionnelle que pour l'amélioration variétale et l'agriculture (Furber and Tester, 2011). Ces dernières années, la "phénomique" a elle aussi pris son essor et de multiples plateformes de phénotypage haut-débit ont émergé (Mir et al., 2019; Yang et al., 2020), aussi bien au champ qu'en environnement intérieur contrôlé (Li et al., 2021).

Si le problème pourrait sembler résolu, **la diversité des besoins et des contextes de phénotypage n'en est pour autant pas intégralement couverte**. Même en se focalisant sur les traits d'architecture et développement aériens qui nous intéressent, il n'existe toujours pas aujourd'hui de solution qui permette de répondre à notre besoin de phénotypage de la phyllotaxie d'*A. thaliana*, dont les mesures sont toujours effectuées manuellement (voir [Annexe 1](#)). Il existe des raisons techniques, notamment liée au phénotypage en 3D avec une résolution submillimétrique : les dispositifs d'acquisitions et de traitement du signal dans ce cas sont beaucoup plus complexes qu'en imagerie 2D et donc moins répandu (Paulus, 2019). Une autre raison importante est le coût très élevé associés aux dispositifs de phénotypages de plantes (Li et al., 2021). Dans le cas de la 3D, les senseurs laser de bonne résolution type LiDAR (Light Detection And Ranging) sont chers et les technologies alternatives bon marché type "Time of Flight" (par exemple la Kinect) ne produisent pas des nuages de points d'une grande résolution (Li et al., 2022; Paulus, 2019). Le coût est aussi en partie lié au développement de ces outils, impliquant des technologies complexes et des compétences multidisciplinaires (robotique, électronique, vision par ordinateur, infographie, intelligence artificielle, biologie végétale...). Le coût est également tiré à la hausse par les objectifs de débit, dont le dimensionnement correspond souvent aux besoins définis dans des approches de génétique quantitative ou des programmes de sélection. Enfin, le coût augmente encore avec la combinaison de plusieurs senseurs ou l'ajout de dispositif de contrôle des cultures (arrosage, lumière, ...) et parfois des serres ou chambres de culture dédiées pour effectuer des mesures et cultiver les plantes en continu. Face à la tendance au gigantisme des plateformes de phénotypage, se développent **des approches alternatives financièrement "abordables" (affordable)**, souvent fabriquées sur mesure, basées sur l'essor de technologies bon marché aussi bien pour les senseurs que pour la robotique (Paulus et al., 2014; Samiei, 2020). En acceptant des débits réduits et/ou des mesures moins précises, ces plateformes répondent tout de même aux besoins de nombreuses équipes de recherche qui n'ont pas les moyens d'investir dans des plateformes commerciales.

Au delà de l'aspect financier, l'**accessibilité** d'une technologie pour des projets de recherche académique revêt également d'autres dimensions. Les questions de recherche sont très spécifiques, nécessitant des outils particuliers. Les laboratoires produisent souvent des prototypes dédiés, dont la réalisation est facilitée s'il existe des éléments facilement réutilisables provenant d'autres prototypes. De plus, les questions de recherche comme les technologies étant en perpétuelle évolution, ces prototypes doivent souvent se mettre à jour s'adapter au cours du temps. Investir dans un équipement onéreux pour le temps d'un projet de recherche si cet équipement devient rapidement obsolète ou inadapté peut même dissuader d'adresser certaines questions scientifiques. L'accessibilité d'une technologie dans un projet de recherche est donc favorisée par la capacité des scientifiques à s'approprier, ré-utiliser et modifier ses composants. Plusieurs propriétés sont importantes pour arriver à cet objectif : une conception transparente et une propriété intellectuelle libre associée à un maximum de composants (**open-source**), une **documentation** appropriée sans quoi même un code ouvert peut se révéler inutilisable, un **design modulaire** qui permet de remplacer des éléments ou les ré-utiliser dans un autre contexte, un **haut niveau d'intégration** qui permet aux développeurs de modifier facilement le système tout en garantissant aux expérimentateurs finaux une utilisation viable (c'est à dire pratique, fiable, reproductible) de l'outil dans leur projet de recherche.

La situation dans la recherche a son parallèle en agriculture : les dernières solutions technologiques de phénotypage 3D ne sont ni accessibles ni adaptées à des petites exploitations au capital limité, aux volumes de production modestes et présentant des fortes spécificités locales (types de culture, topographie locale, ...). Des tâches pénibles, comme le désherbage à la main dans de petites productions maraîchères, n'ont pas de solutions technologiques adaptées.

C'est pour proposer des solutions de phénotypages innovantes et adaptées à des contextes de recherche ou agricoles décrits ci-dessus que s'est monté le projet H2020 [Robotics for Microfarms \(ROMI\)](#).

Objectifs du projet

L'intérêt scientifique de mesurer la phyllotaxie chez *A. thaliana* à l'échelle macroscopique et l'absence de solution technologique existante ont créé l'opportunité pour développer une plateforme de phénotypage basée sur différents critères qui répondent à des besoins non couverts actuellement :

- un phénotypage **3D** suffisamment **précis** sur les parties aériennes de plantes, notamment les inflorescences d'*A. thaliana* et compatible avec d'autres plantes ;
- Un **débit** compatible avec des centaines de plantes ;
- Un plateforme **accessible** dans tous ces aspects : bon marché, open-source et documentée, modulable et adaptable par les développeurs, fournissant pour les expérimentateurs un environnement intégré de l'acquisition à l'extraction du trait d'intérêt.

Cette plateforme de phénotypage de précision en milieu contrôlé a constitué un des trois développements robotiques du projet ROMI, les deux autres étant un robot désherbeur (le "rover") et une caméra mobile sur câble au dessus de planches maraîchères (le "cablebot", voir <https://romi-project.eu/>)

principaux résultats

1. Création d'une plateforme intégrée de phénotypage 3D de précision, à bas coût, open-source et modulaire (plateforme romi)

La plateforme de phénotypage romi est présentée figure 32.

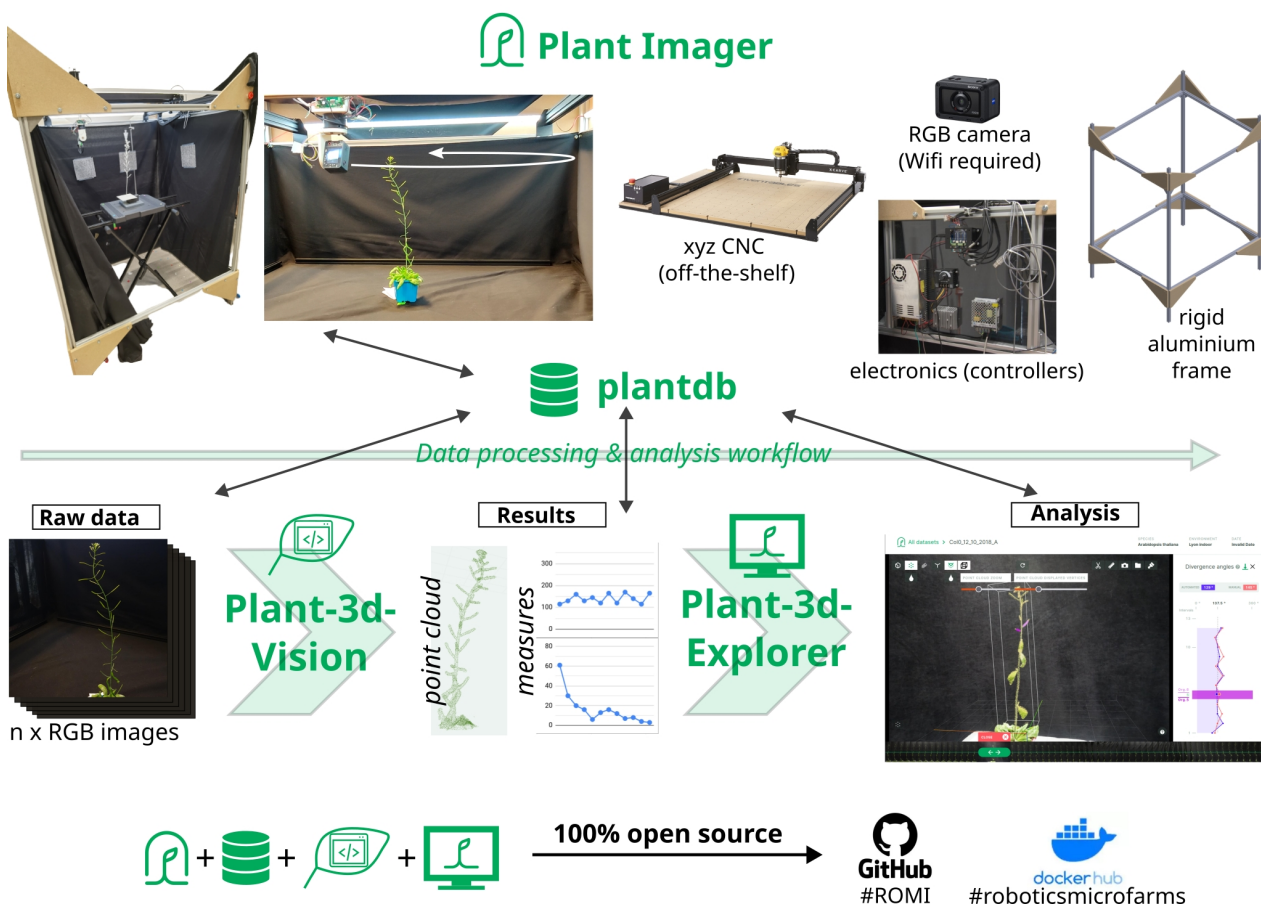


Figure 32 : Plateforme de phénotypage romi. La plateforme est constituée de différents modules qui permettent d'effectuer l'ensemble des étapes de phénotypage de l'acquisition d'une plante individuelle à l'extraction des traits d'intérêt et leur analyse. Ces modules principaux sont le **Plant imager** (cabine d'acquisition robotisée), **plantdb** (une

base de donnée permettant le stockage de l'ensemble des données générées, **plant-3d-vision** (une suite logicielle permettant de reconstruire un modèle 3D de l'échantillon imagé et d'en extraire des traits phénotypiques) et le **plant-3d-explorer** (une interface web permettant de visualiser dans un navigateur les résultats de la reconstruction 3D et de l'analyse phénotypique). L'ensemble du code est open-source et les modules peuvent fonctionner en docker.

L'acquisition se fait grâce à une station fixe nommée le **Plant imager**, dans lequel est placée une plante individuelle en pot (design 'plant-to-sensor', Yang et al., 2020) autour de laquelle tourne un bras robotisé tenant une caméra qui prend des images RGB et les envoie automatiquement par Wifi à l'ordinateur de contrôle. Le mouvement du bras robotisé portant la camera est assuré par un ensemble moteur piloté par ordinateur (CNC, pour Computer Numerical Control). Celui-ci comprend un portique acheté dans le commerce déjà assemblé (Xcarve) assurant les déplacements du bras selon les axes en xyz et d'un cardan ("gimbal") conçu sur mesure assurant le mouvement de rotation de la caméra selon l'axe panoramique. Les axes d'inclinaison et de tangage ("tilt" et "roll") sont fixes dans les dernières versions (Plant imager v2 et v3). La Xcarve est une machine CNC bon marché et populaire, prisée par les petites entreprises et bénéficiant d'une communauté active associée aux ateliers de bricolages amateurs ("fablab", makers, "DIY", ...).

L'analyse des images acquises permet de réaliser une reconstruction 3D et d'en extraire des traits d'intérêt et est réalisée par une suite logicielle appelée **plant-3d-vision**. La vérification des résultats de phénotypage peut se faire via une interface dédiée de type web, le **plant-3d-explorer**. Enfin, une base de données de type REST API (**plantdb**) permet de stocker et servir les données générées tout au long du processus.

Cette conception remplit des objectifs d'accessibilité:

- le **prix** est d'environ **4500 euros** (voir table 1, p. 72). Le prix pourra être encore diminué par le remplacement de la caméra et de quelques autres composants électroniques par des alternatives meilleur marché.
- sa conception est **modulaire** : ces quatre composants principaux ou modules (le Plant imager, plantdb, plant-3d-vision et plant-3d-explorer) interagissent au cours d'une expérience de phénotypage mais peuvent fonctionner séparément et se voir remplacer au cours du temps. De manière moins visible, chaque module est lui même très modulaire. Par exemple, le bras du Plant imager peut-être intégralement changé ou bien il est possible d'y fixer une autre caméra. Plant-3d-vision contient plusieurs pipeline d'analyse différents, basé sur des algorithmes de nature différentes (voir figure 41 et 42). Un logiciel de gestion de chaîne de traitement (pipeline manager) est utilisé pour faciliter la création de pipelines différents à partir d'ajout ou de ré-emploi d'éléments déjà présent. Cette modularité a déjà été exploitée dans le cadre du projet romi lui-même avec des composants matériels et logiciels partagés entre les trois plateformes robotiques du projets. Par exemple, le portique moteur CNC est identique entre le Plant Imager et le rover.
- le **code** est **open source** disponible en ligne et accompagné d'une **documentation** activement mise à jour.
- l'**expérience utilisateur** est **facilitée** par la mise à disposition d'images docker qui épargnent l'installation et offrent des meilleurs garantie de reproductibilité, par l'exécution intégrée d'analyses complexes via le pipeline manager, et par une interface de visualisation dédiée.

Si son design "plant-to-sensor" et ses dimensions imposent des contraintes sur le type de plantes et de traits qui peuvent être étudiés et peuvent limiter le débit, la plateforme romi peut reconstruire en 3D des architectures de plantes très variées, en taille, géométrie et topologie et n'est donc pas strictement inféodée à la plante modèle *A. thaliana* (figure 33).

Ce prototype offre donc la possibilité à des petits (micro) laboratoires d'acquérir un outil de phénotypage qui peut répondre à certains besoins de phénotypage pour un faible investissement en capital. Nous proposons donc de garder le nom initial de plateforme romi pour "RObotics for Microlabs". Toutefois, le montage, la maintenance et le maintien d'une telle plateforme requièrent un haut niveau de compétence en robotique, électronique et informatique. Son adaptation au phénotypage d'autres plantes et/ou d'autres traits requerront également des compétences en vision par ordinateur et graphisme.

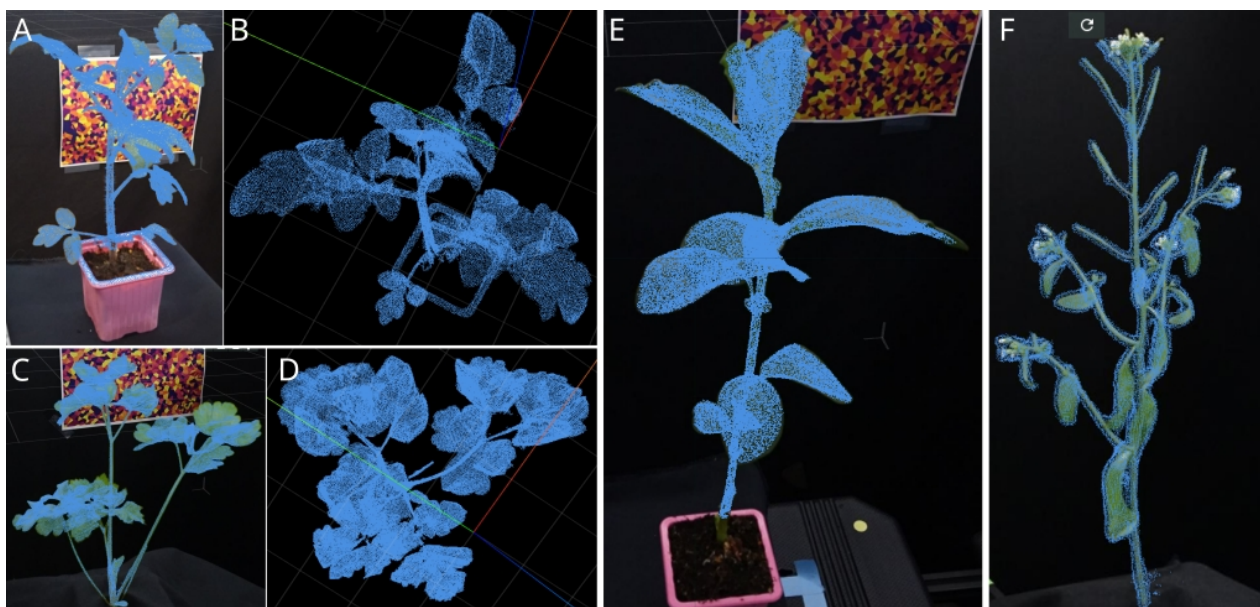


Figure 33 : Diverses plantes reconstruites en 3D, sous forme de nuages de points (bleu). Les nuages de points sont superposés à l'une des vues acquises par le plant-imager (sauf B et D qui sont des vues 3D libres depuis le dessus du nuage de points). **A,B**, tomate (*Solanum lycopersicum*). **C-D** persil (*Petroselinum crispum*), **E**, fève (*Vicia faba*). **F**, *A. thaliana* (accession Ler). Ces images sont des captures d'écran du plant-3d-explorer.

Je détaille les performances de la plateforme en terme de phénotypage ci-après.

Paramètres	MVS-Pheno 2 (*2plus)	plateforme romi
prix	~7500 USD	~4500 euros
Nombre de caméra	2 (*3)	1
Résolution des images	24 Mpx	1,6 Mpx
Nombre d'images	56 = 28 x 2 (*>90)	45
temps d'acquisition	1 min	~7-8 min
temps de reconstruction (laptop)	~20-40 min	~7-8 min
3D reconstruction	open source (OpenMVG and OpenMVS)	open source (Colmap + ré-implémentation open source d'un Volume Carving)

Table 1 : comparaison des plateformes romi et MVS-Pheno 2 (ou 2plus ; Li et al., 2024; Wu et al., 2022), adaptées pour le phénotypage 3D de précision 'low-cost' de petites plantes individuelles en pot.

2. Une solution de reconstruction 3D innovante pour le phénotypage à bas coût.

L'utilisation d'images RGB pour la reconstruction 3D est favorisée par les solutions de phénotypages à bas coût (Paulus et al., 2014) : du smartphone au réflexe numérique, il existe un large

choix de cameras de prix et qualité variables (mais bien moins cher qu'un LiDAR) et les images sont faciles et rapides à acquérir par rapport à de l'imagerie active. **Deux grandes familles d'algorithmes** permettent ensuite de reconstruire un modèle de surface 3D d'une scène ou d'un sujet acquis par une série d'images chevauchantes avec une multiplicité d'angles de vues : le "**Structure-from-Motion**" (**SfM**) souvent associé au MultiView Stereo (MVS) ou le "**Volume Carving**". Ces approches ont toutes les deux été utilisées pour le phénotypage de parties aériennes de plantes de manière récente. Par exemple, on peut mentionner pour le SfM les travaux suivants : Andújar et al., 2018; Cao et al., 2019; Li et al., 2022; Liu et al., 2017; Rossi et al., 2020; Salter et al., 2021; Wu et al., 2022, 2020; Yang and Han, 2020 ; et ceux-ci pour le Volume Carving : Artzet et al., 2019; Das Choudhury et al., 2020; Klodt and Cremers, 2015; Koenderink et al., 2009; Scharr et al., 2017.

Brièvement, les techniques photogrammétriques de SfM-MVS se basent sur l'identification de pixels identiques mais imagés selon des vues différentes (parallaxe) pour créer une carte des profondeurs (Smith et al., 2016), quand le Volume carving produit une reconstruction volumétrique (un "visual hull") à partir des silhouettes d'un sujet présentes dans des images 2D (Laurentini, 1994).

Des récentes améliorations algorithmiques ont rendu les programmes de Volume Carving efficaces en limitant leur besoin en mémoire et puissance de calcul (Scharr et al., 2017). De plus, le Volume Carving peut se concentrer sur un sujet dans une image si celui-ci est bien segmenté du reste (étape de "masking"). Il génère des reconstructions 3D moins bruitées que celles en SfM-MVS. Toutefois le Volume Carving nécessite de connaître avec précision les poses des images et les paramètres de la caméra. Il requiert donc une très bonne calibration et est souvent associé à des dispositifs de caméras fixes et de contrôle moteur très précis (par exemple Artzet et al., 2019; Das Choudhury et al., 2020). Contrairement aux techniques de photogrammétrie conventionnelles, le SfM ne nécessite pas de calibration des paramètres intrinsèques de la camera qui sont estimés en même temps que les poses (Smith et al., 2016). En revanche le MVS est une étape qui requiert plus de mémoire et de puissance de calcul que le Volume Carving notamment car toute la scène est reconstruite, ce qui pose le problème de la sélection de la plante dans le nuage de points final. Par ailleurs, la qualité des nuages de points générés par SfM-MVS est favorisée par la résolution des images (nombre de pixels) et le nombre et la diversité des prises de vues, ce qui augmente les coûts de calculs et les besoins de stockage mémoire. De plus, jusqu'à récemment, peu de logiciels libres implémentaient une solution satisfaisante de SfM-MVS.

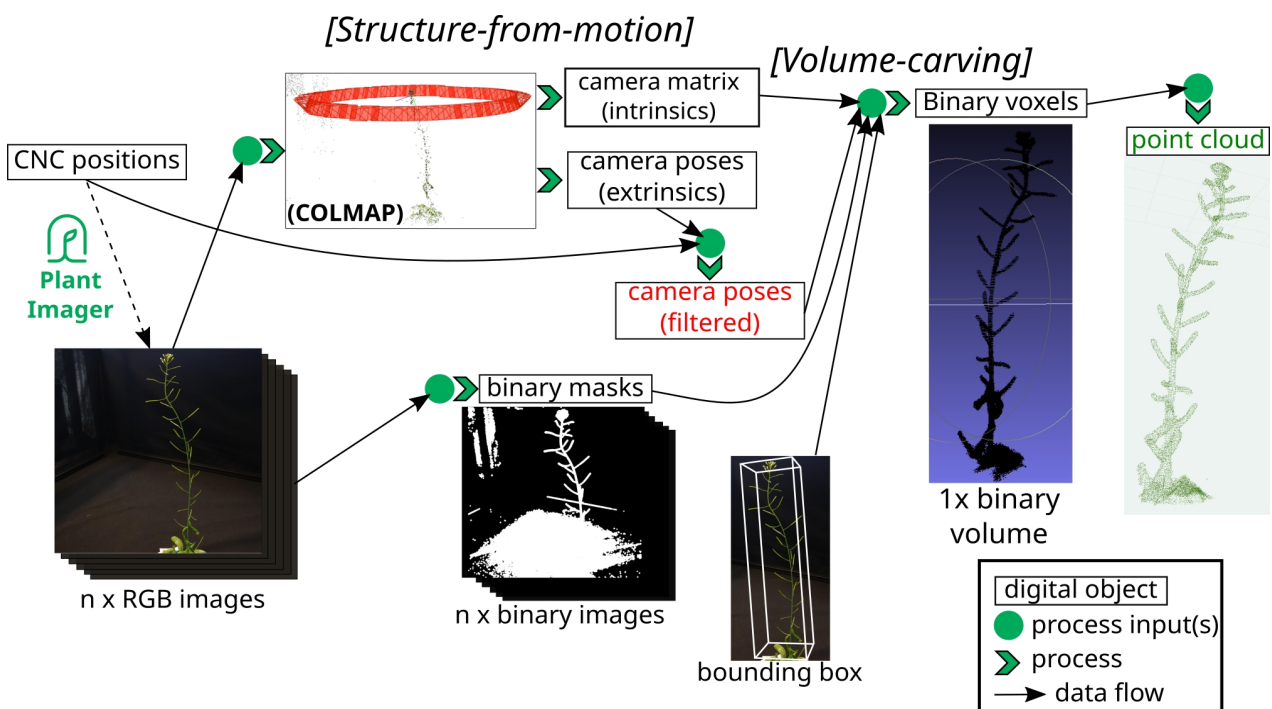


Figure 34 : Principe de reconstruction 3D mise en œuvre dans plant-3d-vision combinant SfM et Volume-Carving.

Le bras robotisé du plant-imager commandé par CNC décrit un cercle autour de la plante en faisant 'n' arrêts définis, lors desquels la caméra prend une photo de la plante, envoyée par wifi à l'ordinateur principal. Les n images acquises sont traitées par colmap qui calcule le modèle de caméra pour chaque image (paramètres intrinsèques et extrinsèques). Les extrinsèques sont utilisés pour calculer les poses de la caméra, calibrées dans le monde réel grâce aux positions de la CNC. Les poses indiquant des écarts trop grands entre la CNC et le calcul de colmap sont éliminées. En parallèle, un filtre basé sur les couleurs RGB (méthode "Linear SVM") est appliqué et génère des masques binaires. Peu spécifique, il sélectionne tous les pixels de la plante avec quelques autres éléments de la scène, mais élimine de nombreux pixels non-plante. Les masques, les poses filtrées et les intrinsèques servent un algorithme de Volume Carving restreint à une volume donné par la "bounding box" (définie par l'utilisateur). Le volume final ("visual hull") correspond à l'ensemble des voxels dont la projection sur les masques correspond à un pixel blanc. Finalement, des points sont générés à l'interface entre l'intérieur et l'extérieur du visual hull par une méthode de "level set".

Dans plant-3d-vision, nous avons donc conçu **une approche hybride qui combine SfM et Volume Carving** (figure 34). Grâce au SfM, il n'est pas nécessaire de calibrer les paramètres intrinsèques de la camera et ni les poses des moteurs, ce qui peut compenser un manque de fiabilité associé à de la robotique bon marché et un assemblage non professionnel. Grâce au Volume Carving, des images de faible résolution peuvent être utilisées (table 1) et un nuage de points de la plante directement reconstruit, rapidement et pour un coût de calcul limité. Cet assemblage nous permet aussi de reposer entièrement sur du code open-source. Une telle combinaison n'a, à notre connaissance, pas été utilisée dans le cadre du phénotypage de plante et présente **des propriétés particulièrement adaptée à notre contexte de technologies bon marché et accessibles**. Très récemment, des plateformes très similaires à romi ont vu le jour montrant l'intérêt pour ce genre de technologies dans le domaine (Li et al., 2022; Rossi et al., 2020; Wu et al., 2022, 2020), toutes basées sur du SfM-MVS exclusivement. Seul MVS-Pheno2 (Wu et al., 2022) utilise un logiciel de reconstruction 3D open-source, mais l'ensemble du code ou des instructions d'assemblage ne sont pas accessibles et documentés. Notre plateforme romi est compétitive sur différents aspects (Table 1).

Notre approche permet de **reconstruire en 3D une diversité d'architecture de plantes** et de structures végétales de **formes variées** (feuilles ou branches) allant de moins de 1mm à plusieurs décimètres (figure 33). Notamment, les **inflorescences d'*A. thaliana***, faites majoritairement de structures fines et allongées (tiges et siliques) génèrent des nuages de points très nets et complets (figure 35A,B). Lorsque la plante est correctement reconstruite (voir ci-dessous), plus de 94% des fruits sont correctement identifiés sur la tige.

Toutefois, nous observons une **qualité variable** des reconstructions 3D, avec une tendance à obtenir des nuages de points amincis et décalés dans les parties hautes de la plante (figure 35C,D). Parfois le nuages de points est totalement morcelé et la structure de la plante est perdue (figure 36F). La survenue de ces reconstructions de **mauvaise qualité** est très variables dans le temps, se situant autour de **10%** en moyenne (figure 35E). Pour la phyllotaxie, l'amincissement des nuages de points induit une rupture du maillage et l'impossibilité de segmenter les fruits dans les parties hautes de la plante (figure 35C,D), réduisant le nombre de mesures possibles.

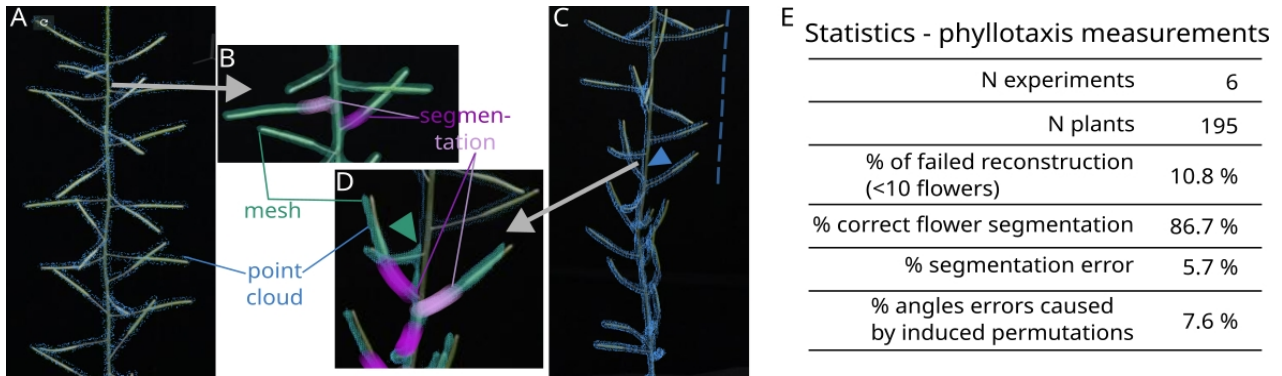


Figure 35 : Évaluation des reconstructions 3D par la plateforme romi. A-B, Exemple de reconstruction 3D fidèle. La tige principale d'inflorescence et ses fruits mûrs sont bien capturée par les nuages de points (bleu, A). Ce nuage de points permet de calculer un maillage (vert, B, détail de la zone indiquée en A) et ensuite de segmenter les fruits dont la base est identifiée par les halos magentas. C-D, Exemple de reconstruction 3D altérée. C, le long de la tige, à partir d'une certaine hauteur (pointillés bleus), le nuages de points s'amincit et se décale visiblement de l'image (tête de flèche bleue). D, (détail de la zone indiquée en C), cet amincissement du nuage de points ne permet pas le calcul du maillage qui se stoppe, empêchant la segmentation des fleurs sur tout le reste de la tige. E, statistiques de reconstruction 3D. Les reconstructions 3D altérées comme en C-D laissant moins que dix fleurs sont indiquées, d'autres erreurs de segmentations (faux positifs ou faux négatifs) et des erreurs affectant l'ordre dans lequel les organes -pourtant correctement segmentés- sont distribués le long de la tige, affectant le calcul de l'angle de divergence (voir aussi figure 40A).

Nous avons identifié un **facteur clé à l'origine de ces dégradations** de la qualité des nuages de points : une **mauvaise estimation de la pose de la caméra sur certaines vues**. En effet, cette erreur produit un décalage dans l'élimination de voxel par l'algorithme de Volume Carving qui affecte alors des voxels appartenant à la plante. Nous avons montré que le logiciel de SfM utilisé (Colmap) est stochastique et produit des estimations de poses variables à partir des mêmes images (figure 36A). Ce comportement n'est vraisemblablement pas particulier à Colmap mais inhérent aux algorithmes utilisés dans le SfM. Ainsi, de manière aléatoire, le SfM peut calculer pour une même acquisition des jeux de poses qui produisent une reconstruction 3D de bonne ou de mauvaise qualité. Cette légère variabilité n'a en général pas de conséquence dans une procédure classique de SfM-MVS, mais elle a un impact très fort dans un couplage SfM-Volume Carving. Par ailleurs, nous ne pouvons pas nous passer de l'estimation des poses par SfM en calibrant les positions des moteurs sur un parcours de camera de référence car celles-ci ne sont pas totalement reproductibles (figure 36B-D). Nous avons alors implémenté une **solution qui consiste à filtrer les positions** lorsque les calculs de colmap et les commandes demandées à la CNC sont trop discordantes (figure 36E). Sans déterminer s'il s'agit d'une mauvaise estimation de colmap ou d'un mauvais positionnement du moteur, **l'élimination de ces vues aux poses douteuses** lors de l'étape de Volume Carving suffit à **restaurer un nuage de points de qualité** (figure 36F,G). Si trop de vues consécutives sont éliminées générant un angle aveugle important, le calcul de SfM est relancé pour tenter d'obtenir un nouveau jeu de poses plus favorable. Cette technique améliore considérablement la robustesse des reconstructions 3D. Nous terminons actuellement la caractérisation exhaustive de cette méthode de filtration des poses par consensus CNC-SfM sur tous les degrés de liberté de la caméra. Nous explorons aussi une méthode consistant à rendre l'algorithme de Volume Carving plus tolérant aux petits décalages de pose.

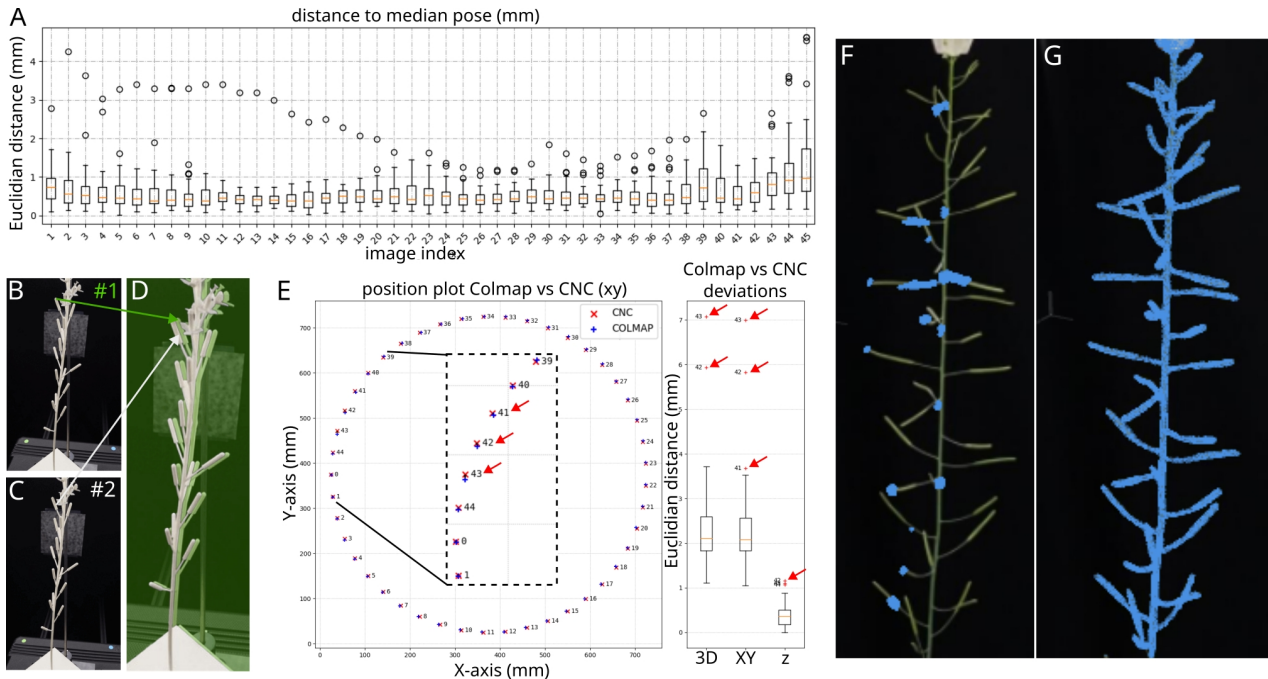


Figure 36 : Sources de variabilité dans la reconstruction 3D et récupération de l'intégrité des nuages de points par filtration des poses de caméras incertaines. **A**, Stochasticité du calcul des poses par le logiciel tiers de SfM colmap. Le même jeu de donnée d'acquisition est analysée 30 fois indépendamment par colmap, la variabilité de la pose calculée pour chaque vue ($n=45$, en abscisse) est représentée sous forme de boxplot de la distance euclidienne avec la pose médiane des répétitions. **B-D**, variabilité des commandes moteur: depuis la position de base, la même pose est demandée 2 fois indépendamment au bras robotisé et une image est acquise après arrivée à destination (**B**, **C**). **D**, la superposition des 2 images (#1 en vert, #2 en blanc) montre un décalage du sujet, indiquant que la position de la caméra n'est pas exactement la même. **E**, Comparaison des poses demandées aux moteurs CNC et calculées par colmap, pour chaque position XY sur le cercle de rotation autour de la plante (gauche) et distribution (en boxplot) des écarts (en distance euclidienne) pour toutes les vues sur différentes coordonnées (3D, XY et z). Certaines vues sont plus distantes, dépassant les 5 mm d'écart (flèches rouges, à l'intérieur du cercle un zoom de ces positions est réalisé dans l'encastré en pointillé). **F,G**, La suppression de ces vues lors de l'étape de Volume Carving (**G**) permet de restaurer une grande partie du nuages de points (bleu) par rapport à une reconstruction qui les conserve toutes les vues (**F**).

3. Un outil pour quantifier la phyllotaxie chez *A. thaliana* : une preuve de concept

Concernant les mesures de phyllotaxie sur des inflorescences d'*A. thaliana*, nous avons évalué la fiabilité des mesures par comparaisons avec une méthode manuelle. Une fois éliminé visuellement les erreurs de segmentations (<6%, figure 40) et les permutations induites par des erreurs de squelette (<8%), **les valeurs des angles de divergence et des longueurs entre-nœuds mesurés entre fruits correctement segmentés sont proches des mesures manuelles** ($R^2=0.8$, figure 37A,B), elles-mêmes sujettes à incertitude ($\pm 10^\circ$ sur les angles et ± 1 mm sur les entre-nœuds), mais plus variables (figure 37C,D), en particulier sur les petits entre-nœuds inférieur à 2mm. Ceci explique la tendance à inverser l'ordre de fruits très rapprochés sur la tige, générant artificiellement des angles de divergence permutés (figure 40). Malgré ces incertitudes, **la plateforme romi est capable de détecter les différences de phyllotaxie chez un génotype connu pour sa variabilité de phyllotaxie**, le mutant *ahp6* (Besnard et al., 2014a), et ceci même en prenant les données brutes sorties de l'analyse (avec erreur de segmentation et de permutation, figure 38). La différence entre les méthodes manuelle et automatique est faible lorsque l'on considère plusieurs plantes. Par ailleurs, l'acquisition d'une plante avec le Plant imager s'effectue en 5 à 8 minutes quand 30 minutes, souvent à deux personnes et nécessitant une grande attention, sont nécessaires avec la méthode manuelle. Les analyses peuvent ensuite s'effectuer en lot de manière totalement automatisée.

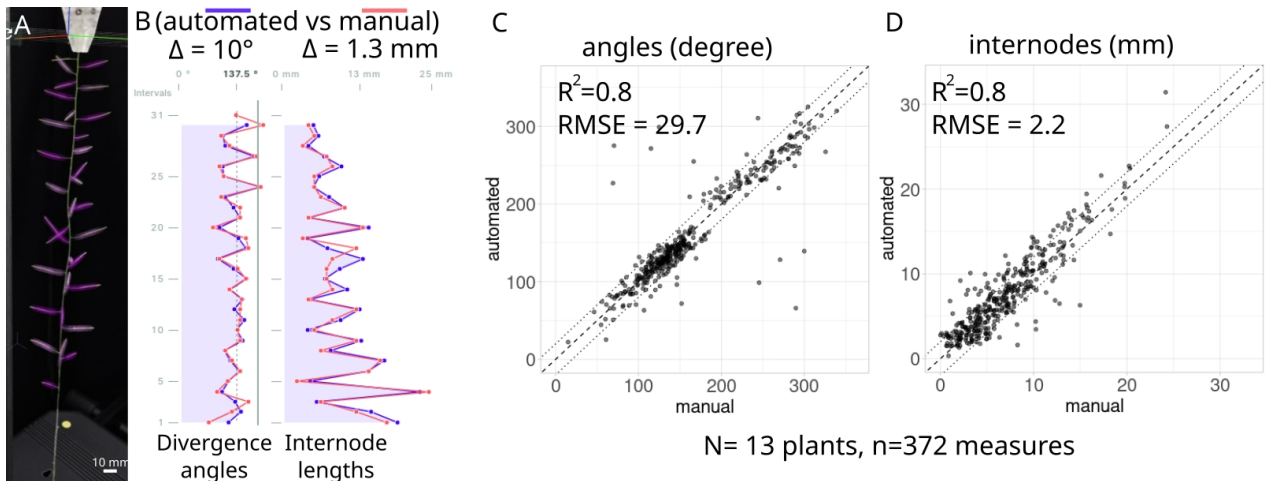


Figure 37 : Évaluation de la précision des mesures de phyllotaxie. A, Plante (*Col-0*, inflorescence principale) acquise avec le plant-imager et analysée avec plant-3d-vision. Les fruits segmentés sont mis en évidence par des halo rose/magenta alternés. B, Comparaison pour la plante en A entre la mesure automatique (bleu) et une mesure manuelle (rouge) pour les angles de divergence et la longueur des entre-nœuds. Δ indique la moyenne de la valeur absolue des écarts entre mesures pour les deux traits. C,D, Comparaison entre des mesures automatiques faites par la plateforme romi (en ordonnée) et des mesures manuelles (en abscisse) pour les angles de divergence et les entre-nœuds sur un plus grand échantillon. Les erreurs de reconstruction (segmentations ou permutation induites) ont été retirées après inspection via le plant-3d-explorer pour n'évaluer que la précision de la mesure 3D. La droite $y=x$ est indiquée en grand pointillés et bornée (pointillés fin) par des déviations de $\pm 20^\circ$ (angles) ou ± 2 mm (entre-nœuds). Le coefficient de corrélation (R^2 ajusté, modèle linéaire) et la racine carrée de la moyenne des écarts au carré (RMSE) sont indiqués pour chaque graphe.

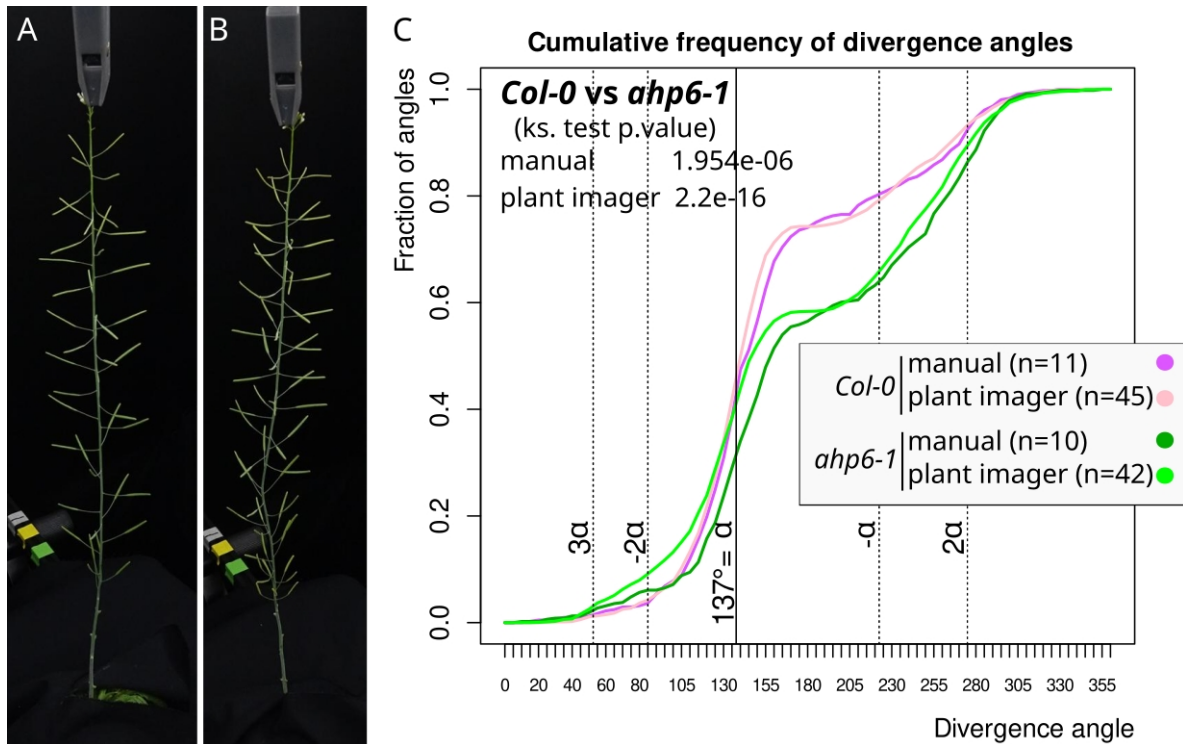


Figure 38 : Utilisation de la plateforme romi pour comparer la phyllotaxie de deux fonds génétiques chez *A. thaliana*. A,B images de l'axe primaire d'inflorescence d'une plante sauvage (*Col-0*, A) et mutante (*ahp6-1*, B),

photos issues du plant-imager. C, Comparaison des fréquences cumulées des valeurs des angles de divergences pour des plantes sauvages *Col-0* ou mutantes *ahp6-1* mesurées à la main ou avec la plateforme romi. Les mesures manuelles et automatisées sont très proches et font apparaître de manière significative la différence entre les deux génotypes (ks : test de Kolmogorov-Smirnov).

En conclusion, la **plateforme romi** remplit également son objectif de créer le **premier outil de phénotypage automatisé de la phyllotaxie pour inflorescence d'*A. thaliana***. Si nous l'avons testé avec succès sur différentes accessions (figure 33F) et fonds mutants, certains mutants ne peuvent toutefois pas être mesurés lorsque le développement des fruits est affecté au point qu'ils sont trop petits pour être détectés.

4. sm-dtw, un nouvel outil pour analyser et évaluer les segmentations de plantes

Ce travail est spécifiquement décrit dans le livrable [D6-5 du projet ROMI](#).

Le développement de la plateforme romi nécessite d'**évaluer fréquemment les résultats des mesures automatisées de phyllotaxie**, principalement en les **comparant à des mesures manuelles**. Les données de phyllotaxie ont la particularité d'être des séquences orientées de valeurs concernant des intervalles entre fruits. Les erreurs de segmentations (sur-segmentation : ajout de faux fruits ou sous-segmentation : omission de vrais fruits) ou les perturbations dans l'ordre de la séquence ont des effets majeurs sur la séquence produite, créant des valeurs très divergentes dans la séquence ainsi que des décalages lorsque celle-ci est alignée avec une référence sans erreur de segmentation (figure 39). Il est alors **difficile de les comparer à l'œil nu** et d'identifier l'origine des différences (erreurs de segmentations ou imprécision des mesures), ralentissant considérablement l'évaluation des résultats et l'amélioration des outils.

Christophe Godin (RDP, INRIA) a développé un algorithme qui permet d'automatiser l'alignement entre deux séquences tout en identifiant les problèmes de segmentations. Les séquences ont deux dimensions, contenant les valeurs d'angles et d'entre-nœud. Les relations mathématiques entre les séquences test et référence décrivent un problème de "*best aggregation mapping*", un problème mathématique d'optimisation. La **solution algorithmique** élaborée, nommée **sm-dtw** (split/merge-dtw), s'inspire des algorithmes de dynamical time warping (dtw) utilisés par exemple dans la reconnaissance de paroles (Sakoe and Chiba, 1978), en imposant spécifiquement la contrainte des conservations de valeurs entre intervalles alignés (figure 39).

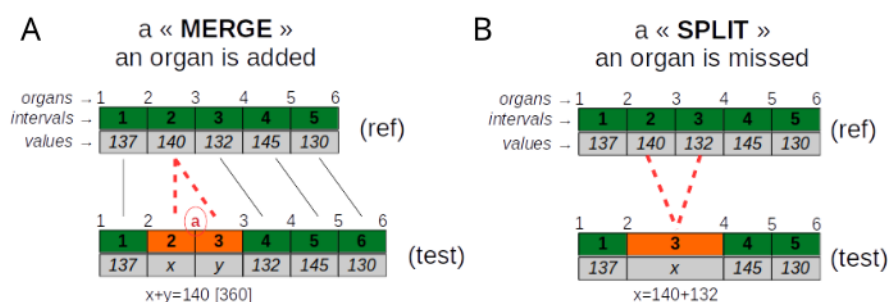


Figure 39 : Effets des erreurs de segmentation sur une séquence de phyllotaxie. Des séquences putatives d'angles de divergences manuelles (ref, en haut) et automatisées (test, en bas) sont alignées. **A**, cas d'une sur-segmentation. Un organe **a** est ajouté entre les organes n°2 et 3. Cet artefact crée deux nouveaux intervalles et deux fausses mesures qui ont pour propriété que leur somme est la valeur du vrai intervalle (ces fausses mesures se fondent -"merge"- dans l'ancien intervalle). **B**, Cas d'une sous-segmentation. La perte de l'organe n°3 fait disparaître un intervalle dont la valeur a la propriété d'être la somme des deux vrais intervalles avec lequel il s'aligne (cette valeur se partage -"split"- entre les deux vrais intervalles).

Les premiers tests montrent que **cet algorithme est capable de réaligner sur une référence des séquences de phyllotaxies issues de mesures automatisées contenant de nombreux problèmes de segmentations** (figure 40). Afin de caractériser précisément les **potentialités de ce nouvel algorithme** et les limites de ses applications, j'ai par ailleurs développé un ensemble de scripts permettant de **simuler des séquences de phyllotaxies** et des perturbations de différentes origines (erreurs de segmentations, permutations, imprécisions de mesures) ([Phyllotaxis-sim-eval](#)). Mes premières données indiquent que sm-dtw réalise des prédictions fiables sur les erreurs de segmentation (interprétation en terme de split/merge) tant que le bruit sur les mesures ne dépasse pas 10° en moyenne sur les angles et 2 mm sur les entre-nœuds, ce qui est autour des performances actuelles de nos mesures avec la plateforme romi.

Le programme sm-dtw a été intégré dans les outils de la librairie plant-3d-vision. À terme, il permettrait d'automatiser l'exploration et l'optimisation de paramètres dans des pipelines complexes ou lors de la comparaisons entre des méthodes de mesures de phyllotaxie, en fournissant une analyse précise des performances de segmentation et de mesure 3D (angles azimutaux et longueurs).

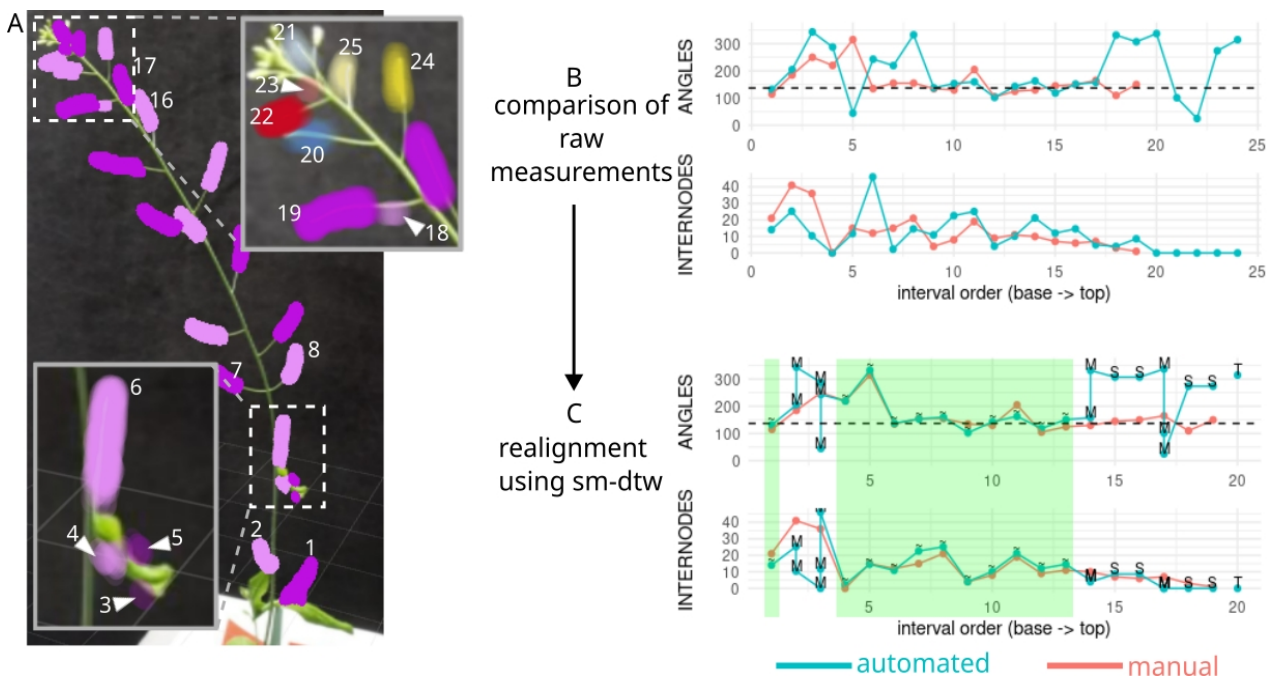


Figure 40 : sm-dtw, un outil pour détecter automatiquement les erreurs de segmentation dans des mesures de phyllotaxies. A, inflorescence principale d'*A.tha liana* dont les fruits sont segmentés avec la plateforme romi, mis en évidence avec des halo de couleurs et numérotés de la base à la pointe par ordre croissant. Plusieurs erreurs sont visibles : à la base (zoom encadré) les organes 3,4,5 sont des sur-segmentations appartenant à la même feuille, à la pointe (zoom encadré) il y a des sur-segmentations (organes n°18 ou n°23) et des inversions dans l'ordre des autres organes. En revanche, les fruits 1-2 et 7-17 sont parfaitement segmentés et ordonnés. B, l'alignement brut d'une mesure manuelle et automatique de cette plante ne permet pas de distinguer les portions correctes et celles contenant les erreurs. C. le programme sm-dtw réaligne les deux séquences en identifiant les mesures identiques (-) et celles pouvant s'expliquer par des opérations de "split" (S), de "merge" (M) ou d'ajout en début/fin de séquence ("tail", T). Les portions de la tige bien segmentées apparaissent immédiatement (halo vert), soulignant le faible écart de valeur entre les mesures manuelle et automatique.

5. Des nouvelles approches de segmentation des plantes

Ce travail est spécifiquement décrit dans le livrable [D5-5 du projet ROMI](#).

La segmentation du nuages de points d'une plante est clef pour l'extraction de traits phénotypiques. Grâce aux données générées par la plateforme romi, cinq algorithmes différents ont été élaborés dans le cadre du consortium ROMI, permettant des applications différentes (figure 41).

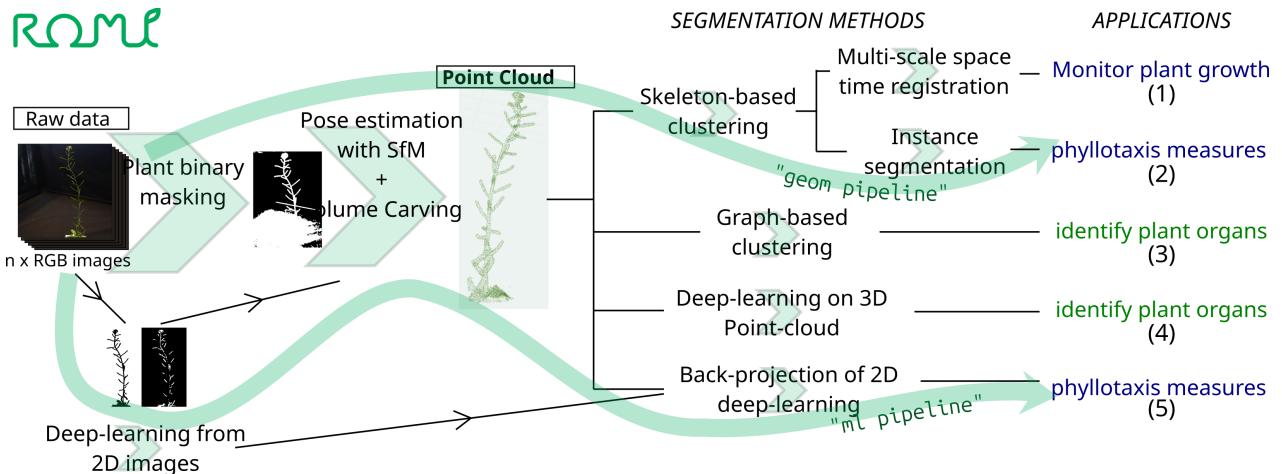


Figure 41: Différents algorithmes de segmentation utilisés dans le projet romi. Tous ces algorithmes démarrent des nuages de points générés par la reconstruction 3D décrite figure 34 et permettent des applications différentes (en bleu des analyses quantitatives et en vert qualitatives). Les algorithmes permettant les mesures de phyllotaxie sont intégrés dans des pipelines de plant-3d-vision : le pipeline "géométrique" (2) et le pipeline "machine-learning"(3). Efficace et demandant peu de ressource de calcul, le pipeline géométrique est le plus utilisé actuellement pour la phyllotaxie d'*A. thaliana*. Publications ou communications associées : (1) (Pan et al., 2021) ; (2) (Wintz et al., 2018) ; (3) (Mirande et al., 2022) ; (4) (Chaudhury et al., 2021).

Ces différents algorithmes illustrent d'une part le bénéfice de pouvoir générer facilement des nuages de points de plante pour stimuler le développement de nouveaux outils de phénotypage, et d'autre part la modularité de nos outils puisque des pipelines d'analyses différents ont été générés grâce à cette diversité d'algorithmes.

La figure 42 présente les résultats pour trois familles d'algorithmes différents qui permettent d'identifier les organes individuellement (segmentation en instance, obligatoire pour des mesures de phyllotaxie impliquant des séquences ordonnées entre fruits) mais aussi des segmentations sémantiques, c'est à dire où des structures botaniques différentes peuvent être identifiées (pétiole, fruit, feuille, ...).

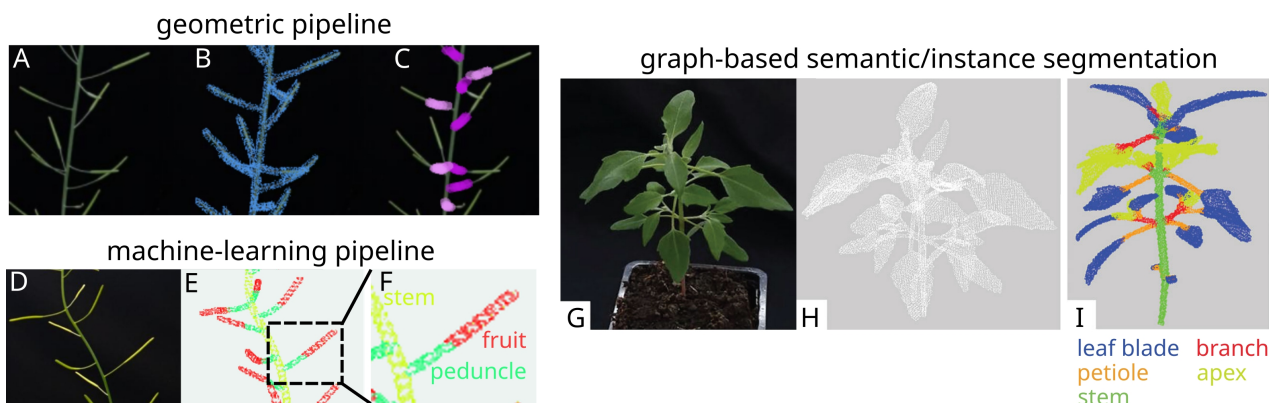


Figure 42: Exemple de segmentation avec trois approches : géométrique, "machine-learning", par graphes. A-C, pipeline géométrique produisant une segmentation instanciée de fruits sur inflorescence d'*A. thaliana* : image brute (A), nuage de points (B) et segmentation des pédoncules floraux. D-F, pipeline "machine-learning" produisant un nuage de points labellisé (E, issu de l'image brute D) avec des catégories apprises par un réseau de neurones entraîné sur des plantes virtuelles générées par LPy (détail en F). G-I, approche par graphe et application à un chénopode blanc (*Chenopodium album*) imagé sur le Plant Imager (G) et reconstruit en nuages de points 3D avec les outils de plant-3d-vision (H). Le résultat permet de différencier cinq catégories de structures botaniques (I, ne correspond pas à la plante en G-H). G-I extrait de Mirande et al., 2022.

6. Vers des modèles de plantes virtuelles plus réalistes

Ce travail est spécifiquement décrit dans le livrable [D6-4 du projet ROMI](#).

Les évolutions récentes des techniques d'**intelligence artificielle** (IA) apportent des perspectives extrêmement puissantes pour le phénotypage de plantes, notamment pour les problèmes de segmentation, en 2D comme en 3D. Toutefois leur principale faiblesse réside dans le **coût de l'apprentissage** : les méthodes d'apprentissage profond reposent sur l'entraînement à partir de données de référence annotées, la qualité de la prédiction étant corrélée à la taille du jeu d'apprentissage. L'utilisation de **plantes virtuelles** peut en théorie répondre à ce défi, en générant pour des coûts de calculs modiques des populations immenses de plantes virtuelles mimant la diversité attendue dans l'expérience de phénotypage réelle visée, avec des annotations de références **guidant l'apprentissage**. Grâce aux plantes virtuelles générés sous LPy, ce principe a été utilisé pour compter des feuilles de rosette d'*A. thaliana* (Ubbens et al., 2018) et nous l'avons également implémenté pour la segmentation des inflorescences à partir de données d'apprentissage en 2D (figure 42D-F) ou en 3D (Chaudhury et al., 2021).

Constatant les mauvaises performances de ces segmentations assistées par IA sur certaines structures (par exemple certaines feuilles aux formes complexes ou l'extrémité courbée de certaines branches), nous avons identifié un **manque de photo-réalisme de nos plantes virtuelles** générées avec le logiciel LPy. La **calibration précise** de modèles virtuels sur les plantes réelles dans une perspective d'apprentissage pour phénotypage a par ailleurs été relevée par d'autres groupes de recherche, e.g. Cieslak et al., 2022.

Il est apparu qu'au delà de la forme particulière des structures, il était également important de capturer (i) **l'évolution temporelle de ces formes** au cours du développement de la plante et (ii) la **synchronisation** du développement des différentes parties de la plante entre elles. Pour cela j'ai réalisé des **mesures précises** sur différentes plantes d'*A. thaliana* au cours du temps, en essayant de documenter les synchronisations existantes entre différentes parties de la plante (figure 43), par exemple les décalages de croissance entre branche principale et secondaires (figure 43A).

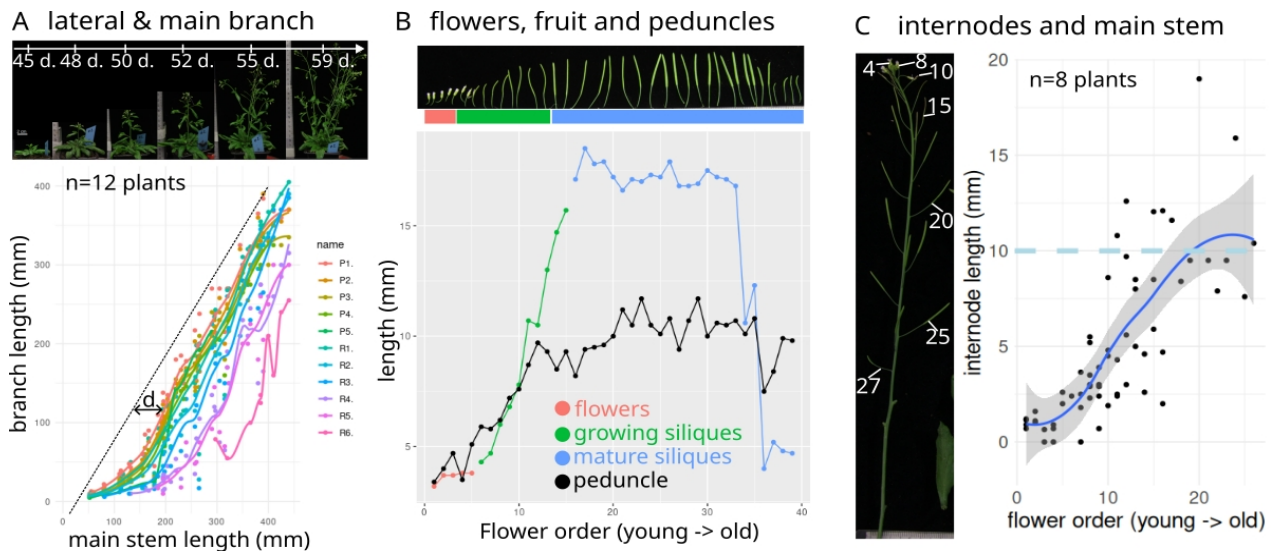


Figure 43 : Calibration et phasage du développement au sein de l'inflorescence d'*A. thaliana*. **A**, Mesures longitudinales d'une plante sur 15 jours, pendant le déploiement de l'inflorescence. Le graphique représente la croissance des branches latérales en fonction de la taille de la tige primaire. Les branches caulines P sont numérotées de bas en haut et les branches de rosette R du haut vers le fond de la rosette. En pointillé, droite $y=x$, d indique le décalage de croissance entre la branche principale et les premières branches secondaires. **B**, Dynamique de croissance des fleurs aux fruits. Les organes sont intégralement disséqués sur la tige principale d'une plante et alignés pour quantifier les synchronisations entre pédoncule et fleur en fonction de leur ordre sur la tige. **C**, L'image à gauche permet de quantifier la dynamique de croissance des entre-nœuds en fonction de la position d'un organe

sur la tige. Bleu foncé : courbe de tendance moyenne (loess) et sa déviation standard (halo grisé), bleu clair pointillé : valeur moyenne des entre-nœuds matures.

Avec Christophe Godin, nous avons ensuite **élaboré un cadre conceptuel décrivant explicitement ces synchronisations**. Le principe repose sur les relations hiérarchiques d'ontogenèse entre structures, définissant des relations "parent-enfant". Par exemple, le méristème apical caulinaire donne naissance au méristème floral qui donne naissance à un pétale. Chaque structure a un temps propre de développement qui décrit de façon complète son évolution de sa naissance à sa disparition (ou à un état stable invariant). Les synchronisations se définissent alors comme des fonctions de phasage ("warping") du temps propre des structures "enfant" sur leur structure "parent" (figure 44A). Appliqué de façon récursive à l'ensemble de l'architecture de la plante, **ce principe établit un phasage global et hiérarchique des dynamiques de développement au sein de la plante (Hierarchical Developmental Timeline Warping, figure 44B)**. Christophe Godin a formalisé ce concept et l'a implémenté dans le cadre du logiciel LPy. En utilisant les mesures effectuées sur les plantes réelles, il est désormais possible d'explicitement imposer des synchronisations entre différentes parties de la plante. Des structures difficiles à reproduire avec l'ancien modèle LPy comme le bouquet terminal sont désormais beaucoup plus ressemblantes (figure 44C-F).

Ce travail est en cours de finalisation. Notamment, au delà de l'intérêt pratique pour générer des plantes photo-réalistes, les L-systemes sont un formalisme particulièrement adapté pour décrire les processus de développement des plantes (Boudon et al., 2012; Prusinkiewicz and Lindenmayer, 1990) et peuvent être utilisés pour comprendre les mécanismes de développement des plantes et leur évolution (Prusinkiewicz et al., 2007). Nous explorons si ce nouveau formalisme peut aider à comprendre et tester le rôle des hétérochronies dans la modification des architectures végétales.

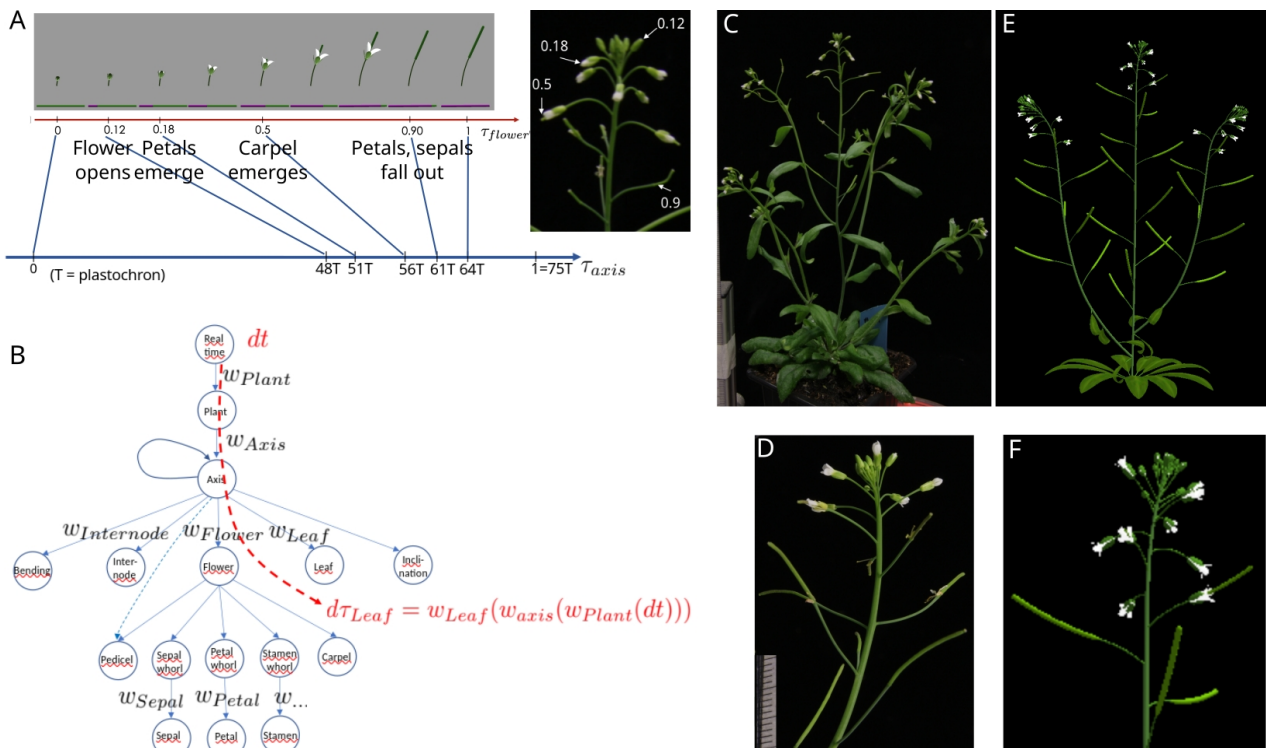


Figure 44 : Génération de plantes virtuelles photo-réalistes sous LPy par la méthode du HDTW. A, Exemple du phasage du temps propre de la fleur (τ_{fleur}) sur le temps propre de l'axe principal (τ_{axis}). τ_{axis} est décompté en plastochrone T, rythmé par la génération de nouveaux phytomères. Par convention, τ_{fleur} est borné de 0 (naissance) à 1 (évolution terminée) et est jalonné de stades développementaux repères, facilement identifiables (par exemple l'émergence du carpelle) : ces repères temporels, fraction du temps propre de la fleur, sont reportés sur une vraie

fleur par comparaison. **B**, Extension du principe du HDTW à l'ensemble de la plante. L'ontogénie de la plante impose une hiérarchie des phasages (warping) entre structures selon des relations "parent"->"enfant" qui se propagent de proche en proche. Chaque phasage d'un temps propre sur celui de son parent implique une fonction de warping ω . En rouge, le temps propre d'une feuille τ_{feuille} est liée au temps propre dt par l'imbrication successive des fonctions de warping. **C-F**, La génération de plantes virtuelles sous LPy avec cette méthode (E,F) permet des mieux contrôler les synchronisations développementales entre les différentes parties de la plante (l'ouverture et l'évolution du bouquet terminal, l'apparition des courbures des tiges et des fruits, ...), ce qui rend les plantes plus ressemblantes aux plantes réelles à tous les stades de développement (comparer avec C,D).

impacts

Le projet romi a abouti à plusieurs publications, dont je suis co-auteur (Mirande et al., 2022) ou dans lesquelles j'ai été indirectement impliqué (discussions au sein du consortium, génération et/ou partage de données 3D issues de notre plateforme romi ; Chaudhury et al., 2021; Chaudhury and Godin, 2020; Pan et al., 2021).

Par ailleurs, nos travaux ont également produits des [jeux de données](#), des [scripts et logiciels](#), de la [documentation](#), [des sites web](#), et [des rapports publics](#) décrits au début de ce mémoire (p. 5)

J'ai présenté notre plateforme de phénotypage à l'oral en 2021 et 2023 au congrès de la communauté "Affordable phenotyping", organisé dans le cadre de l'International Plant Phenotyping Network (IPPN). En 2023, nous y avons co-animé un atelier sur nos outils avec Jonathan Legrand. J'ai aussi présenté notre travail par poster au 7ème International Plant Phenotyping Symposium (IPPS, 2022, Wageningen, NL).

Christophe Godin a présenté à l'oral notre travail sur la nouvelle méthode de design de plantes virtuelles par "hierarchical developmental timeline warping" à la 10ème conférence sur 'Structural-Functional Plant Models' (SFPM), à Berlin en 2023.

Par ailleurs, le plant-imager étant très démonstratif et ludique, nous l'avons présenté trois années à des ateliers scolaires et grand-public organisés dans le cadre de la fête de la science

En 2025, trois publications sont en cours de préparation, l'une concernant la plateforme romi et son application pour les mesures de phyllotaxie sur *A. thaliana* (Legrand J. et al.), l'une sur la méthode de génération de plante virtuelles photo-réaliste par HDTW (Besnard F. et Godin C.), l'une sur l'utilisation du programme sm-dtw pour évaluer des séquences de phyllotaxie (Besnard F., Legrand J. et Godin C.).

perspectives

La plateforme de phénotypage romi offre des perspectives évidentes pour les mesures de la phyllotaxie chez *A. thaliana*, ce pour quoi elle était conçue. J'ai déjà commencé à utiliser cet outil dans différents projets, ainsi que des personnes de mon équipe (Géraldine Brunoud, Carlos Galvan-Ampudia).

À plus long terme, nous souhaiterions pouvoir rester en contact avec une communauté scientifique intéressée par les développements technologiques autour du phénotypage de plantes "accessible", incarné par la groupe de travail de l'IPPN "[affordable plant phenotyping](#)". La diffusion de nos outils et des collaborations diverses seraient l'occasion de mettre à l'épreuve la conception de nos outils et ses ambitions de partage, d'adaptation sur-mesure et de ré-emploi.

Enfin, la plateforme romi crée des opportunités pour agréger des compétences multi-disciplinaires et adresser des nouvelles questions sur des fronts de recherche qui peuvent aussi bien concerner le développement des plantes que la vision par ordinateur, la modélisation de l'architecture des plantes, l'utilisation de l'intelligence artificielle dans le phénotypage ou l'utilisation de plantes virtuelles. Nos travaux sur l'outil sm-dtw ou l'approche HDTW pour l'encodage de plantes virtuelles illustrent bien ces potentialités de développer des nouveaux axes de recherche inattendus. Le projet ANR 4DPlants qui vient de démarrer s'inscrit également dans cette perspective.

Que ce soit dans les arts ou les sciences, la stimulation de la création par la contrainte a été beaucoup discutée. Récemment, la sortie retentissante de DeepSeek en janvier 2025, le modèle d'IA conversationnel chinois concurrent de l'américain ChatGPT, en est un exemple technologique. Fondé sur un modèle open-source, conçu pour optimiser les ressources de calcul suite à l'embargo américain sur les puces NVIDIA, DeepSeek a étonné par la qualité de ses résultats, ses faibles coûts d'entraînement et de fonctionnement. Cet exemple montre combien les contraintes choisies de l'accessibilité peuvent être une source d'innovations intéressantes.

travail d'encadrement

Sur ce projet, ma principale activité d'encadrement directe s'est effectuée avec des ingénieurs (ou assistant ingénieur) : des personnels en CDD, Julie Charlaix (IR), Aurèle Macé (IR), Marie Tisserand (AI), et des personnels permanents, Alexis Lacroix (IE) et Jonathan Legrand (IR). Employée à différents du moment projet sur des durées variables, chaque personne a fourni des contributions différentes : J. C. le démarrage du projet, la mise en place des outils robotiques et logiciels, les premiers tests et diverses explorations techniques ; A. M. la construction d'un bras robotique; M. T. la mise en place de protocoles de validation et des premières expériences de phénotypage ; A. L. des acquisitions de diverses plantes et leurs évaluations. Ces interactions ont été très riches et m'ont appris à m'adapter à différents profils tant personnels que professionnels. Suivant les personnes, j'ai été amené à les former sur des aspects techniques, de la culture de plantes à la mise en œuvre de nos protocoles de phénotypage, ou à adopter une posture de supervision stratégique et de conseil scientifique lorsque je n'avais pas moi-même les compétences nécessaires. Un tel projet de recherche-développement permet de laisser la liberté à chacun.e de se focaliser sur le développement de solutions classiques ou considérées comme sûres ou bien d'explorer des pistes plus hasardeuses. Un des enjeux fort a été la continuité du projet et l'intégration des contributions de chacun, notamment grâce au travail en équipe. À cet égard, la contribution de Jonathan Legrand a été (et est toujours) très importante et j'ai beaucoup appris en retour de ses méthodes de travail, notamment sur l'importance de la structuration du code et de la documentation. En cela, Jonathan Legrand a un statut hybride, puisque selon les aspects scientifiques, il sait travailler en lien avec ma direction scientifique ou comme un collaborateur. Un autre enseignement pour moi de cet encadrement est la confrontation de ce que je perçois comme des cultures de recherche et d'ingénierie. La première est plus attachée à la rigueur de la démonstration, sa justesse théorique et son originalité quand la seconde valorise plus la qualité du résultat et la robustesse et la reproductibilité des méthodes. Essayer de tirer le meilleur des ces deux approches est un défi assez stimulant et peut apporter beaucoup à ce type de projet.

J'ai également encadré des étudiants de L3/M1 en informatique sur des stages courts (<2 mois), dont le but était l'amélioration incrémentielle d'un logiciel (notre interface de visualisation, le [Plant-3d-Explorer](#)) : Raphaël Colin, Grégoire Hosy et Evan Zarella. Conçu comme un projet d'ingénierie logicielle, ce stage leur apprenait à dialoguer pour comprendre les besoins utilisateurs, formuler des solutions techniques et acquérir en autonomie des compétences précises sur les technologies utilisées. D'après leur retours, ils appréciaient le caractère très collaboratif du projet, fait de contributions multiples et imbriquées, et ils ont aimé travailler pour une finalité bien définie tout en remplaçant leur contribution dans un contexte plus large qui fait sens (le phénotypage de plante).

Au delà de l'encadrement direct, ce projet H2020 a été pour moi l'occasion de prendre part à l'animation scientifique d'un consortium de recherche de sept partenaires regroupant entre 25 et 30 personnes, en menant le développement d'un des trois robots dont la production était visée par le projet ROMI. Globalement, ce projet m'aura appris de nouvelles postures d'encadrement, en sortant du rôle d'expert pour adopter des fonctions de pilotage stratégique, de conseil et d'animation scientifique, de mise en contact et de coordination.

Perspectives de recherche

1. Perspectives à moyen terme

J'ai démarré plusieurs nouveaux projets, dans la continuité directe des travaux que j'ai décrits précédemment (pp. 43-84), et que je présente ci-dessous.

Projet 4D Plants : apprendre des modèles de croissance des plantes

contributeurs et contributrices

Personnes encadrées : Arthur Luciani (IE CDD) ; Alexis Lacroix (IE), Jonathan Legrand (IR)

Collaborations : Franck Hétroy-Wheeler, Joris Ravaglia, Remi Allègre (Université de Strasbourg, laboratoire Icube) ; Stéphanie Wührer, Samara Ghrer (Université Grenoble Alpes, Morpheo team) ; Jonathan Legrand (RDP Mosaic-signal) ; Christophe Godin (RDP Mosaïc)

Ce projet ANR (2024-2028, coordinateur : Franck Hétroy-Wheeler) s'inscrit dans la continuité du projet ROMI. Le but est d'essayer d'**apprendre "la croissance" des plantes**, c'est à dire de récupérer à partir du phénotypage 3D de plantes des paramètres qui permettent de **reproduire quantitativement et qualitativement leur développement par des plantes virtuelles**. L'enjeu est d'automatiser l'analyse de la croissance d'une plante en produisant des **segmentations temporellement cohérentes à toutes échelles** et de **prédire des états de la plante au cours de son développement**, soit entre deux acquisitions (interpolation) soit dans le futur (prochain point).

À partir d'un premier travail réalisé dans le cadre du projet ROMI (Pan et al., 2021), nous avons identifié des verrous importants pour arriver à ces objectifs, que le projet 4D Plants propose d'adresser :

- Développer une plateforme de phénotypage qui permette un suivi temporel du développement d'une plante ; améliorer l'acquisition d'architectures complexes présentant des occlusions en utilisant plusieurs caméras ayant des angles de vues différents. Nous poursuivrons le travail déjà amorcé dans ROMI pour produire une nouvelle version du Plant imager (v3), basée sur l'utilisation d'une station formant un environnement d'acquisition clos et mieux contrôlé et d'un nouveau bras robotisé (figure 45). Arthur Luciani (IE), aidé par Jonathan Legrand, a commencé ce travail en février 2025.
- Améliorer les outils de segmentations déjà disponibles pour générer des segmentations instanciées et sémantiques qui serviront de référence pour les prédictions du nouveau modèle.
- Utiliser l'intelligence artificielle pour apprendre les paramètres d'un modèle de plante virtuelle LPy qui reproduisent l'architecture d'une plante observée mais aussi sa dynamique développementale. Cet aspect est le centre de la thèse de Samara Ghrer, encadrée par Stéphanie Wührer à Grenoble.

Projet RNADevPat : La dégradation de l'ARN comme garantie de la robustesse développementale des plantes

contributeurs et contributrices

Personnes encadrées : Alexis Lacroix (IE)

Collaborations : Damien Garcia (IBMP Strasbourg) ; Teva Vernoux (RDP Signal)

Ce projet explore une facette totalement négligée de la **robustesse développementale, à savoir le rôle des systèmes de dégradation des ARN**. Bien que souvent considérées comme des processus ubiquitaires et de "ménage", les voies de dégradations de l'ARN sont mises en œuvre par des complexes

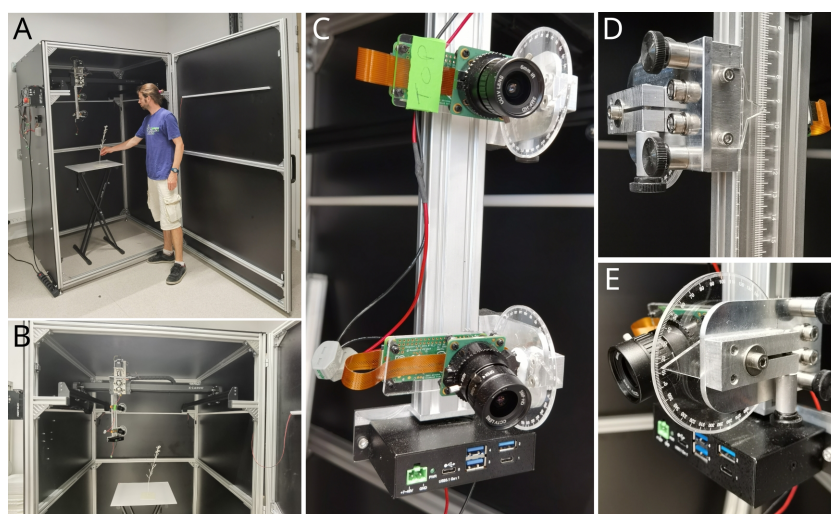


Figure 45 : Plant Imager v3. Divers changements ont été implémentés par rapport à la version précédente (voir figure 32). **A-B**, une enceinte fermée permettant un meilleur contrôle de la lumière (pour l'acquisition et pour la culture de plantes en continu). **C-E**, un nouveau design du bras robotisé permet d'installer plusieurs caméras à des hauteurs et inclinaisons contrôlables. Les caméras sont des Pi-caméras, matériels open-source et bon marché qui permettent aussi d'adapter des objectifs différents, en adéquation avec les principes de conception "accessible" de la plateforme. D'autres développements sont en cours dans le cadre du projet 4D Plants.

moléculaires complexes dont l'altération de certains membres présentent des phénotypes très spécifiques. Ceci suggère que certains gènes de ces voies pourraient avoir des rôles assez spécifiques et/ou que certains traits sont plus sensibles aux perturbations de stabilité des ARN. Par exemple, chez le riz, des mutants affectés dans les gènes *DICER-LIKE 4 (DCL4)* and *ARGONAUTE 7 (AGO7)*, deux enzymes clés de la voie de l'interférence ARN qui dégrade les ARN ciblés par des petits ARN, présentent des phyllotaxies très perturbées générant des motifs aléatoires (Itoh et al., 2000). Récemment, Damien Garcia et son équipe (IBMP, Strasbourg) ont découvert la protéine *DNE1*, une nouvelle enzyme de dégradation des ARN messagers (ARNm) et démontré que des mutations de *DNE1*, en combinaison avec des mutations affectant la coiffe des ARN (un autre mécanisme de stabilité des ARNm), provoquent des défauts de phyllotaxie (Schiaffini et al., 2022). Des données préliminaires indiquent que des mutants dans d'autres voies de dégradation des ARN ont également des phyllotaxies perturbées (figure 46).

Le but de ce projet est de découvrir **les liens entre la stabilité des ARN dans le méristème et la robustesse développementale de la phyllotaxie**. En dérégulant la balance entre biogenèse et élimination des ARNm, la perturbation de la dégradation des ARNm peut avoir deux conséquences opposées. Elle peut d'abord conduire à une hausse du niveau des ARNm d'un gène ou de produits intermédiaires de dégradation. Elle peut aussi provoquer une élimination encore plus drastique des ARNm cibles, car les produits de dégradations peuvent activer la voie de l'interférence ARN. Notre hypothèse de travail est que parmi les gènes cibles de *DNE1* se trouvent des gènes très importants pour la robustesse de la phyllotaxie, des "nœuds de robustesse" dans le réseau génétique qui contrôle l'élaboration du motif de phyllotaxie. Nous voulons également déterminer si d'autres voies de dégradation des ARN convergent vers ces mêmes nœuds de robustesse.

Experte dans l'étude des mécanismes de dégradation de l'ARNm, l'équipe de Damien Garcia identifiera, par des approches spécifiques de génomique et de génétique (Poulet et al., 2024), les cibles de *DNE1* dans le méristème. Par ailleurs, nous caractériserons les phénotypes des mutants de dégradation des ARN, à l'échelle macroscopique grâce à la plateforme romi, et à l'échelle microscopique (dans le méristème) grâce à notre expertise et aux outils disponibles dans l'équipe (rapporteurs, biosenseurs).

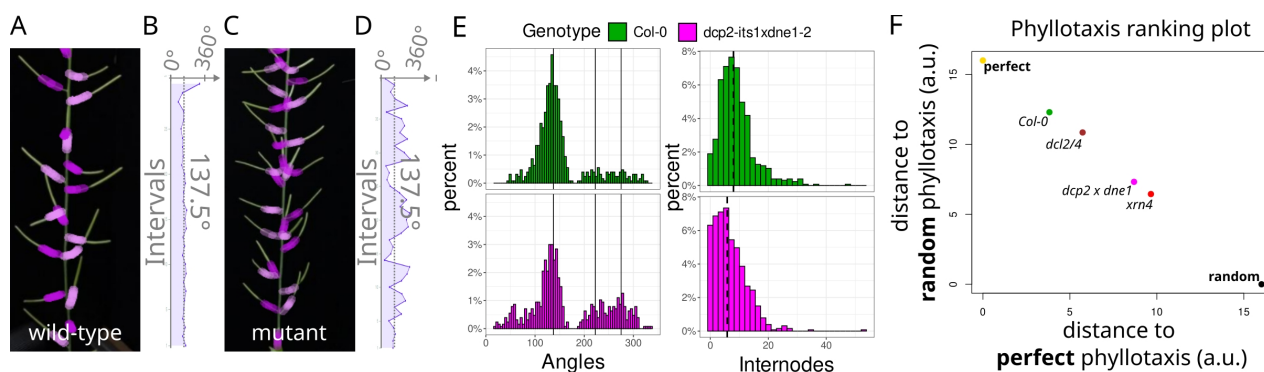


Figure 46 : Caractérisation des perturbations phyllotactiques dans des mutants de dégradation des ARN. A-D, mesures de phyllotaxie avec la plateforme romi chez une contrôle sauvage (A,B) et un mutant *dcp2 x dne1* affecté dans la dégradation des ARN (C,D), montrant la segmentation des fruits (A,B) et la mesure des angles de divergence (B,D). E, Résultats obtenus sur deux populations de plantes des mêmes génotypes (N= 20 pour *Col-0* et 21 pour *dcp2 x dne1*). La différence entre les distributions sont statistiquement très significatives (p. value de 2.5×10^{-3} et 6.2×10^{-9} pour les angles et entre-nœuds, respectivement; test de Wilcoxon appariés avec correction de Holm). F, Résultats étendus à plusieurs mutants de dégradation des ARN : *dcl2 x dcl4*, *dcp2 x dne1* et *xrn4*. Ce graphique utilise la statistique du test de Kolmogorov-Smirnov (cumul des distances entre fréquences cumulées) entre les génotypes d'intérêts et des phyllotaxies simulées, parfaite ou aléatoire, qui occupent les angles opposés du graphique. Les distances avec ces deux simulations ordonnent les génotypes et permet de les comparer. Les mutants de dégradations de l'ARN *dcp2 x dne1* et *xrn4* ont les phyllotaxies les plus perturbées.

Nous combinerons nos expertise pour comprendre les mécanismes qui expliquent la spécificité de l'action de DNE1 ou d'autres voies de dégradation des ARN sur ces cibles et leur effets sur la phyllotaxie.

Ce projet a été soumis sans succès à l'ANR en 2023, 2024 et 2025 (coordinateur Damien Garcia). Nous travaillons actuellement à produire des données préliminaires qui renforceront sa crédibilité.

Projet "fil" : Rétro-actions des organes sur le méristème et robustesse multi-échelle de la phyllotaxie

contributeurs et contributrices

Personnes encadrées : Elliott Cordier (M1-M2), Stéphanie Lainé (TR)

Collaborations : François Parcy (LPCV Grenoble)

Les phénotypes méristématiques observés dans les nouveaux allèles k-o de ***filamentous flower (fil)*** (voir projet actuel n°2, p. 57) nous invitent à **reposer la question des signaux déclenchés par ce gène depuis son site d'expression**, la bractée cryptique, **vers d'autres zones du méristème** (Douglas et al., 2017; Goldshmidt et al., 2008). En particulier, nos données suggèrent que plusieurs zones fonctionnelles du méristème sont affectées par la perte de fonction *fil* :

- la zone centrale contenant les cellules souches et leur centre organisateur
- la zone périphérique où se forment les sites d'organogenèse
- le méristème floral
- les zones frontières

Ce projet a pour but de caractériser la contribution de ces différentes zones au phénotype *fil* et notamment la perturbation du motif de phyllotaxie. Les hormones étant des signaux inter-cellulaires cruciaux pour l'auto-organisation du méristème, nous avons entrepris une cartographie précise et en dynamique des distributions hormonales dans les méristèmes *fil* pour évaluer leur implication dans les différents phénotypes observés (figure 47). D'autres rapporteurs fonctionnels nous aiderons à caractériser

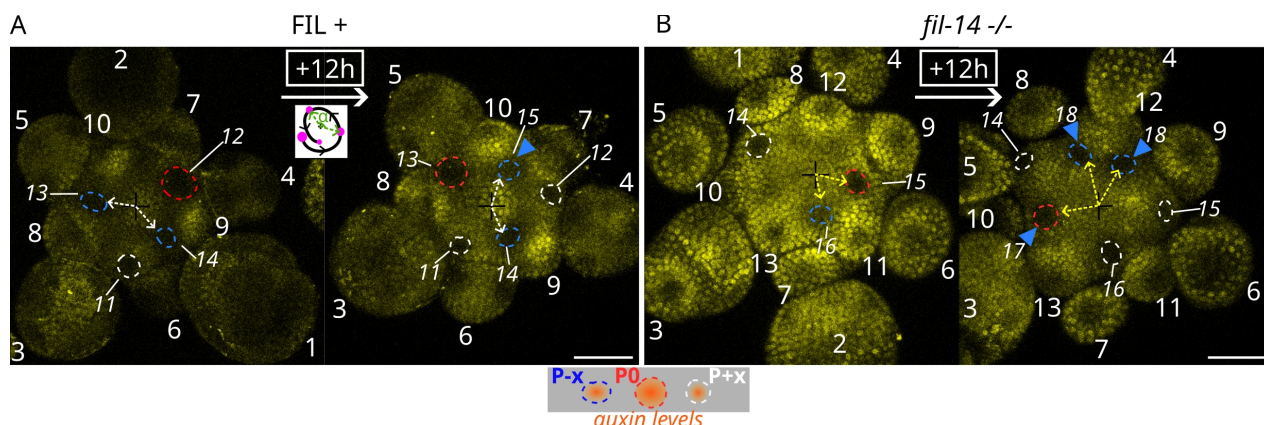


Figure 47 : Suivi de l'initiation des sites d'organogenèse dans le mutant *fil* (données préliminaires). Observation au microscope confocal du biosenseur d'auxine qDII-VENUS (jaune, nucléaire, dégradé en présence d'auxine) en cinétique sur apex cultivés (vue de dessus en maximum de projection). Le niveau de fluorescence est inversement corrélé à la concentration d'auxine (sa perception cellulaire). La disparition du signal VENUS dans la zone périphérique indique la formation d'un site d'organogenèse avant même tout indice morphologique, selon une séquence bien identifiée (cadre gris, Galvan-Ampudia et al., 2020). **A**, Chez le sauvage (FIL+, phénotype sauvage issu d'une lignée ségrégeant la mutation *fil-14*), les organes sont distribués et ordonnés en taille selon une spirale de Fibonacci anti-horaire régulière (schéma du cadre blanc). Chaque organe est identifié par un numéro croissant du plus vieux au plus grand, conservé entre les 2 temps d'observations (les organes les plus vieux sont disséqués entre deux observations). Après 12h, un nouveau site d'organogenèse (tête de flèche bleue, label n°15) se forme à 137° du précédent (flèches pointillées blanches ; croix noire centre du méristème) comme prédit par la spirale de phyllotaxie. **B**, Dans ce mutant *fil*, la distribution des organes du plus grand au plus petit ne suit pas une spirale de Fibonacci régulière. Des angles de divergences inhabituels sont observés entre les sites les plus précoces (flèches pointillées jaunes). Après 12h, trois nouveaux sites apparaissent (dont deux d'intensité similaire ne permettant pas d'établir un ordre, portant le même n° 18) indiquant un plastochrone accéléré. Des angles de divergence inhabituels sont à nouveau observés. Croix noire : centre du méristème. Barres d'échelle = 50 µm. Images: Elliott Cordier.

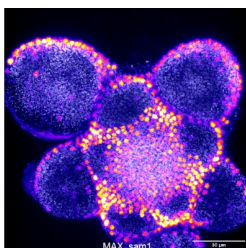
les processus biologiques associées (expressions génétiques, activité du cycle cellulaire, ...). Comme FIL est un régulateur transcriptionnel, nous déterminerons par RNAseq et DAPseq ses cibles potentielles et les processus contrôlés en aval.

Ce projet est actuellement mené par Elliott Cordier (master2) et met à profit le matériel génétique généré par moi-même et Stéphanie Lainé ces dernières années.

Projet "bractée" : Coordination entre la suppression de la bractée et le développement du méristème floral

contributeurs et contributrices

Personnes encadrées : Stéphanie Lainé (TR)



Nos recherches sur la variabilité naturelle affectant la suppression des bractées à la transition florale (Dieudonné et al., 2025) nous ont fourni des gènes candidats qui pourraient être impliqués dans la synchronisation entre le développement des fleurs et des bractées. Identifiés d'après des données transcriptomiques et génétiques, nous testons actuellement avec Stéphanie Lainé ces candidats en caractérisant leur profil d'expression et les phénotypes de mutants ou sur-expresser, afin d'identifier les plus prometteurs. Ci-contre, un de ces gènes montre une expression associée aux zones frontalières et à la partie abaxiale des jeunes fleurs mais absente de leur centre, un profil compatible avec un rôle dans le développement de la bractée.

2. Perspectives à plus long terme

Il est toujours incertain de faire des prédictions sur les directions de recherche à long terme, les stratégies s'adaptant aux inattendus des découvertes potentielles. J'entrevois toutefois des pistes qui me semblent intéressantes et prometteuses.

Concernant l'étude de la phyllotaxie, le phénotypage automatisé pourrait permettre d'explorer plus largement les relations génotype-phénotype de ce trait, au delà de l'étude de mutants. Par exemple, il serait intéressant de caractériser plus précisément la variation naturelle pour voir quel types de perturbations sont présentes dans la nature et à quelle fréquence. Des lignées d'accumulation de mutations, disponibles chez *A. thaliana* (Ossowski et al., 2010; Rutter et al., 2012; Weng et al., 2019), permettraient d'évaluer la variance mutationnelle de la phyllotaxie et, en la comparant à la variance intraspécifique naturelle, indiqueraient si la sélection naturelle contrôle ou pas les niveaux de perturbations observées. Au delà de la génétique, la robustesse aux variations environnementales pourrait également être étudiée. Le méristème d'inflorescence est connu pour être très plastique aux signaux environnementaux (par exemple Landrein et al., 2018). En jouant sur les conditions de culture, il serait envisageable de tester à quel point la phyllotaxie peut accommoder les variations de taille et de forme du méristème d'inflorescence. Ces résultats pourraient ensuite être confrontés aux modèles actuels de phyllotaxie pour vérifier à quel point ils capturent les propriétés de robustesse de ce système.

Le prisme du phytomère me paraît également très riche pour poser des nouvelles questions. Les relations développementales entre constituants du phytomère ne sont effet que très peu abordées par la littérature. Pour continuer mes recherches sur les relations entre feuille (bractée) et méristème latéral (fleur), une possibilité serait d'utiliser des espèces qui font des bractées, soit de manière constitutive comme chez les Cléomacées (figure 21, Bayat et al., 2018), soit avec des espèces de Brassicacées où les bractées sont présentes sur de nombreuses fleurs à la base des racèmes (par exemple *Lobularia maritima*, figure 23, Dieudonné et al., 2025). Des ressources génomiques (Cheng et al., 2013) et les possibilités de transformation (Tsai et al., 2012) font des Cléomacées des modèles intéressants pour des approches comparatives avec *A. thaliana*. Le développement précoce des entre-nœuds reste également un zone d'ombre, notamment son couplage avec l'initiation des fleurs et des feuilles (Serrano-Mislata and Sablowski, 2018). Développer des outils et protocoles d'imagerie pour suivre ce processus pourrait être une piste porteuse. Une question que je trouve passionnante et peu traitée est celle du contrôle de l'élongation des entre-nœuds et la bascule abrupte entre leur absence d'élongation dans la rosette et leur croissance subite lors de la montaison. Le phytomère est également une bonne échelle pour poser la question du rôle des hétérochronies, en étudiant leur impact dans la diversification des formes prises par les phytomères, au cours du cycle de vie d'une plante ou au cours de l'évolution. Là encore, et bien qu'il soit parfois difficile d'arriver à l'échelle du gène, les variations naturelles peuvent apporter un éclairage riche et pertinent sur la façon dont la robustesse développementale et l'évolution modèlent la variabilité phénotypique.

Par ailleurs, de façon convergente avec certains auteurs à propos des monocotylédones (Whipple, 2017), je pense que les relations développementales entre constituants du phytomère reposent sur mécanismes très conservés, mais potentiellement obscurcis par la diversification morphologique et homéotique de ses constituants. Je fais notamment l'hypothèse d'une hiérarchie entre les constituants, expliquant la séquence temporelle très conservée feuille - méristème latéral - entre-nœud (figure 21B et

figure 48). Cette hiérarchie pourrait impliquer la formation de centres de signalisation et d'inductions en cascade, conditionnant le développement des constituants entre eux. Par exemple, cette contrainte développementale pourrait expliquer la persistance évolutive de bractées cryptiques par la nécessité de maintenir un domaine minimum nécessaire à l'induction du méristème floral. De telles contraintes développementales expliquent notamment la persistance d'autres structures à l'état cryptique chez les animaux (Sadier et al., 2022). L'exploration de cet axe de recherche, déjà amorcé dans mes perspectives à court terme, pourra me permettre de préciser et tester ces hypothèses de travail.

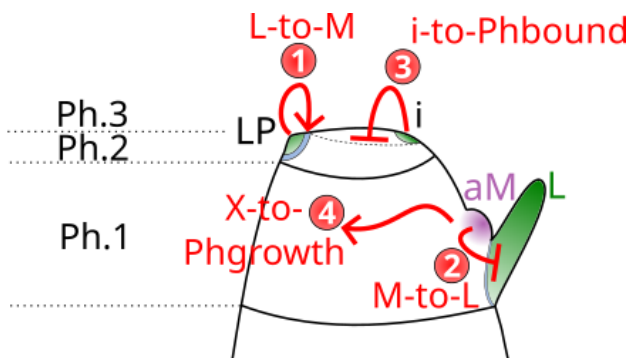


Figure 48 : Hypothèses de travail sur les coordinations développementales entre constituants du phytomère.

coupe longitudinale schématisée d'un apex, montrant l'empilement de trois phytomères (Ph.). Dans le phytomère, la feuille est d'abord initiée (i), puis le méristème axillaire (aM) se forme à la frontière (zone bleue) entre le primordium de feuille (LP) et la tige. Je fais l'hypothèse que différents mécanismes contrôlent les coordinations entre éléments du phytomère. (1), le primordium floral induirait la formation du méristème axillaire dans sa zone frontière (Leaf-to-Meristem). Cette induction pourrait expliquer la persistance du stade bractée cryptique dans l'évolution. (2), le aM pourrait inhiber le développement de la feuille, dans le cas des fleurs (Meristem-to-Leaf, voir projet bractée). (3) des initiations trop proches pourraient inhiber la formation de l'entre-nœud, formant deux (ou plus) feuilles au même nœud (la jugacie, initium-to-phytomere boundary). (4) La croissance de l'entre-nœud pourrait également être régulée par les composants du phytomère déjà présents, feuille et/ou méristème axillaire et/ou zones frontières (X-to-phytomere growth)

Enfin, étudier le développement des phytomères ouvre sur d'autres exemples de phénotypes dont il est possible de lier les échelles microscopique et macroscopique, comme nous essayons de le faire pour la phyllotaxie : distribution de la taille des entre-nœuds, formation des branches, développement des feuilles au cours des stades développementaux... Adapter notre plateforme de phénotypage 3D pour quantifier de nouveaux traits, possiblement sur différentes espèces, fera sans doute partie des défis auxquels nous devons nous atteler.

Travail réflexif sur l'encadrement par et pour la recherche académique

"[...], we hope colleagues will engage in being reflective practitioners, which we contend is the bedrock of being a good supervisor, as reflecting upon performance and acting on reflection is one of the defining attributes of being a modern academic."

Grant, K., Hackney, R., & Edgar, D. (IJDs 2014).

On peut s'étonner que le diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR) soit, dans les mémoires comme dans les soutenances, très peu l'occasion de discussions autour de l'encadrement. Mais on peut également se réjouir de la très grande liberté dont disposent les académiques lorsqu'ils et elles passent ce diplôme.

J'ai donc décidé de profiter de cette liberté pour ouvrir cet espace de réflexion autour des questions d'encadrement dans la recherche académique. Je le conçois comme un exercice de réflexivité ouvert, c'est à dire dont l'objectif est à la fois personnel et collectif. L'encadrement n'étant définitivement pas une activité solitaire, partager ses réflexions avec des encadrants et des encadrés est essentiel et par réciprocité, bénéficie à soi et aux autres. Pour préparer ce travail, j'ai donc discuté avec des collègues, encadrant.es ou doctorant.es, grâce à des questionnaires que j'ai conçus pour aborder différents thèmes et questions que j'avais à l'esprit en commençant. Nos échanges ont nourri mes réflexions et ont contribué à façonner le résultat que j'écris ici. Les questionnaires de ces "entretiens préparatoires" et la description générale du panel rencontré sont donnés en annexes (annexes 2 à 4).

Dans ce chapitre, je partage d'abord une analyse personnelle de l'encadrement à un niveau plutôt institutionnel. Cette partie est une tentative de comprendre pourquoi les questions d'encadrement académique ne sont pas plus mis en avant et quelles conséquences négatives cela peut avoir sur les pratiques d'encadrement et la posture réflexive. Notamment, j'identifie des questions complexes, pour lesquelles aucune réponse évidente n'existe, mais dont l'anticipation permettrait je pense un encadrement plus satisfaisant pour les encadrants.es comme les encadré.es.

Dans une deuxième partie, je décris ma pratique d'encadrement et je tente de l'évaluer, en confrontant les retours des personnes que j'ai encadrées, ma propre perception et les résultats obtenus.

Enfin dans une troisième partie, j'envisage des pistes pour faire évoluer à l'avenir mes pratiques d'encadrement, en essayant d'intégrer les enseignements de mon analyse du contexte institutionnel, les conclusions de mon expérience personnelle et les retours que j'ai pu collecter auprès de mes collègues encadrant.es et encadré.es. J'envisage de systématiser la réflexivité ouverte comme méthode facile à mettre en œuvre pour exercer une activité d'encadrement épanouissante pour soi et pour les autres.

Note: Si je cite ici des références à des articles de sciences de l'éducation sur le sujet de l'encadrement académique, ou si j'utilise parfois des mots qui appartiennent aux champs des sciences sociales en général, ce travail ne prétend aucunement être scientifique, ni par les méthodes, ni par les concepts. J'espère d'ailleurs ne pas avoir fait de grossières déformations ou des contre-sens majeurs. Mon propos est très lié à l'encadrement (et à l'HDR) dans la recherche en biologie, et je suis conscient que des différences importantes existent dans d'autres domaines. Je livre ici le point de vue situé d'un acteur, ma légitimité est celle de ma pratique.

1. Analyse de l'encadrement dans la recherche à un niveau institutionnel

Partant d'un constat qui semble partagé par mes collègues, je propose que la conjonction d'un habitus professionnel et de normes professionnelles favorise la mise au second plan des questions d'encadrement dans la recherche académique, voire une quasi occultation dans certaines situations. Je pense que ces facteurs créent une culture de l'implicite autour des pratiques d'encadrement et sont un frein pour aborder voire même conscientiser certaines questions pourtant très structurantes sur l'encadrement (doctoral notamment). Je décris ces questions, *a priori* sans réponses absolues, qui mettent en jeu aussi bien des injonctions externes contradictoires que des orientations philosophiques personnelles, mais dont l'issue me semble déterminante pour le style d'encadrement qui sera ensuite pratiqué.

1.1 Cette pédagogie dont on ne parle pas

Je n'ai encore jamais rencontré un.e chercheur.se qui soit satisfait.e du diplôme actuel de l'HDR. Cela s'est encore vérifié lors de mes entretiens préparatoires (cités entre guillemets et italique). L'HDR est au mieux jugée "*insatisfaisante*" car "*sans dimension pédagogique*" malgré l'intérêt pour les chercheurs de faire un "*bilan*" dans leur carrière et leur trajectoire scientifique. Mais certains la jugent carrément "*inutile*", et voir même néfaste pour le développement de la carrière des jeunes chercheurs.ses. Quant aux doctorant.es, ils.elles ne pensent souvent même pas à l'HDR comme une façon d'évaluer le travail des encadrant.es. Quand ils.elles l'évoquent, c'est pour faire remarquer qu'il est "*étrange*" que l'encadrement ne soit "*pas un critère*", ou bien que "*n'importe qui peut avoir l'HDR*". Le diplôme apparaît dépourvu de sens à trois égards : il ne dit pas ce qu'il fait (ce n'est pas vraiment la capacité à diriger les recherches qui est évaluée), il détourne d'actions de formations (tous les encadrants insistent sur la nécessité des formations, qui selon certains.es devraient remplacer l'HDR) et son obtention implique une logique un peu circulaire qui déroutent certains collègues, puisqu'il faut avoir encadré pour avoir le droit d'encadrer via l'HDR. Pour les encadrant.es, la conséquence est simple : certains pensent qu'il n'y "*rien à attendre*" de l'HDR et le conseil que j'ai entendu le plus souvent répété aux jeunes chercheur.ses est le suivant : "*dépêche-toi de passer ton HDR pour t'en débarrasser*". Ceci contribue à vider encore un peu plus le diplôme de son sens, car les jeunes recrutés ne ressentent pas le besoin de faire un point dans leur carrière à ce moment là.

Deux éléments de contexte permettent de comprendre les contraintes qui incitent à passer rapidement l'HDR. Ce diplôme est d'abord nécessaire pour la progression de carrière, élément indispensable pour passer les concours de professeur.e ou directeur.rice de recherche. De plus, actuellement en sciences expérimentales, deux facteurs sont clés pour développer ses projets de recherche (et sa carrière) : la main d'œuvre pour réaliser des expériences et des financements pour payer cette main d'œuvre et ces expériences. Ne pas pouvoir encadrer de thèse est donc un frein important limitant l'envergure des recherches effectuées.

Doit-on comprendre la bizarrerie de l'HDR actuelle comme une friction entre l'héritage désuet d'un diplôme universitaire et les évolutions actuelles des métiers de la recherche académique ? Cette explication joue certainement. Mais j'y vois une autre analyse possible.

Le diplôme de l'HDR, dans sa pratique actuelle, n'est pas dépourvu de pédagogie. Au contraire, je pense qu'il charrie des conceptions pédagogiques très fortes, et qu'il met en avant un modèle implicite d'encadrement par la recherche et des modes de transmissions des savoirs et des apprentissages. Quel est ce modèle ? C'est un modèle apparenté à la pédagogie descendante, mais dans une version dégradée. La pédagogie descendante est fondée sur la figure de l'exemple : le professeur, le savant, le maître. Ancestrale, cette pédagogie fait la part belle à la transmission des savoirs par écoute, reproduction ou mimétisme, appris de la main ou de la bouche du "maître". Intuitive, semblant même "naturelle", cette pédagogie est extrêmement courante, peut-être la plus pratiquée au monde, dans tous les domaines. Si

elle a un tel succès, c'est d'abord qu'elle fonctionne. Il est souvent plus facile et rapide d'apprendre quelque chose que de le découvrir par soi-même, et chacun.e a sûrement de nombreux exemples de savoirs acquis ainsi. Toutefois, tout le monde s'accordera également pour reconnaître qu'il ne suffit pas de voir ou d'entendre un exemple pour être capable de le reproduire. Cette pédagogie demande donc des qualités complexes qui font les grands "maîtres" et "maîtresses". Mais il en existe une version dégradée, qui consiste à penser que meilleur l'exemple sera, meilleur l'enseignement sera. Cette conception incite à favoriser l'excellence disciplinaire, à réduire la pédagogie à la démonstration, et à reporter la charge de l'acquisition des savoirs sur les apprenants.es. C'est selon moi cette conception qui s'incarne actuellement dans le diplôme de l'HDR : si le candidat démontre un "*haut niveau scientifique [...] [le] caractère original de sa démarche dans un domaine de la science, [...] son aptitude à maîtriser une stratégie de recherche dans un domaine scientifique ou technologique suffisamment large*"¹ alors on espère que les étudiants.es encadrés.es sauront imiter le modèle. Ceci explique pourquoi il devient moins nécessaire d'évaluer la "*capacité [du candidat] à encadrer de jeunes chercheurs*". Ainsi, l'incohérence apparente de l'HDR actuelle, telle que perçue par de nombreux collègues avec qui j'ai échangé, n'en est pas une. C'est l'application d'un concept pédagogique implicite.

Est-ce propre à l'HDR ? Je ne pense pas. Je perçois au contraire une forte présence de ce modèle dégradé de la pédagogie verticale dans l'enseignement et à l'université. J'ai passé il y a des années le concours de l'agrégation de SVTU. J'ai ressenti comme nombre de mes camarades que ce concours visait surtout l'excellence disciplinaire, les questions pédagogiques en étaient absentes. Ce que confirment celles et ceux qui exercent aujourd'hui le métier de professeur devant des collégiens... Ainsi, le plus haut diplôme universitaire, qui consacre la capacité à encadrer des recherches, et le plus haut niveau de recrutement de l'éducation nationale ont en commun cette apparente absence de pédagogie. Mais cette absence n'en est pas une. On peut l'interpréter comme la domination culturelle d'une conception pédagogique, qui se passe d'être explicite et de se justifier. Est-ce propre au monde académique au sens large ? Je ne pense pas non plus. En sport, les champions.nes du monde se voient souvent proposer des carrières d'entraîneurs.ses ; dans l'entreprise des managers doivent leur place à leur réussite individuelle... Il est possible que cette approche pédagogique soit favorisée par l'envie de reproduire le succès dans des systèmes où la compétition et la course à l'excellence sont fortes. Côté encadrant.es la compétition pour les postes sélectionne ceux qui ont réussi, et de l'autre côté, la compétition pour les places d'apprenants.es sélectionne des profils autonomes, personnellement motivés et ambitieux, adaptés à ce type de pédagogie.

Ainsi, je pense que plusieurs facteurs culturels, sociétaux et propres au monde académique, se conjuguent pour forger une certaine conception de la pédagogie verticale, qui survalorise l'exemple et transforme les nécessaires compétences disciplinaires en qualité pédagogique suffisante. Cet habitus professionnel, implicite, est renforcé par des dispositions institutionnelles, diplômes ou concours des encadrant.es d'un côté, et procédures de recrutement et viviers des étudiant.es encadrés.es de l'autre. Une conséquence possible de cette conception pourrait être un désengagement des questions pédagogiques, qui pourrait s'incarner dans le style d'encadrement "Laisser faire" (Frischer and Larsson, 2000) ou "hands-off" (Gruzdev et al., 2020). Pourtant, parmi mes collègues, aucun ne revendique ce style d'encadrement. Ce n'est pas un biais de mon entourage, car dans la communauté, ce style semble également minoritaire, représentant entre 10 et 20 % selon les disciplines (Gruzdev et al., 2020). Mais il est possible que son existence comme fond culturel implicite lui donne une influence importante sur les pratiques concrètes d'encadrements mise en œuvre dans l'académique.

De mon point de vue, ce contexte a pour conséquence une mise au second plan des questions d'encadrement. J'y trouve une explication au fait d'avoir personnellement rencontré peu de matière à

1 Arrêté du 23 novembre 1988 relatif à l'habilitation à diriger des recherches, article 1: "*L'habilitation à diriger des recherches sanctionne la reconnaissance du haut niveau scientifique du candidat, du caractère original de sa démarche dans un domaine de la science, de son aptitude à maîtriser une stratégie de recherche dans un domaine scientifique ou technologique suffisamment large et de sa capacité à encadrer de jeunes chercheurs*".

réfléchir sur le travail d'encadrement doctoral. Les réactions de mes collègues à mon questionnaire m'indiquent que je ne suis pas le seul : "je trouve bien que tu fasses cette démarche, ça donne du sens à l'HDR", "merci pour cette initiative", "tes questions sont super". Mais en effet, pourquoi poser des questions d'encadrement si le diplôme nous en dispense ? Pourquoi se poser des questions s'il suffit de se concentrer sur sa "performance", ou plus modestement de bien faire son travail, meilleur exemple à donner aux personnes qu'on encadrera ?

Il ne s'agit pas tant de critiquer un mode de pédagogie. Tous les styles de pédagogie peuvent convenir, selon le contexte, entre les encadrants.es et les encadrés.es : "no single supervisory style is effective in all situations" (Boehe, 2016). Il s'agit plutôt de déconstruire des implicites professionnels pour se réapproprier son propre style d'encadrement, avoir conscience de ses forces et de ses faiblesses et de pouvoir en discuter avec les personnes encadrées. Bref, de "parler" pédagogie et encadrement. Dans la section suivante, je présente différentes questions qu'il me semble important de se poser dans le cadre d'un encadrement, doctoral en particulier, bien que le contexte professionnel et institutionnel nous y incite peu.

1.2 Questions sans réponses pour structurer son encadrement dans la recherche

"Become an independent thinker; be critical, innovate, and question the established body of knowledge; but remember, we will be the sole arbiters of what you must do and how well you go about it."

Rosen & Bates, 1967, p. 81 (cited in Gardner 2008)

Cette citation reflète bien les paradoxes et les difficultés qui existent dans l'encadrement de thèse. C'est "une forme complexe d'enseignement" (Stracke and Kumar, 2020), pour lequel il n'existe pas de manuel tout fait ("Doctoral student advising does not come with an instruction guide", Barnard and Shultz, 2020). Notamment, plusieurs travaux décrivent combien il est difficile de trouver le dosage juste dans l'encadrement doctoral entre cadre et liberté (Gardner, 2008; Glorieux et al., 2025). Trouver cet équilibre nécessite selon moi de se poser quelques questions. Celles que je propose ne sont pas forcément indépendantes, elles se répondent et abordent parfois le même sujet sous différents angles. Je les ai formulées soit à partir de mon expérience personnelle, soit de mes lectures, ou à la suite des entretiens préparatoires. Ces derniers me servent notamment à illustrer différents points de vue et attitudes.

Q1	Quels sont les objectifs d'une thèse ?
Q2	La thèse : un diplôme ou un travail ?
Q3	Quelles sont les fonctions d'un.e encadrant.e ?
Q4	Comment échanger ses attentes réciproques ?
Q5	Encadrant.e et encadré.e : en conflit d'intérêt ?
Q6	La thèse est un voyage, mais quel itinéraire emprunter ?
Q7	Comment apprendre à encadrer ? Comment s'évaluer comme encadrant.e ?

Table 2 : Sept questions sans réponses pour structurer un encadrement de thèse

Q1. Quels sont les objectifs d'une thèse ?

L'objectif d'une thèse pourrait paraître évident : avoir le diplôme et devenir chercheur.se. Il existe en fait un nuancier d'objectifs et des différences entre encadrants.es et encadrés.es, parfois subtiles, mais qui peuvent être source de désaccord ou d'incompréhension. La communication des attentes réciproques entre encadrants.es et doctorants.es est un effet identifié dans de nombreux travaux comme un enjeu clef de la relation d'encadrement et du bon déroulé de la thèse (Cardilini et al., 2022; Masek and Alias, 2020; Stracke and Kumar, 2020).

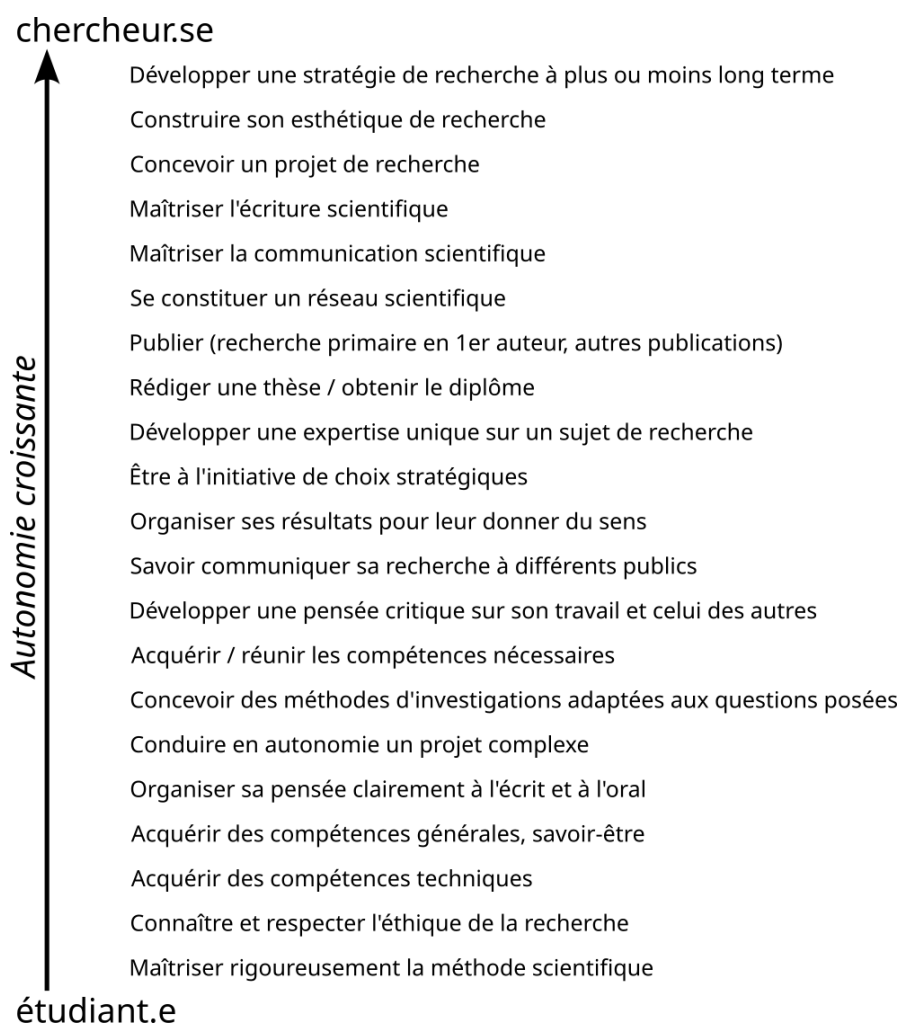


Figure 49 : Quels sont les objectifs d'une thèse ? Pour un.e chercheur.se dans l'académique, la thèse est le diplôme qui sanctionne le passage d'un.e étudiant.e à un.e collègue. Il est donc naturel pour les académiques de concevoir une progression qui amène aux compétences qu'ils pensent requises dans leur domaine. Suivant leurs objectifs de carrière, les doctorants.es peuvent avoir une vision différente des finalités de leur formation. Cette figure présente une proposition de hiérarchisation de compétences jusqu'à la thèse et au-delà. Chaque compétence s'acquiert de manière progressive et est susceptible de se perfectionner tout au long de la carrière. Les compétences sont en partie indépendantes et la progression dans chacune d'elle peut se faire à des rythmes différents. La position relative de chacune de ces compétences sur l'échelle d'autonomie peut être discutée, en particulier le passage de la thèse. Surtout, l'exigence associée à chaque compétence doit être discutée, au besoin exemplifiée. En face de chaque compétence, il convient aussi de réfléchir aux moyens de les acquérir et de les évaluer.

Dans mon entourage, il semble tout d'abord difficile d'imaginer un avenir professionnel dans la recherche non académique, aussi bien côté encadrant que encadré, principalement par manque de connaissance. Ensuite une hiérarchie des objectifs est établie des deux côtés. Mes échanges indiquent une tendance similaire à celle mise en évidence par Cardilini et al., 2022, à savoir que les doctorants.es attachent plus d'importance à l'obtention du diplôme et d'articles scientifiques que les encadrants.es, ainsi qu'à l'acquisition de compétences techniques. Il m'a aussi semblé qu'ils s'imaginent que leur encadrant attache plus d'importance à la publication que ce que celui-ci ne pense vraiment (ou qu'il ne déclare). Les encadrants.es évacuent plus vite la question du diplôme et des articles pour mettre en avant des compétences clefs du métier de chercheur. Devenir chercheur est un objectif partagé entre doctorant et encadrant, mais les exigences varient. Pour un doctorant, l'objectif visé serait de gérer un projet de recherche de manière autonome et avec esprit critique, ce qui pourrait correspondre à un post-doctorat. Cette vision la plus portable du diplôme de thèse dans et hors académique correspond assez à la définition qu'en fait Boehe (2016) : *"independent researchers, critical and analytical thinkers and self-organised research project managers"*. Côté encadrant, certains mentionnent l'importance d'acquérir certaines dispositions d'esprit : savoir accepter l'échec, vaincre sa timidité (pour interagir lors du travail de recherche et communiquer ses travaux). Pour les encadrants.es les plus exigeants, *"dans l'idéal, à la fin, le thésard il sait tout faire"* ; *"c'est un CR [chargé de recherche] en fait"*. Sont ainsi visés la rigueur de la méthode scientifique, la gestion de projet, des qualités rédactionnelles, communicationnelles et surtout la capacité à définir soi-même ses questions de recherche et les moyens d'y répondre. *"J'attends d'être surpris"*. *"Il [le thésard] doit construire son esthétique et y croire, [...] c'est son moteur. [...] Les bonnes recherches, ce sont des esthétiques qui sont les plus attrayantes"*.

Il n'est pas nécessaire d'acquérir toutes ces compétences lors de la thèse car, notamment vu la courte durée des thèses en France, c'est la progression qui compte le plus : *"en pratique, même quand les thésards n'ont pas atteint ces objectifs, on les aide à passer. La progression est là mais le résultat est pas toujours là"*. La question des objectifs minimum à atteindre pour avoir sa thèse pose un malaise sans apporter de réponse claire. Par ailleurs, il est intéressant que les doctorants.es *"aient cette vision"* de la marge de progression possible et des attentes que peut demander le métier de chercheur, même s'il n'est pas attendu qu'ils et elles remplissent ces objectifs. Pourtant, il n'est pas courant de partager sa vision de ce que veut dire être chercheur : *"Je n'ai jamais formulé ça comme ça à un thésard"*. La figure 49 propose une hiérarchisation de ces objectifs, qui pourraient servir de base de dialogue entre encadrants et encadrés sur les différents niveaux d'exigence et le point de destination finale qui sont visés par chacun.

Q2. La thèse : un diplôme ou un travail ?

Cette question semble d'actualité et fait débat au sein même des encadrants, potentiellement avec un conflit de génération. Dans la vision "diplôme", la thèse est un engagement qui dépasse le cadre du travail, elle nécessite une implication intellectuelle, *"un effort soutenu et prolongé"*. Elle n'est pas forcément compatible avec un *"9h-17h"*. Et cela préparerait au métier. La recherche est une profession intellectuelle, *"intrusive sur la vie personnelle"* car il est difficile de s'arrêter de penser en rentrant à la maison chez soi le soir. De plus, la recherche est compétitive, à l'échelle internationale : *"Pour rester dans le milieu académique, c'est compétitif et il faut en être conscient"*. Suivant les ambitions visées, il ne faut pas compter les heures. *"Quand j'étais en thèse on a fait les trois-huit pour sortir un papier et ne pas se faire scooper en ayant appris à un congrès qu'un autre laboratoire travaillait sur le même gène"*. Il est donc crucial d'avoir une forte motivation personnelle *"Je ne vais pas imposer, mais si tu veux pas faire un minimum d'effort il ne faut s'attendre à ce qu'on te donne les clefs du labo à la fin"*.

Pour la vision "travail", trouver un équilibre entre vie professionnelle et vie privée est essentiel. Certaines pratiques sont pour eux clairement abusives (travail en soirée et le week-end, rédaction de la thèse hors contrat au chômage...). Côté doctorants.es, le sujet n'est pas frontalement abordé. Certains manifestent l'envie de se dépasser, *"de se prouver qu'on est capable de le faire, de finir le jeu au moins une"*

fois", sans que les implications de cet engagement soient précisées. D'autres manifestent leur contentement que leur encadrement ne leur mette pas la pression.

Les tenants de la vision "diplôme" trouvent que l'évolution actuelle penche du côté de la vision "travail", associé à un comportement consommateur des étudiants, et le regrettent (Polkinghorne et al., 2023). Quel que soit le point de vue adopté, il me semble donc important de discuter de ce sujet avec le ou la doctorante.

Q3. Quelles sont les fonctions d'un.e encadrant.e ?

Les fonctions d'un encadrement de thèse ont été décrites et conceptualisées par différents travaux, par exemple Franke and Arvidsson, 2011; Lee, 2008; Polkinghorne et al., 2023. Ces dernières années, les encadrant.es peuvent avoir le sentiment que les exigences les concernant augmentent, en lien avec une évaluation quantitative des thèses supervisées. En reprenant la classification de Lee (2008), on peut ainsi lister : un rôle fonctionnel (gestion/supervision de projet, incluant l'expertise technique et disciplinaire et s'assurer que les étudiants passent et obtiennent le diplôme) ; un rôle d'acculturation (intégrer les codes du domaine, la connaissance de l'institution, les sujets scientifiques, les méthodologies) ; aider à acquérir une pensée critique (envers son travail et celui des autres) ; un rôle d'émancipation (se constituer un réseau, définir son propre agenda de recherche et professionnel, prendre en main sa carrière) ; un rôle relationnel (veiller au bien être mental). Un.e encadrant.e n'a pas toujours en tête toutes ces dimensions, surtout au début de sa carrière. De plus, suivant son style d'encadrement (Franke and Arvidsson, 2011; Gruzdev et al., 2020) et les conditions dans lesquelles on l'exerce (Boehle, 2016), on peut être moins à l'aise avec certaines fonctions.

Dans la recherche expérimentale en biologie, nous sommes rarement isolés et les doctorants.es ont beaucoup d'interactions pendant leur thèse, avec d'autres personnes que leur encadrant.e officiel.le (Glorieux et al., 2025). Il me semble qu'il est déjà possible de discuter avec un doctorant des fonctions avec lesquelles on est moins à l'aise et où il doit avoir moins d'attente. Ensuite, il est peut-être possible de solliciter des personnes dans l'entourage professionnel pour assumer ses fonctions, de manière officielle ou non.

Q4. Comment échanger ses attentes réciproques ?

Les trois questions précédentes confrontent des attentes des encadrants et des doctorants et leur possible hiatus, qui représente donc un risque bien identifié que la thèse se passe mal (Cardilini et al., 2022). De "*l'alliance de travail*" proposée en 2000 par Frischer and Larsson au "questionnaire des attentes" (Feedback Expectation Tool, FET) élaboré récemment par Stracke et Kumar (Kumar and Stracke, 2025; Stracke and Kumar, 2020), différentes propositions ont été formulées pour expliciter les attentes et formaliser leur échange. On peut noter que les items mentionnés dans ce dernier outil sont très opérationnels et concrets, précisant la nature, la fréquence, le support ou le contexte des "feedbacks" (les retours formulés par un.e encadrant.e). Un enjeu très présent dans la littérature est la balance entre autonomie et liberté, et consiste à trouver des formules pour accroître la disponibilité des encadrants jugés trop distants ou au contraire relâcher l'emprise d'un micro-management oppressant. Toutefois, dans mon petit échantillonnage de collègues proches, ce sujet n'était pas aussi central. En revanche, les préoccupations plus générales associées aux questions précédentes Q1-Q3 sont bien présentes, ce qui me laisse penser qu'il faudrait les formuler explicitement dans un dialogue sur les attentes réciproques.

Parmi mes collègues, certains utilisent déjà un questionnaire en début de thèse et en sont satisfaits (par exemple utilisation de la "charte de doctorants" de l'école doctorale, avec l'ajout d'objectifs propres). D'autres ont essayé mais n'ont pas été convaincus, "*ça sonnait faux*". Une autre partie trouve l'idée intéressante mais redoute le formalisme associé à cet échange. Le terme de "contrat" effraie, ils ont l'impression "*d'un couteau mis sous la gorge*", soit pour eux, soit pour le doctorant. Coté doctorant, hormis un qui l'a fait avec son encadrant et en est satisfait, les autres redoutent également une trop grande

pression. Certains doutent d'être capable de formuler leurs attentes devant leur direction de thèse, en particulier en début de thèse.

Si instaurer un dialogue pour expliciter les attentes peut être bénéfique, trouver la bonne forme demande du tact pour que la démarche soit à la fois simple, sincère et non anxiogène. Ce dialogue ne doit pas être perçu comme contractuel au sens où il oblige, laissant penser que les parties ne se font pas confiance. La renouveler au cours du temps peut sembler une bonne chose : non seulement car les attentes réciproques évoluent, mais aussi car il y a moins d'enjeu à exposer ses attentes si elles ne sont pas figées jusqu'à la fin de thèse.

Q5. Encadrant et encadré : en conflit d'intérêt ?

Cette question peut paraître de prime abord surprenante. Encadrant/encadré n'ont-ils pas les mêmes intérêts ? Le succès d'une thèse n'est-elle pas bénéfique aux deux parties ? Différents auteurs ont pourtant identifié des conflits d'intérêts possibles. Pour Franke and Arvidsson (2011), cette situation peut survenir dans le cas d'un encadrement de type "*research practice-oriented*", dans lequel "*le directeur de thèse et le doctorant participent à une pratique de recherche commune et partagent des objets de recherche relevant de la même approche ou d'une approche connexe*". C'est notre cas en biologie. En particulier, si le directeur de thèse a une fonction double ("*twin*") d'encadrant et de leader de projet, "*il peut privilégier les aspects qui font avancer le projet de recherche plutôt que ceux qui contribuent à un bon encadrement de recherche*". Pour Barnard and Shultz (2020), qui prennent des exemples en chimie expérimentale avec le même type d'encadrement, les jeunes encadrants ont plus de chance d'avoir ce genre de conflit, car "*ils n'ont pas le temps que leurs nouveaux étudiants conçoivent leur propre projet*". Ou encore, un de mes collègues : "*en tant qu'encadrant on est partie prenante du système : on est en conflit d'intérêt, car on attend directement quelque chose d'eux, des produits de leur travail*".

Mes collègues s'accordent à dire que de terminer une thèse en trois ans tout en laissant le temps d'explorer est difficile. Mais c'est aussi une "*faute scientifique de penser un projet en disant : on va arriver là*". Une solution consisterait à "*être émotionnellement détaché*" et à adopter "*un positionnement d'accompagnateur*".

Q6. "La thèse est un voyage" : mais quel itinéraire emprunter ?

La question précédente peut aussi s'aborder via celle de la construction du projet de thèse et de l'acquisition de l'autonomie. Pour attirer des étudiants.es et leur mettre le pied à l'étrier, il faut construire un projet suffisamment bien défini car au début ils et elles n'ont pas le recul pour concevoir leur propre projet (Barnard and Shultz, 2020; Polkinghorne et al., 2023). Mais il faudra vite lâcher la paternité de ce projet pour laisser le doctorant se l'approprier et "*l'emmener dans une direction qu'on avait pas nécessairement prévu*". Il me semble que cette ambition est plus facile à énoncer qu'à réaliser et demande une vigilance constante pour ajuster la dynamique de passation du projet et de son leadership. Là encore expliciter cette tension aux doctorants peut permettre de trouver ensemble le chemin approprié.

Dans l'idéal, certains pensent qu'on ne devrait pas construire de sujet au départ. Non seulement cela éviterait ce problème de la passation et de l'appropriation, mais ce serait même contre productif. "*c'est une erreur, un contresens sur le métier de chercheur. [...] Le travail de recherche c'est l'exploration des limites du monde connu. La thèse est l'apprentissage de cette exploration*". Ce sont les contraintes de la thèse en trois ans qui conduisent à ce cadrage initial.

Dans ce cadre, deux conceptions du chemin de la thèse sont alors possible. Une première est d'ouvrir dès le début les horizons du sujet de thèse et de laisser le doctorant explorer. A la mi-thèse, la mise à plat des pistes entrouvertes permet de choisir celles qui sont les plus prometteuses, au doctorant de s'y engouffrer et de les valoriser. En cas de réussite, le doctorant est valorisé, il acquiert confiance en lui et s'approprie complètement son sujet. Mais si la phase exploratoire s'enlise, il y a risque de démotivation ou de perte de confiance en soi. Une autre conception est de plutôt cadrer le début de thèse, sur une sous-partie du projet ou l'acquisition d'une compétence particulière. Cette phase donne confiance en soi et ses

capacités pour ensuite aller explorer ses propres idées sur la fin de thèse, ce qui prépare aussi à la posture du post-doctorat qui peut s'enchaîner. Le risque ici est soit de ne jamais s'approprier le sujet en restant un exécutant, compromettant le passage à la phase exploratoire, soit de ne pas avoir le temps d'explorer en fin de thèse et de nourrir un sentiment de frustration.

Aucun modèle n'est parfait et chaque doctorant.e peut se sentir à l'aise sur l'un ou l'autre itinéraire. Une infinité de chemins existent sans doute entre ces deux pôles extrêmes. Aussi, certains projets peuvent en pratique mal se prêter à un type de trajectoire. Mais dans tous les cas, il me semble utile d'avoir ces possibilités en tête et de les discuter pour ajuster le déroulé de la thèse.

Q7. Comment apprendre à encadrer ? Et comment s'évaluer comme encadrant.e ?

L'encadrement de thèse suit le plus souvent un modèle de maître-apprenti (Barnes and Austin, 2009; Gruzdev et al., 2020). Mais "modèle" ne signifie pas qu'il existe une méthode bien établie pour apprendre à jouer le rôle du "maître" dans cette relation. Comme mentionné par des enquêtes antérieures, "as supervisors *"You learning from trial and error and from more experienced colleagues"* (Grant et al., 2014). Mes collègues confirment apprendre "sur le tas", par essais-erreurs, en collectant dans leur entourage et leur expérience propre des éléments disparates qu'ils veulent reproduire et avec en tête quelques modèles repoussoirs. Toutefois, les formations sont en général considérées comme utiles, même les formations générales en management. La plupart recherche l'adaptation à leur doctorant.e et se "méfie[nt] des modèles de management".

Personnellement, j'ai apprécié les formations, pour leur contenu, mais aussi pour les échanges qu'elles permettent avec les collègues, encadrants et doctorants. Les échanges que j'ai mené via les questionnaires ont été très riches également. Tous les collègues interrogés ont déjà une réflexion et des savoirs sur la question, mais très peu les ont formulés ou échangés avec d'autres collègues. Il me semble donc qu'organiser régulièrement des moments d'échanges formalisés sur ces sujets serait une méthode efficace pour structurer un apprentissage de l'encadrement doctoral.

Si des formations et méthodes pour apprendre à encadrer commencent à émerger dans nos laboratoires, je n'ai pas vraiment trouvé de méthodes pour auto-évaluer son encadrement. La littérature que j'ai parcourue évoque les styles d'encadrement, leur perception par les doctorants.es et leur corrélation avec l'issue de la thèse, mais pas spécifiquement de méthode pour évaluer l'effet de ses propres pratiques d'encadrement. S'il est possible que mon corpus limité soit biaisé et n'ait pas trouvé les travaux dont c'est l'objet, mes collègues confirment la difficulté de cette évaluation. Toutefois, pour certains, ce n'est pas vraiment le sujet. L'enjeu est la thèse : l'encadrement ayant pour but de faire réussir la thèse, la progression de la thèse fournit une évaluation indirecte de l'encadrement. Ainsi, la plupart des collègues proposent de surtout évaluer les critères suivants : l'avancée des travaux, l'acquisition de compétence, l'autonomie, aller en congrès et présenter son travail seul, le bien être mental et l'épanouissement personnel. Certains surveillent ces indicateurs ("*je suis attentif aux [...] signaux extérieurs*"), d'autres posent régulièrement des questions plus directes. Beaucoup mentionnent le comité de suivi de thèse (CST) comme un bon moment pour réaliser cette évaluation, avec l'aide notamment de regards extérieurs. Un problème dans ces critères de progression du doctorant peut alors amener à modifier son encadrement. Les doctorant.es considèrent également que la progression de la thèse, notamment la qualité du travail produit, et le CST sont des bons moyens pour les encadrants.es d'évaluer leur travail. Certain.es ajoutent aussi que leur poser simplement la question, de manière régulière et directe, pourrait être un bon moyen d'évaluation, même si peu d'encadrants.es le font vraiment. Il me semble en effet que demander l'avis des doctorants.es constitue un retour instructif sur sa pratique, même s'il ne doit pas être pris isolément. Notamment, coupler des questions sur les attentes (cf. Q4 ci-dessus) et l'évaluation me paraît une façon simple et concrète de procéder (par exemple, "sur telle attente que tu avais, est-ce que tu as été satisfait.e de mon travail d'encadrant.e ?").

Comme on l'a vu, ces sept questions n'ont pas de réponses évidentes et différentes solutions existent. En revanche, les styles d'encadrement qui en découleront pourront être radicalement différents. Que l'on souhaite adapter son style d'encadrement ou trouver les personnes compatibles avec son style d'encadrement, il me paraît déjà important de conscientiser ces questions. De plus, dans la continuité de mon analyse précédente, je propose de discuter de ces questions le plus possible, entre collègues, dans différentes combinaisons : entre encadrants, entre doctorants, de façon collégiale et au sein du binôme encadrant-encadré. Elles peuvent devenir un outil pour que l'encadrement ne soit plus un implicite, mais une pratique réfléchie et assumée, potentiellement co-construite entre l'encadrant.e et l'encadré.e.

2. Analyse de mon activité d'encadrement

Comme évoqué dans la section précédente, auto-évaluer son encadrement n'est pas forcément simple. Si je partage avec mes collègues la pertinence de critères attachés à la progression de la thèse et du doctorant qui la mène (voir Q7 p.99), je les trouve insuffisants. J'ai donc décidé de profiter de cette HDR pour explorer quelques pistes d'évaluations complémentaires afin de les mettre en discussion.

La méthode que j'expérimente repose sur trois étapes : (1) décrire mon activité d'encadrement (par auto-perception et tentative d'objectivisation) ; (2) interroger la perception des personnes que j'ai encadrées ; (3) synthétiser et mettre en relation avec les indicateurs de progression des personnes encadrées.

2.1. Description de mon encadrement

Je suis un encadrant assez présent et disponible. Je rencontre les personnes dont j'encadre le travail une fois par semaine, lors de réunion d'une heure, où je les laisse me faire un point sur leurs avancées. Je reste disponible pour des sollicitations hors de ce créneau à leur demande. Si besoin, des réunions sont organisées, à ma demande ou à la leur, sur des points spécifiques.

Je passe également du temps à la paillasse pour former directement les personnes à l'expérimental, notamment les étudiants L3-M2 et les ingénieurs CDD qui ont besoin de produire des plantes et des résultats expérimentaux. Au delà de l'apprentissage des méthodes de travail et d'organisation et des savoirs techniques spécifiques, ce temps me permet de vérifier et d'ajuster si besoin le niveau de soin et de rigueur des personnes, qualités indispensables à tout expérimentaliste. J'insiste sur les bases de la démarche expérimentale (concevoir l'expérience en amont, énoncer son but, imaginer les résultats possibles et leur interprétations, mettre en place les contrôles appropriés, anticiper les suites de l'expérience). C'est également une condition nécessaire pour établir une relation de confiance par la suite, afin de ne pas douter de la fiabilité des résultats produits. Je transmets également des valeurs importantes à mes yeux : le droit à l'erreur, la bienveillance, la responsabilité (si on fait l'expérience pour soi, on est le premier impacté par le fait qu'elle soit ratée par manque de soin ou de rigueur ; aspects financiers et écologiques des expériences gâchées), l'éthique scientifique. J'essaie également de communiquer l'enthousiasme pour l'expérience, le plaisir qu'il y a à mettre en œuvre un test de ses idées, à se confronter au réel, au suspense du résultat. Comme mentionné par mes collègues encadrants.es dans les entretiens, je sensibilise à la nécessité de savoir accepter l'échec et la frustration et j'essaie de me montrer empathique et soutenant avec leurs émotions liées à l'expérimental.

Je laisse les personnes avec qui je travaille totalement libres de leur agenda, de leur organisation de travail quotidienne à la gestion de leur congés. Je donne éventuellement des conseils ou des recommandations. Concernant la définition des priorités du projet, j'ai plus d'influence lors de nos discussions hebdomadaires. Par exemple, je suis assez directif avec les techniciens et les étudiants. J'essaie de laisser plus liberté aux doctorants et aux ingénieurs, sans être sûr d'arriver à leur laisser autant d'autonomie et d'initiative qu'il serait souhaitable.

Je donne en figure 50 des éléments quantitatifs sur mon encadrement en complément des éléments précédents. Lors du projet H2020 ROMI, j'ai dû fournir des tableaux de temps à des fins de contrôle pour la commission européenne. J'ai eu alors l'idée de me servir de cette contrainte comme un outil personnel d'auto-évaluation de mon activité. Depuis 2018, je note quotidiennement mon temps de travail dans un tableau, en l'attribuant à des grands types (tâches administratives, recherche, encadrement, ...) et des projets. La définition de cette typologie est personnelle et je ne la décris pas ici. Ce relevé peut contenir des erreurs et des approximations mais permet de dégager une vue globale et des tendances. Pour commencer, je fournis une estimation de mon temps de travail. Étant moi-même interrogé par la question de l'équilibre vie professionnelle / vie privée dans la recherche (voir Q2 p. 96), j'essaie de montrer un exemple en essayant de contenir mon temps de travail, même si je dépasse un peu le cadre réglementaire.

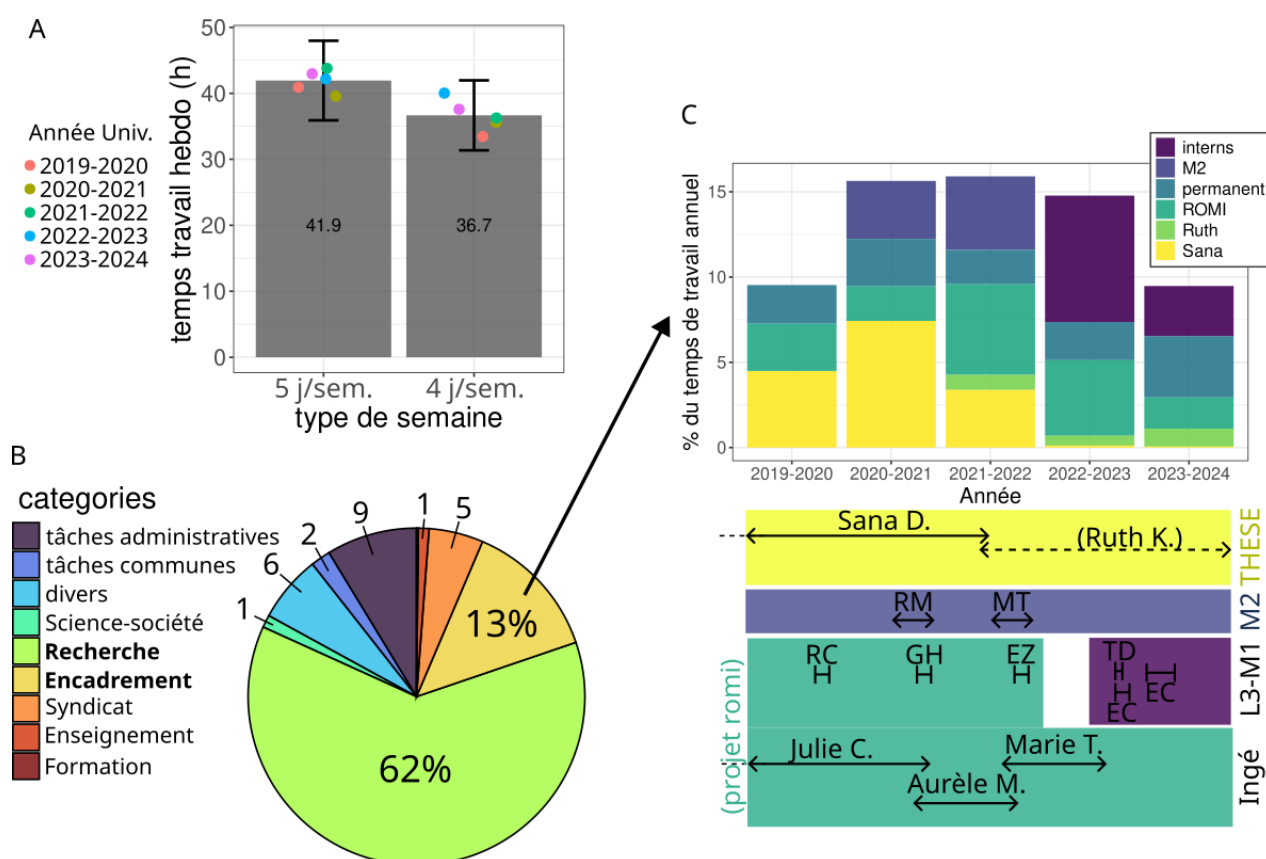


Figure 50: Place de l'encadrement dans mon temps de travail (2019-2024). A, Durée de travail hebdomadaire (à 90%, j'alterne les semaines de 5 et de 4 jours). B, Répartition de mon travail par grand type d'activité sur la période. C, Répartition du temps d'encadrement par statut des personnes et/ou par projet.

À ce titre, passer à 90% m'a permis de réduire mes heures lors des semaines à 4 jours (je ne "rattrape" pas ces heures par ailleurs). Ensuite, on constate que l'encadrement représente ma deuxième activité (13%), derrière la recherche (62%). C'est l'encadrement des doctorants et des stagiaires expérimentaux qui me prend le plus de temps, les projets purement bio-informatiques demandant moins d'investissement (peut-être car comme ce n'est pas directement mon domaine de compétence, je ne fais quasiment pas de formation opérationnelle et technique).

Je n'encadre pas des projets sur lesquels je ne suis pas moi-même impliqué. Cela me place clairement dans la catégorie "*research practice-oriented*" de Franke et Arvidsson (2011). On peut mesurer cela au temps que je passe directement sur les projets (expériences, analyses, développements méthodologiques, bibliographie, écriture, présentation, gestion de projet, ...) par rapport au temps que j'y passe via l'encadrement (réunions hebdomadaires ou autres réunions, production de retours sur les productions des personnes encadrées, ...)(figure 51). Cela rend plus importante encore la question de la gestion de l'autonomie des personnes encadrées et leur leadership sur les projets, en particulier pour les doctorants.es.

Même s'il ne s'agit pas d'une formation universitaire comme la thèse, j'organise avec les ingénieurs CDD un entretien annuel ou un entretien bilan de fin de contrat, voire à mi-contrat si j'en perçois le besoin. Je n'ai pas encore encadré de post-doctorant.

J'ai suivi deux formations à l'encadrement doctoral que j'ai trouvé très utiles (voir p. 21). J'ai notamment réutilisé un outil fourni par les formateurs, "le Progress doc", qui est un tableau de suivi de progression de compétences spécifiques et générales du doctorant, à remplir à différents jalons de la

thèse. Le doctorant le remplit d'abord seul en s'auto-évaluant puis en discute avec son encadrant. Ces compétences peuvent être directement reliées aux objectifs de la thèse mentionnés dans la section précédente (voir Q1, p. 95). La deuxième formation était une école doctorant-encadrant organisée par l'INRAE ([EDEN](#)). Plus que le contenu de la formation, déjà très intéressant et pertinent, ce sont les échanges avec les autres participants.es que j'ai le plus appréciés, les trouvant très riches et formateurs.

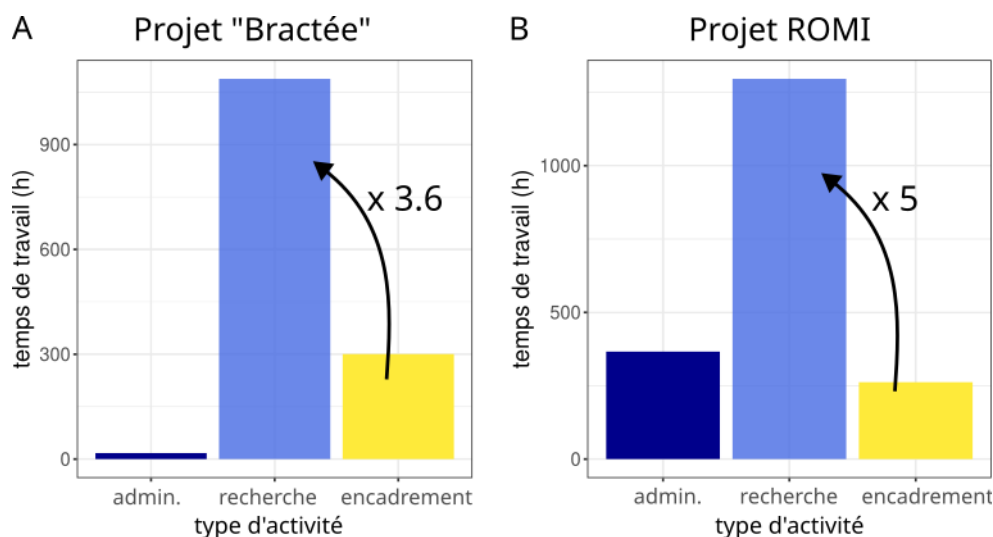


Figure 51: Comparaison du temps de travail direct et du temps d'encadrement sur des projets de recherche. **A**, Sur le projet bractée (voir pp. 45-55), j'ai encadré la thèse de Sana Dieudonné et encadré la contribution de Ruth Kristianingsih (voir aussi figure 50C). **B**, Sur le projet ROMI (pp. 67-84), j'ai encadré 3 ingénieurs CDD, 3 stagiaires L3-M1 et les contributions de deux permanents IR et IE. Ce projet européen, impliquant un grand consortium, a demandé également un important travail administratif.

2.2. Perception de mon encadrement par les personnes encadrées.

- "Comment penses-tu qu'un encadrant.e pourrait évaluer ses pratiques ?"
- "Ben le meilleur moyen c'est de demander à l'encadré." {encadré.e 1}

Partageant l'opinion de ce collègue doctorant, j'ai conçu un questionnaire que j'ai envoyé aux personnes non permanentes que j'ai encadrées (voir Annexe 5) et compilé les résultats de 12 répondants.es anonymes.

Le statut des personnes encadrées et les durées de stage étant très variables, il est forcément réducteur de donner aux réponses le même poids et les mêmes interprétations. Le stage remontant parfois à quelques années pour certains.es répondants.es, des réponses peuvent perdre en acuité. Malgré ces limites, des enseignements peuvent être dégagés des résultats. Notamment, le caractère anonyme et le fait que ces personnes ne dépendent plus de moi peut être un gage de sincérité.

Le contenu du travail (stage ou CDD) semble avoir convenu aux personnes, tant en terme d'intérêt pour le sujet que par les compétences acquises (figure 52).

Concernant mon activité d'encadrant, j'ai rempli leur attentes pour progresser de manière autonome dans le projet et surmonter des difficultés éventuelles (figure 53). Il est toutefois possible que je parvienne mieux à promouvoir une autonomie opérationnelle (*savoir travailler seul*) que stratégique (*savoir penser seul*).

Ma disponibilité et ma pédagogie constituent mes qualités saillantes, tandis que certains.es me conseillent de travailler ma patience (figure 53).

Est-ce que cette expérience de recherche....

- (Q1) ... avait un contenu scientifique intéressant et stimulant ?
- (Q2) ... vous a permis de progresser sur des compétences scientifiques/techniques ?
- (Q3) ... vous a permis de progresser sur des savoirs être professionnels ?
- (Q4) ... vous a permis de préciser votre projet/trajectoire professionnel/le?
- (Q5) ... a répondu aux attentes que vous aviez avant ?

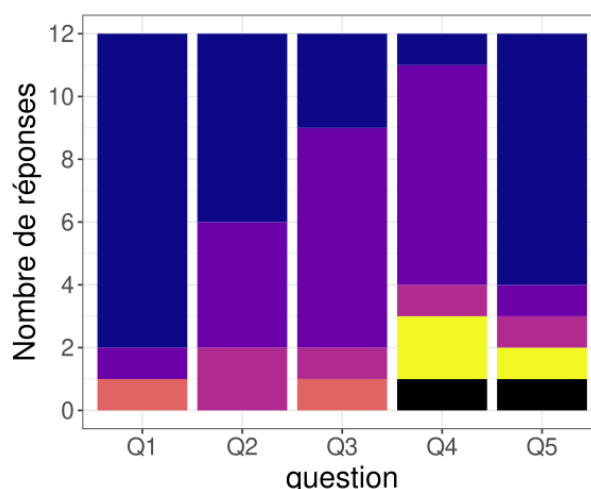
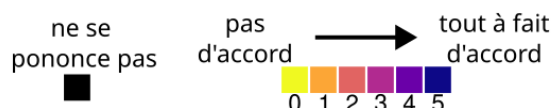
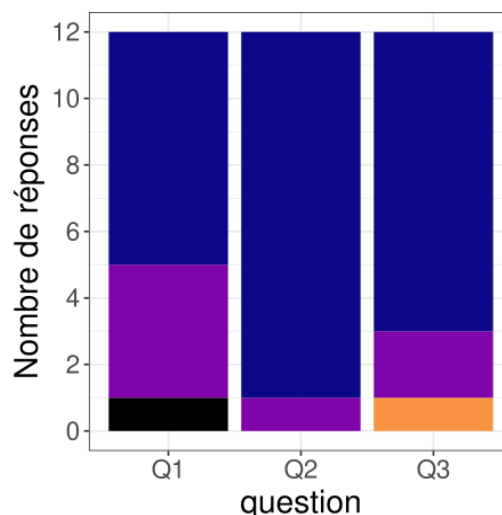
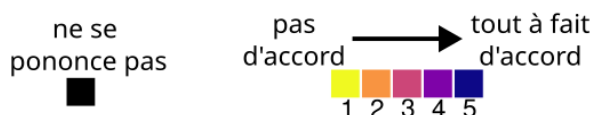


Figure 52: Questionnaire aux personnes que j'ai encadrées (1/3), évaluation du contenu. Voir questionnaire complet en annexe 5.

- (Q1) En cas de problème ou blocage, mon encadrement aide-t-il à **trouver des solutions** ?
- (Q2) mon style d'encadrement aide-t-il à **travailler** de manière **autonome** ?
- (Q3) mon style d'encadrement aide-t-il à **penser** de manière **autonome** ?



En tant qu'encadrant quelles sont **mes atouts et mes qualités** ?



en tant qu'encadrant, quelles sont les **compétences ou qualités que je devrais travailler et développer** ?

Patience (x3)

- écoute active (x1)
- Réseau professionnel (x1)
- vérifier la qualité des productions (x1)
- cibler/prioriser les discussions (x1)

Figure 53: Questionnaire aux personnes que j'ai encadrées (2/3), évaluation de mon encadrement. (N = 12 personnes). Les nuages de mots sont compilés à partir de leur fréquence dans les réponses. Voir questionnaire complet en annexe 5.

Parmi les **fonctions potentielles** d'un encadrant listées ci-dessous, lesquelles sont celles que j'assume ? (échelle de 1 = fonction non assumée à 5 = fonction bien assumée)

- (Q1) recommander de la littérature sur le sujet
- (Q2) orienter vers des experts compétents
- (Q3) organiser des interactions avec des experts compétents
- (Q4) aider dans l'organisation du projet de recherche
- (Q5) donner des conseils concernant les méthodes
- (Q6) commenter les résultats et les conclusions
- (Q7) aider à l'écriture (éditer/commenter les textes produits, rapports, articles, présentations, etc...)
- (Q8) relayer les informations sur les événements scientifiques (conférences, congrès, etc...)
- (Q9) aider pour l'après (trouver des membres de jury, aide à l'orientation, recommandations)

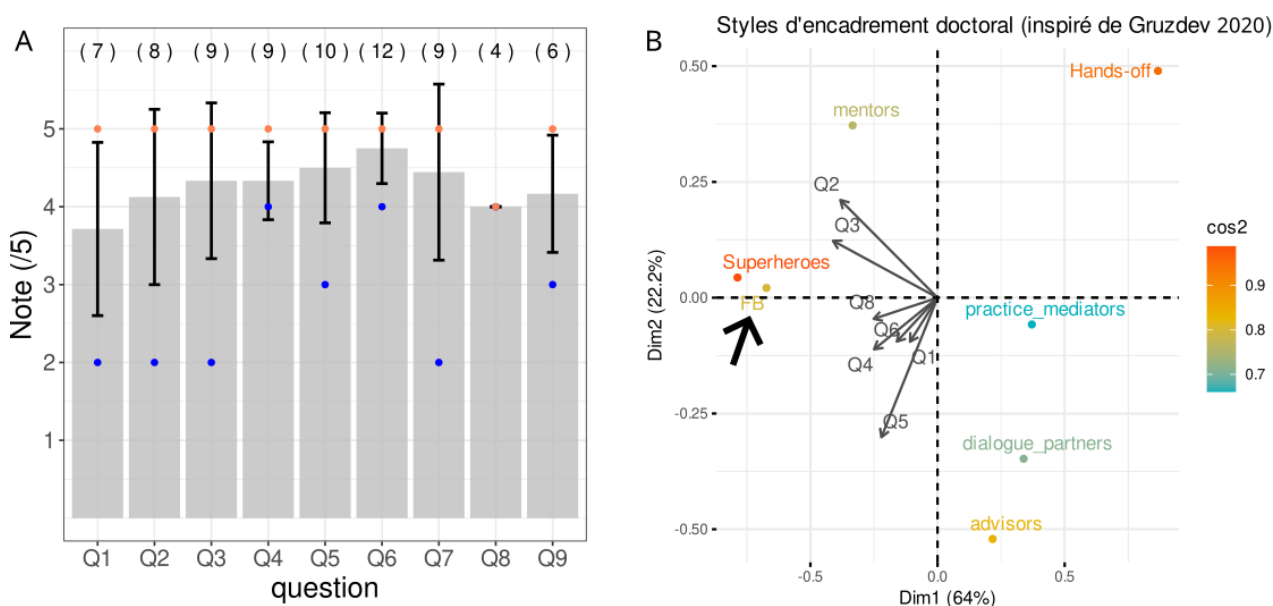


Figure 54: Questionnaire aux personnes que j'ai encadrées (3/3), positionnement de mon style d'encadrement.

Formulations de 9 questions décrivant des fonctions précises d'encadrement, notées de 1 à 5. **A**, Résultat pour chaque question, la barre grisée indiquant la moyenne, les barres d'erreur la déviation standard, les points bleus la note minimum, et oranges la maximum. Entre parenthèses : nombre de réponses. **B**, Regroupement par ACP de mon profil de notes (FB, flèche noire) avec les 6 styles proposés par Gruzdev *et al.*, 2020. L'échelle de note est harmonisée et seules les sept questions identiques ont été conservées (Q1-Q6, Q8). Les flèches grisées indiquent le poids des différentes questions dans les deux composantes principales et l'échelle de couleur cos2 indique la qualité de la représentation des différents échantillons dans le système d'axes choisis.

Pour mieux caractériser mon style d'encadrement et pouvoir me situer, j'ai repris une classification empirique récente qui repose sur une liste de onze fonctions (actions concrètes) réalisées par les directeurs.rices de thèse (Gruzdev *et al.*, 2020). Enquête réalisée en 2016 auprès de 2 034 répondants de douze universités russes en thèse dans différentes disciplines, les doctorants.es étaient invités.es à répondre par oui/non pour qualifier si leur encadrant réalisait chacune des onze fonctions. En agrégeant les réponses par la méthode des K-means, les auteurs dégagent six grands styles d'encadrements : "Superheroes", "Hands-off", "Research advisors", "Research practice mediators", "Dialogue partners", "Mentors". Pour pouvoir poser les mêmes questions à toutes les personnes que j'ai encadrées, j'ai gardé telle quelle sept formulations et reformulé deux nouvelles, plus génériques, à partir des quatre restantes (figure 54 et annexe 5). Vu le faible nombre du panel, plutôt qu'une réponse binaire, j'ai demandé de me noter de 1 à 5 sur chacune des questions. Mes points forts sont sur les commentaires des résultats/conclusions et sur l'aide méthodologique, le score le plus faible sur les recommandations

bibliographiques (figure 54A). Mon profil de notes me rapproche le plus du style "Superheroes" (figure 54B), défini par leur plus fort niveau d'engagement sur les différentes fonctions (Gruzdev et al., 2020). De façon cohérente, ce style est plus représenté dans les disciplines regroupées dans "mathematical and natural sciences" (29%).

2.3. synthèse de l'évaluation

Les personnes que j'ai encadrées sont globalement satisfaites de mon encadrement et l'on trouvé utile. Je suis également satisfait de ces expériences. Elles se sont toutes humainement bien déroulées et les personnes ont réussi à progresser dans leur stage, à acquérir des compétences techniques et générales, et à fournir les attendus minimum (livrables, rapports, thèse). La plupart ont l'impression d'avoir valorisé cette expérience dans la suite de leur parcours universitaire ou professionnel.

Mon auto-perception est globalement alignée avec celles des personnes encadrées, définissant un encadrant impliqué, disponible, pédagogue.

Toutefois, je n'avais pas forcément perçu mon impatience, chose à laquelle j'essaierai d'être plus vigilant. Par ailleurs, plusieurs signaux me confirment un point d'attention, celui laissé à l'autonomie intellectuelle et stratégique. Là encore, ce penchant est identifié dans les sciences expérimentales, particulièrement en biologie (Glorieux et al., 2025). Ma forte implication sur les projets peut inhiber la liberté intellectuelle des encadrés.es, surtout si je ne fais pas preuve d'une "écoute active" (figure 53). Par ailleurs, comme suggéré par un des mes collègues en entretien ("*Il faut les faire lire tout le temps*"), proposer plus de références bibliographiques (et leur laisser du temps pour lire) est sans doute une piste pour favoriser l'autonomie intellectuelle des personnes que j'encadre.

Enfin, je dois impérativement travailler à augmenter la fréquence des publications, qui est le point noir dans les indicateurs extérieurs des personnes que j'ai encadrées. Pour cela, je veille à limiter le nombre d'étudiants que j'encadre et j'ai mis de côté certains projets pour me focaliser sur les principaux (voir p. 59). C'est également pour cette raison que je n'ai pas souhaité encadrer de nouveaux doctorants ni passer l'HDR tant que les travaux de la première thèse que j'ai encadrée n'étaient pas soumis à un journal scientifique pour évaluation par les pairs.

3. Des pistes pour ma pratique d'encadrement futur

Avec le recul tiré du travail de préparation et de rédaction de cette HDR, je vais bien entendu essayer d'ajuster mes pratiques d'encadrement pour tenir compte des conclusions tirées ci-dessus. Je voudrais également en profiter pour expérimenter quelques nouvelles façon de faire.

Par exemple, je voudrais discuter avec mes doctorants.es des sept questions que j'ai mises en avant et les impliquer d'avantage dans le type d'encadrement qu'ils et elles souhaitent avoir. Je pense provoquer ces discussions plusieurs fois au cours de la thèse. En terme de prise d'autonomie, je trouve intéressant que les doctorants.es me perçoivent comme un auxiliaire dans leur thèse et qu'ils et elles aient conscience dès le début de pouvoir aussi influencer sur le type d'encadrement reçu. En d'autre terme, j'aimerais mettre plus d'explicite sur notre relation professionnelle au cours de la thèse et sur les attendus de chacun.e et donner les moyens au doctorant de co-construire le type d'encadrement de sa thèse. J'aimerais également proposer des interactions avec d'autres chercheurs.ses, qui participeraient à différentes facettes de l'encadrement. Par exemple, susciter l'écriture d'une revue avec un collègue, dans laquelle je ne serais pas le référent principal (voire je ne participerais pas du tout).

Pour systématiser la réflexivité et le partage d'expérience, j'aimerais créer des espaces d'échanges entre des doctorants.es et leur(s) encadrant.e(s). L'école de formation [EDEN](#) m'avait paru tellement bien que j'aimerais la reproduire à chaque thèse. Ceci n'étant pas possible vu la forte demande pour cette

formation et le peu de places disponibles, je pense qu'il est possible de s'organiser localement pour mettre en place des petits groupes qui échangent au sujet des pratiques d'encadrement et au delà, au sujet des moyens d'accéder à l'autonomie opérationnelle et stratégique attendue pour des chercheurs.ses en devenir. Ces échanges croisés participeraient à décroiser la relation un-à-un du binôme de thèse classique et, via cet exercice de réflexivité partagé, aideraient les uns à enrichir leurs pratiques d'encadrement et les autres à se construire une éthique professionnelle et leur "*esthétique*" de recherche {encadrant n°7}.

Enfin, j'essaierai d'organiser localement des séminaires de recherche en sciences de l'éducation sur la question des études doctorales, peut-être à une fréquence de un par an.

4. Épilogue

J'ai commencé ce chapitre en pointant des limites, voire les incohérences actuelles du diplôme de l'HDR. S'il est peu prudent de critiquer un diplôme auquel on candidate, il me semble tout de même intéressant de mettre en débat des évolutions possibles de l'HDR.

Au vu des discussions avec mes collègues, je pense que l'on devrait supprimer l'HDR. De l'accord de tous.tes, la qualité de l'encadrement n'en serait pas affectée et nous serions ainsi alignés avec les pratiques des universités étrangères. Vu l'incitation actuelle à passer le diplôme dès son recrutement, l'intérêt de l'exercice comme bilan scientifique et projection dans le futur pour les jeunes chercheurs.ses est également quasiment nul.

Si l'HDR est supprimée, il faudrait en revanche rendre obligatoire les formations à l'encadrement doctorale et/ou management, charge à l'école doctorale de vérifier et de faire respecter ce parcours de formation et ses modalités (autorisation de la première direction, recyclage, etc.). Pour aller dans le sens d'une ouverture de l'encadrement de thèse, et à rebours de la récente suppression des co-directions, on pourrait imaginer plusieurs statuts officiels possibles dans la direction de thèse, avec des importances différentes. Par exemple, le rôle principal, obligatoire, celui de directeur.rice scientifique, endosserait les fonctions d'expertise technique et disciplinaire ainsi que le rôle de garant de la présentation du diplôme. Ensuite, des rôles secondaires de "référénts" ou "mentors" pourraient s'ajouter, facultativement, se positionnant plus sur les fonctions d'émancipation et relationnelle (voir p. 97). Il serait très important de préciser ces rôles dès le début de thèse, avec la possibilité de définir les rôles secondaires en cours de thèse (les ajouter ou les retirer). Ce statut officiel inciterait les chercheurs.ses à consacrer du temps à des thèses plus éloignées de leur sujet de recherche et les engageraient de fait dans le partage et l'échange sur les pratiques d'encadrement. Ces statuts différents ne seraient pas des co-directions où aucune différenciation n'est faite, ni des co-encadrements plus ou moins officiels où les implications sont mal définies. Les griefs, justifiés, envers les co-directions de thèse pointent les risques de conflits entre directions ou au contraire leur désengagement simultané, laissant le ou la doctorante seule. Les doctorants.es que j'ai interrogées à ce sujet sont d'ailleurs assez défiants envers ce type d'encadrement. La définition précise des fonctions, et donc des responsabilités, ainsi que leur reconnaissance officielle, pourrait pallier ces défauts. Reste une difficulté indépassable : s'entendre à plusieurs est complexe, requiert plus de temps et des efforts de communication. Un coût à balancer par la richesse des interactions et la résilience apportée par un encadrement plus collégial.

Enfin, l'université pourrait proposer un vrai diplôme consacrant des travaux sur l'encadrement par et pour la recherche. Ce diplôme pourrait être l'occasion de valoriser des réalisations originales d'encadrement, de favoriser l'innovation pédagogique et la recherche sur les sciences de l'éducation dans l'enseignement supérieur. Les universités et les organismes nationaux de recherche (CNRS, INRAE, INSERM, INRIA, IRD, CEA, ...) devraient alors se positionner pour proposer à leurs agents des parcours de carrière qui valorisent l'investissement dans la préparation de ce diplôme.

Abréviations

Noms d'espèces :

- *A. thaliana* : *Arabidopsis thaliana*
- *C. briggsae* : *Caenorhabditis briggsae*
- *C. elegans* : *Caenorhabditis elegans*
- *O. tipulae* : *Oscheius tipulae*
- *P. patens* : *Physcomitrium patens*
- *P. pacificus* : *Pristionchus Pacificus*

Accessions d'*Arabidopsis thaliana* :

- Col-0 : *Columbia-0*
- La-1 : *Landerberg-1*
- Ler: *Landsberg erecta*
- Tsu-0 : *Tsushima-0*
- Ws-4 : *Wassilewskija-4*

Noms de gènes :

- AHP6 : ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHOTRANSFERASE 6
- ATG8E : AUTOPHAGY 8E
- ER: ERECTA
- FIL : FILAMENTOUS FLOWER
- GCN-1 : general control non-derepressible protein 1
- MIR166A: micro ARN 166A
- PIN1 : PIN-FORMED1
- SFRP-1 : Secreted Frizzled Receptor Protein-1

Autres :

- ACP : Analyse en Composantes Principales
- ARNm : ARN messenger
- BSA : bulk segregant analysis
- CNC : Computer Numerical Control
- CST : Comité de suivi de thèse
- dtw : dynamical time warping
- k-o : (mutation) knock-out
- ks test: test de Kolmogorov-Smirnov
- HDTW : Hierarchical Developmental Timeline Warping
- IA: Intelligence artificielle
- LiDAR : Light Detection And Ranging
- Lignées AM : lignées d'accumulation de mutation
- MAC : méristème apical caulinaire
- MVS :MultiView Stereo
- SfM: Structure-from-Motion
- sm-dtw : Split/Merge Dynamical Time Warping
- SNP : Single Nucleotide Polymorphism
- ROMI : RObotics for Mlcro-farms / RObotics for Mlcro-labs
- RMSE: Root Mean Square Error
- VPC: vulva precursor cell

Références

- Abley K, Locke JCW, Leyser HMO. 2016. Developmental mechanisms underlying variable, invariant and plastic phenotypes. *Ann Bot* **117**:733–748. doi:10.1093/aob/mcw016
- Alberch P, Gould SJ, Oster GF, Wake DB. 1979. Size and Shape in Ontogeny and Phylogeny. *Paleobiology* **5**:296–317.
- Al-Shehbaz IA. 2015. *Cardamine xinfenii* (Brassicaceae), a New Species from Sichuan (China). *Harvard Papers in Botany* **20**:145–146.
- Andújar D, Calle M, Fernández-Quintanilla C, Ribeiro Á, Dorado J. 2018. Three-Dimensional Modeling of Weed Plants Using Low-Cost Photogrammetry. *Sensors (Basel)* **18**:1077. doi:10.3390/s18041077
- Arber A. 1931a. Studies in Floral Morphology. II. Some Normal and Abnormal Crucifers: with a Discussion on teratology and Atavism. *The New Phytologist* **30**:172–203.
- Arber A. 1931b. Studies in Floral Morphology. I. On Some Structural Features of the Cruciferous Flower. *The New Phytologist* **30**:11–41.
- Artime O, De Domenico M. 2022. From the origin of life to pandemics: emergent phenomena in complex systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **380**:20200410. doi:10.1098/rsta.2020.0410
- Artzet S, Chen T-W, Chopard J, Brichet N, Mielewicz M, Cohen-Boulakia S, Cabrera-Bosquet L, Tardieu F, Fournier C, Pradal C. 2019. Phenomenal: An automatic open source library for 3D shoot architecture reconstruction and analysis for image-based plant phenotyping. doi:10.1101/805739
- Atlan H. 2011. *Le Vivant post-génomique ou Qu'est-ce que l'auto-organisation ?* Paris: Odile Jacob.
- Avila-Ospina L, Moison M, Yoshimoto K, Masclaux-Daubresse C. 2014. Autophagy, plant senescence, and nutrient recycling. *Journal of Experimental Botany* **65**:3799–3811. doi:10.1093/jxb/eru039
- Baer CF, Shaw F, Steding C, Baumgartner M, Hawkins A, Houppert A, Mason N, Reed M, Simonelic K, Woodard W, Lynch M. 2005. Comparative evolutionary genetics of spontaneous mutations affecting fitness in rhabditid nematodes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**:5785–5790. doi:10.1073/pnas.0406056102
- Bainbridge K, Guyomarc'h S, Bayer E, Swarup R, Bennett M, Mandel T, Kuhlemeier C. 2008. Auxin influx carriers stabilize phyllotactic patterning. *Genes Dev* **22**:810–823. doi:10.1101/gad.462608
- Balergue S, Dubreucq ,B., Chauvin ,S., Le-Clainche ,I., Le Boulaire ,F., de Rose ,R., Samson ,F., Biaudet ,V., Lecharyn ,A., Cruaud ,C., Weissenbach ,J., Caboche ,M., and Lepiniec L. 2001. Improved PCR-Walking for Large-Scale Isolation of Plant T-DNA Borders. *BioTechniques* **30**:496–504. doi:10.2144/01303bm06
- BARLOW PW. 1989. Meristems, metamers and modules and the development of shoot and root systems. *Bot j Linn Soc* **100**:255–279.
- Barnard RA, Shultz GV. 2020. “Most important is that they figure out how to solve the problem”: how do advisors conceptualize and develop research autonomy in chemistry doctoral students? *High Educ* **79**:981–999. doi:10.1007/s10734-019-00451-y
- Barnes BJ, Austin AE. 2009. The Role of Doctoral Advisors: A Look at Advising from the Advisor's Perspective. *Innov High Educ* **33**:297–315. doi:10.1007/s10755-008-9084-x
- Barthélémy D, Caraglio Y. 2007. Plant Architecture: A Dynamic, Multilevel and Comprehensive Approach to Plant Form, Structure and Ontogeny. *Annals of Botany* **99**:375–407. doi:10.1093/aob/mcl260
- Bayat S, Schranz ME, Roalson EH, Hall JC. 2018. Lessons from Cleomaceae, the Sister of Crucifers. *Trends Plant Sci* **23**:808–821. doi:10.1016/j.tplants.2018.06.010
- Bertran Garcia de Olalla E, Cerise M, Rodríguez-Maroto G, Casanova-Ferrer P, Vayssières A, Severing E, López Sampere Y, Wang K, Schäfer S, Formosa-Jordan P, Coupland G. 2024. Coordination of shoot apical meristem shape and identity by APETALA2 during floral transition in Arabidopsis. *Nat Commun* **15**:6930. doi:10.1038/s41467-024-51341-6
- Besnard F, Koutsovoulos G, Dieudonné S, Blaxter M, Félix M-A. 2017. Toward Universal Forward Genetics: Using a Draft Genome Sequence of the Nematode *Oscheius tipulae* To Identify Mutations Affecting Vulva Development. *Genetics* **206**:1747–1761. doi:10.1534/genetics.117.203521
- Besnard F, Picao-Osorio J, Dubois C, Félix M-A. 2020. A broad mutational target explains a fast rate of phenotypic evolution. *eLife* **9**:e54928. doi:10.7554/eLife.54928

- Besnard F, Refahi Y, Morin V, Marteaux B, Brunoud G, Chambrier P, Rozier F, Mirabet V, Legrand J, Lainé S, Thévenon E, Farcot E, Cellier C, Das P, Bishopp A, Dumas R, Parcy F, Helariutta Y, Boudaoud A, Godin C, Traas J, Guédon Y, Vernoux T. 2014a. Cytokinin signalling inhibitory fields provide robustness to phyllotaxis. *Nature* **505**:417–421. doi:10.1038/nature12791
- Besnard F, Refahi Y, Morin V, Marteaux B, Brunoud G, Chambrier P, Rozier F, Mirabet V, Legrand J, Lainé S, Thévenon E, Farcot E, Cellier C, Das P, Bishopp A, Dumas R, Parcy F, Helariutta Y, Boudaoud A, Godin C, Traas J, Guédon Y, Vernoux T. 2014b. Cytokinin signalling inhibitory fields provide robustness to phyllotaxis. *Nature* **505**:417–421. doi:10.1038/nature12791
- Besnard F, Rozier F, Vernoux T. 2014c. The AHP6 cytokinin signaling inhibitor mediates an auxin-cytokinin crosstalk that regulates the timing of organ initiation at the shoot apical meristem. *Plant Signal Behav* **9**.
- Besnard F, Vernoux T, Hamant O. 2011a. Organogenesis from stem cells in planta: multiple feedback loops integrating molecular and mechanical signals. *Cell Mol Life Sci* **68**:2885–2906. doi:10.1007/s00018-011-0732-4
- Besnard F, Vernoux T, Hamant O. 2011b. Organogenesis from stem cells in planta: multiple feedback loops integrating molecular and mechanical signals. *Cell Mol Life Sci* **68**:2885–2906. doi:10.1007/s00018-011-0732-4
- Boehe DM. 2016. Supervisory styles: a contingency framework. *Studies in Higher Education* **41**:399–414. doi:10.1080/03075079.2014.927853
- Bonaccorso O, Lee JE, Puaah L, Scutt CP, Golz JF. 2012. FILAMENTOUS FLOWER controls lateral organ development by acting as both an activator and a repressor. *BMC Plant Biol* **12**:176. doi:10.1186/1471-2229-12-176
- Boudon F, Pradal C, Cokelaer T, Prusinkiewicz P, Godin C. 2012. L-Py: An L-System Simulation Framework for Modeling Plant Architecture Development Based on a Dynamic Language. *Front Plant Sci* **3**. doi:10.3389/fpls.2012.00076
- Bowman JL, Alvarez J, Weigel D, Meyerowitz EM, Smyth DR. 1993. Control of flower development in *Arabidopsis thaliana* by APETALA1 and interacting genes. *Development* **119**:721–743. doi:10.1242/dev.119.3.721
- Braendle C, Baer CF, Félix M-A. 2010. Bias and Evolution of the Mutationally Accessible Phenotypic Space in a Developmental System. *PLOS Genetics* **6**:e1000877. doi:10.1371/journal.pgen.1000877
- Braendle C, Félix M-A. 2008. Plasticity and errors of a robust developmental system in different environments. *Dev Cell* **15**:714–724. doi:10.1016/j.devcel.2008.09.011
- Buendía-Monreal M, Gillmor CS. 2018. The times they are a-changin': heterochrony in plant development and evolution. *Frontiers in Plant Science* **9**. doi:10.3389/fpls.2018.01349
- Burian A, Raczyńska-Szajgin M, Borowska-Wykret D, Piatek A, Aida M, Kwiatkowska D. 2015. The CUP-SHAPED COTYLEDON2 and 3 genes have a post-meristematic effect on *Arabidopsis thaliana* phyllotaxis. *Annals of Botany* **115**:807–820. doi:10.1093/aob/mcv013
- Cai H, Melo D, Marais DLD. 2025. Disentangling variational bias: the roles of development, mutation, and selection. *Trends in Genetics* **41**:23–32. doi:10.1016/j.tig.2024.09.008
- Calderwood A, Hepworth J, Woodhouse S, Bilham L, Jones DM, Tudor E, Ali M, Dean C, Wells R, Irwin JA, Morris RJ. 2021. Comparative transcriptomics reveals desynchronisation of gene expression during the floral transition between *Arabidopsis* and *Brassica rapa* cultivars. *Quant Plant Biol* **2**:e4. doi:10.1017/qpb.2021.6
- Cao W, Zhou Jing, Yuan Y, Ye H, Nguyen HT, Chen J, Zhou Jianfeng. 2019. Quantifying Variation in Soybean Due to Flood Using a Low-Cost 3D Imaging System. *Sensors* **19**:2682. doi:10.3390/s19122682
- Cardilini APA, Risely ,Alice, and Richardson MF. 2022. Supervising the PhD: identifying common mismatches in expectations between candidate and supervisor to improve research training outcomes. *Higher Education Research & Development* **41**:613–627. doi:10.1080/07294360.2021.1874887
- Chaudhury A, Godin C. 2020. Skeletonization of Plant Point Cloud Data Using Stochastic Optimization Framework. *Front Plant Sci* **11**. doi:10.3389/fpls.2020.00773
- Chaudhury A, Hanappe P, Aza'is R, Godin C, Colliaux D. 2021. Transferring PointNet++ Segmentation from Virtual to Real Plants.
- Chaudhury AM. 1993. Nuclear Genes Controlling Male Fertility. *The Plant Cell* **5**:1277–1283. doi:10.1105/tpc.5.10.1277
- Chaumeret A. 2017. Temporalité de l'initiation des fleurs et contrôle de l'architecture de l'inflorescence (These de doctorat). Lyon.
- Chen Q, Atkinson A, Otsuga D, Christensen T, Reynolds L, Drews GN. 1999. The *Arabidopsis* FILAMENTOUS FLOWER gene is required for flower formation.

- Development* **126**:2715–2726. doi:10.1242/dev.126.12.2715
- Chen Q, Soulay F, Saudemont B, Elmayan T, Marmagne A, Masclaux-Daubresse C. 2019. Overexpression of ATG8 in Arabidopsis Stimulates Autophagic Activity and Increases Nitrogen Remobilization Efficiency and Grain Filling. *Plant and Cell Physiology* **60**:343–352. doi:10.1093/pcp/pcy214
- Cheng S, van den Bergh E, Zeng P, Zhong X, Xu J, Liu X, Hofberger J, de Bruijn S, Bhide AS, Kuelahoglu C, Bian C, Chen J, Fan G, Kaufmann K, Hall JC, Becker A, Bräutigam A, Weber APM, Shi C, Zheng Z, Li W, Lv M, Tao Y, Wang J, Zou H, Quan Z, Hibberd JM, Zhang G, Zhu X-G, Xu X, Schranz ME. 2013. The *Tarenaya hassleriana* genome provides insight into reproductive trait and genome evolution of crucifers. *Plant Cell* **25**:2813–2830. doi:10.1105/tpc.113.113480
- Chuck G, Cigan AM, Saeteurn K, Hake S. 2007. The heterochronic maize mutant *Corngrass1* results from overexpression of a tandem microRNA. *Nat Genet* **39**:544–549. doi:10.1038/ng2001
- Chuck G, Whipple C, Jackson D, Hake S. 2010. The maize SBP-box transcription factor encoded by *tasselsheath4* regulates bract development and the establishment of meristem boundaries. *Development* **137**:1243–1250. doi:10.1242/dev.048348
- Cieslak M, Khan N, Ferraro P, Soolanayakanahally R, Robinson SJ, Parkin I, McQuillan I, Prusinkiewicz P. 2022. L-system models for image-based phenomics: case studies of maize and canola. *in silico Plants* **4**:diab039. doi:10.1093/insilicoplants/diab039
- Coen E. 2001. Goethe and the ABC model of flower development. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* **324**:523–530. doi:10.1016/S0764-4469(01)01321-X
- Couder Y. 1998. Initial transitions, order and disorder in phyllotactic patterns: The ontogeny of *Helianthus annuus*. A case study. *ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE* **67**:129–150.
- Das Choudhury S, Maturu S, Samal A, Stoerger V, Awada T. 2020. Leveraging Image Analysis to Compute 3D Plant Phenotypes Based on Voxel-Grid Plant Reconstruction. *Front Plant Sci* **11**. doi:10.3389/fpls.2020.521431
- de Reuille PB, Bohn-Courseau I, Ljung K, Morin H, Carraro N, Godin C, Traas J. 2006a. Computer simulations reveal properties of the cell-cell signaling network at the shoot apex in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**:1627–1632. doi:10.1073/pnas.0510130103
- de Reuille PB, Bohn-Courseau I, Ljung K, Morin H, Carraro N, Godin C, Traas J. 2006b. Computer simulations reveal properties of the cell-cell signaling network at the shoot apex in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**:1627–1632. doi:10.1073/pnas.0510130103
- Debat V, David P. 2001. Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends in Ecology & Evolution* **16**:555–561. doi:10.1016/S0169-5347(01)02266-2
- Delattre M, Félix M-A. 2001. Polymorphism and evolution of vulval precursor cell lineages within two nematode genera, *Caenorhabditis* and *Oscheius*. *Current Biology* **11**:631–643. doi:10.1016/S0960-9822(01)00202-0
- Dichtel ML, Louvet-Vallée S, Viney ME, Félix MA, Sternberg PW. 2001. Control of vulval cell division number in the nematode *Oscheius/Dolichorhabditis* sp. CEW1. *Genetics* **157**:183–197. doi:10.1093/genetics/157.1.183
- Dichtel-Danjou M-L, Félix M-A. 2004. The two steps of vulval induction in *Oscheius tipulae* CEW1 recruit common regulators including a MEK kinase. *Dev Biol* **265**:113–126. doi:10.1016/j.ydbio.2003.09.010
- Dieudonné S, Ruth K, Stéphanie L, Béline J, Véronique V, Rachel W, Richard M, Fabrice B. 2025. Arabidopsis natural variation induces complex transcriptomic heterochronies at the floral transition and perturbs the coupling between leaf and flower development by an unexpected genetic control. doi:10.1101/2024.08.12.607587
- Dinneny JR, Yadegari R, Fischer RL, Yanofsky MF, Weigel D. 2004. The role of JAGGED in shaping lateral organs. *Development* **131**:1101–1110. doi:10.1242/dev.00949
- Dobrev MP, Camacho J, Abzhanov A. 2022. Time to synchronize our clocks: Connecting developmental mechanisms and evolutionary consequences of heterochrony. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* **338**:87–106. doi:10.1002/jez.b.23103
- Douady S, Couder Y. 1996a. Phyllotaxis as a Dynamical Self Organizing Process Part II: The Spontaneous Formation of a Periodicity and the Coexistence of Spiral and Whorled Patterns. *Journal of Theoretical Biology* **178**:275–294. doi:10.1006/jtbi.1996.0025
- Douady S, Couder Y. 1996b. Phyllotaxis as a Dynamical Self Organizing Process Part III: The Simulation of the Transient Regimes of Ontogeny. *Journal of Theoretical Biology* **178**:295–312. doi:10.1006/jtbi.1996.0026
- Douglas SJ, Li B, Kliebenstein DJ, Nambara E, Riggs CD. 2017. A novel Filamentous Flower mutant suppresses brevipedicellus developmental defects and modulates glucosinolate and auxin levels. *PLoS One* **12**:e0177045. doi:10.1371/journal.pone.0177045

- Edelman LB, Chandrasekaran S, Price ND. 2010. Systems Biology of Embryogenesis. *Reprod Fertil Dev* **22**:98–105. doi:10.1071/RD09215
- Endress PK. 2006. Angiosperm Floral Evolution: Morphological Developmental Framework Advances in Botanical Research, Developmental Genetics of the Flower. Academic Press. pp. 1–61. doi:10.1016/S0065-2296(06)44001-5
- Fal K, Liu M, Duisembekova A, Refahi Y, Haswell ES, Hamant O. 2017. Phyllotactic regularity requires the Paf1 complex in Arabidopsis. *Development* **144**:4428–4436. doi:10.1242/dev.154369
- Farhadifar R, Baer CF, Valfort A-C, Andersen EC, Müller-Reichert T, Delattre M, Needleman DJ. 2015. Scaling, Selection, and Evolutionary Dynamics of the Mitotic Spindle. *Current Biology* **25**:732–740. doi:10.1016/j.cub.2014.12.060
- Farhadifar R, Ponciano JM, Andersen EC, Needleman DJ, Baer CF. 2016. Mutation Is a Sufficient and Robust Predictor of Genetic Variation for Mitotic Spindle Traits in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **203**:1859–1870. doi:10.1534/genetics.115.185736
- Félix M-A. 2012. Evolution in developmental phenotype space. *Current Opinion in Genetics & Development, Genetics of system biology* **22**:593–599. doi:10.1016/j.gde.2012.08.003
- Félix M-A. 2007. Cryptic quantitative evolution of the vulva intercellular signaling network in *Caenorhabditis*. *Curr Biol* **17**:103–114. doi:10.1016/j.cub.2006.12.024
- Félix M-A, Barkoulas M. 2015. Pervasive robustness in biological systems. *Nat Rev Genet* **16**:483–496. doi:10.1038/nrg3949
- Félix M-A, Wagner A. 2006. Robustness and evolution: concepts, insights and challenges from a developmental model system. *Heredity sous presse*:? doi:10.1038/sj.hdy.6800915
- Félix M-AK. 2006. *Oscheius tipulae*. *WormBook* 1–8. doi:10.1895/wormbook.1.119.1
- Franke A, Arvidsson B. 2011. Research supervisors' different ways of experiencing supervision of doctoral students. *Studies in Higher Education* **36**:7–19. doi:10.1080/03075070903402151
- Frischer J, Larsson K. 2000. Laissez-faire in research education — an inquiry into a Swedish doctoral program. *High Educ Policy* **13**:131–155. doi:10.1016/S0952-8733(99)00022-7
- Furbank RT, Tester M. 2011. Phenomics--technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends Plant Sci* **16**:635–644. doi:10.1016/j.tplants.2011.09.005
- Gaillochet C, Daum G, Lohmann JU. 2015a. O Cell, Where Art Thou? The mechanisms of shoot meristem patterning. *Curr Opin Plant Biol* **23C**:91–97. doi:10.1016/j.pbi.2014.11.002
- Gaillochet C, Daum G, Lohmann JU. 2015b. O Cell, Where Art Thou? The mechanisms of shoot meristem patterning. *Current Opinion in Plant Biology, SI: Growth and development* **23**:91–97. doi:10.1016/j.pbi.2014.11.002
- Galvan-Ampudia CS, Cerutti G, Legrand J, Brunoud G, Martin-Arevalillo R, Azais R, Bayle V, Moussu S, Wenzl C, Jaillais Y, Lohmann JU, Godin C, Vernoux T. 2020. Temporal integration of auxin information for the regulation of patterning. *eLife* **9**:e55832. doi:10.7554/eLife.55832
- Gardner SK. 2008. "What's too Much and What's too Little?": The Process of Becoming an Independent Researcher in Doctoral Education. *The Journal of Higher Education* **79**:326–350.
- Gelová Z, Gallei M, Pernisová M, Brunoud G, Zhang X, Glanc M, Li L, Michalko J, Pavlovičová Z, Verstraeten I, Han H, Hajný J, Hauschild R, Čovanová M, Zwiewka M, Hoermayer L, Fendrych M, Xu T, Vernoux T, Friml J. 2021. Developmental roles of Auxin Binding Protein 1 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science* **303**:110750. doi:10.1016/j.plantsci.2020.110750
- German DA, Hendriks KP, Koch MA, Lens F, Lysak MA, Bailey CD, Mummenhoff K, Al-Shehbaz IA. 2023. An updated classification of the Brassicaceae (Cruciferae). *PhytoKeys* **220**:127–144. doi:10.3897/phytokeys.220.97724
- Geuten K, Coenen H. 2013. Heterochronic genes in plant evolution and development. *Front Plant Sci* **4**. doi:10.3389/fpls.2013.00381
- Glorieux A, Spruyt B, van Tienoven TP. 2025. Both a Blessing and a Curse: A Qualitative Study of the Experiences and Challenges of Autonomy During the Doctoral Trajectory in Belgium. *International Journal of Doctoral Studies* **20**.
- Godin C, Besnard F. 2023. Hierarchical Developmental Timeline Warping: a generic method to design realistic plant architecture models 10th Conference on Structural-Functional Plant Models. Berlin (DE), France.
- Goldshmidt A, Alvarez JP, Bowman JL, Eshed Y. 2008. Signals derived from YABBY gene activities in organ primordia regulate growth and partitioning of Arabidopsis shoot apical meristems. *Plant Cell* **20**:1217–1230. doi:10.1105/tpc.107.057877
- Gonzalez de la Rosa PM, Thomson M, Trivedi U, Tracey A, Tandonnet S, Blaxter M. 2021. A telomere-to-telomere

- assembly of *Oscheius tipulae* and the evolution of rhabditid nematode chromosomes. *G3 Genes|Genomes|Genetics* **11**:jkaa020. doi:10.1093/g3journal/jkaa020
- Grant K, Hackney R, Edgar D. 2014. Postgraduate Research Supervision: An 'Agreed' Conceptual View of Good Practice through Derived Metaphors. *International Journal of Doctoral Studies* **9**:043-060.
- Grimbert S, Tietze K, Barkoulas M, Sternberg PW, Félix M-A, Braendle C. 2016. Anchor cell signaling and vulval precursor cell positioning establish a reproducible spatial context during *C. elegans* vulval induction. *Dev Biol* **416**:123-135. doi:10.1016/j.ydbio.2016.05.036
- Gruzdev I, Terentev E, Dzharfarova Z. 2020. Superhero or hands-off supervisor? An empirical categorization of PhD supervision styles and student satisfaction in Russian universities. *High Educ* **79**:773-789. doi:10.1007/s10734-019-00437-w
- Guédon Y, Refahi Y, Besnard F, Farcot E, Godin C, Vernoux T. 2013a. Pattern identification and characterization reveal permutations of organs as a key genetically controlled property of post-meristematic phyllotaxis. *Journal of Theoretical Biology* **338**:94-110. doi:10.1016/j.jtbi.2013.07.026
- Guédon Y, Refahi Y, Besnard F, Farcot E, Godin C, Vernoux T. 2013b. Pattern identification and characterization reveal permutations of organs as a key genetically controlled property of post-meristematic phyllotaxis. *J Theor Biol* **338**:94-110. doi:10.1016/j.jtbi.2013.07.026
- Guenot B, Bayer E, Kierzkowski D, Smith RS, Mandel T, Žádníková P, Benková E, Kuhlemeier C. 2012. Pin1-independent leaf initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **159**:1501-1510. doi:10.1104/pp.112.200402
- Gupta BP, Johnsen R, Chen N. 2007. Genomics and biology of the nematode *Caenorhabditis briggsae*. *WormBook* 1-16. doi:10.1895/wormbook.1.136.1
- Ha CM, Jun JH, Fletcher JC. 2010. Shoot apical meristem form and function. *Curr Top Dev Biol* **91**:103-140. doi:10.1016/S0070-2153(10)91004-1
- Harterink M, Kim DH, Middelkoop TC, Doan TD, van Oudenaarden A, Korswagen HC. 2011. Neuroblast migration along the anteroposterior axis of *C. elegans* is controlled by opposing gradients of Wnts and a secreted Frizzled-related protein. *Development* **138**:2915-2924. doi:10.1242/dev.064733
- Heisler Marcus G., Ohno C, Das P, Sieber P, Reddy GV, Long JA, Meyerowitz EM. 2005. Patterns of auxin transport and gene expression during primordium development revealed by live imaging of the *Arabidopsis* inflorescence meristem. *Curr Biol* **15**:1899-1911. doi:10.1016/j.cub.2005.09.052
- Heisler Marcus G, Ohno C, Das P, Sieber P, Reddy GV, Long JA, Meyerowitz EM. 2005. Patterns of auxin transport and gene expression during primordium development revealed by live imaging of the *Arabidopsis* inflorescence meristem. *Curr Biol* **15**:1899-1911. doi:10.1016/j.cub.2005.09.052
- Hempel FD, Zambryski PC, Feldman LJ. 1998. Photoinduction of flower identity in vegetatively biased primordia. *Plant Cell* **10**:1663-1676. doi:10.1105/tpc.10.10.1663
- HOFMEISTER W. 1868. Allgemeine Morphologie der Gewächse. *Handbuch der Physiologischen Botanik* 405-654.
- Hong L, Fletcher JC. 2023. Stem Cells: Engines of Plant Growth and Development. *International Journal of Molecular Sciences* **24**:14889. doi:10.3390/ijms241914889
- Houle D, Bolstad GH, van der Linde K, Hansen TF. 2017. Mutation predicts 40 million years of fly wing evolution. *Nature* **548**:447-450. doi:10.1038/nature23473
- Houle D, Fierst J. 2013. PROPERTIES OF SPONTANEOUS MUTATIONAL VARIANCE AND COVARIANCE FOR WING SIZE AND SHAPE IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*. *Evolution* **67**:1116-1130. doi:10.1111/j.1558-5646.2012.01838.x
- Itoh JI, Hasegawa A, Kitano H, Nagato Y. 1998. A recessive heterochronic mutation, *plastochron1*, shortens the *plastochron* and elongates the vegetative phase in rice. *Plant Cell* **10**:1511-1522. doi:10.1105/tpc.10.9.1511
- Itoh JI, Kitano H, Matsuoka M, Nagato Y. 2000. Shoot organization genes regulate shoot apical meristem organization and the pattern of leaf primordium initiation in rice. *Plant Cell* **12**:2161-2174.
- Jackson D, Hake S. 1999. Control of phyllotaxy in maize by the *abphy1* gene. *Development* **126**:315-323.
- Jönsson H, Heisler MG, Shapiro BE, Meyerowitz EM, Mjolsness E. 2006. An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**:1633-1638. doi:10.1073/pnas.0509839103
- Kawakatsu T, Itoh J-I, Miyoshi K, Kurata N, Alvarez N, Veit B, Nagato Y. 2006. *PLASTOCHRON2* regulates leaf initiation and maturation in rice. *Plant Cell* **18**:612-625. doi:10.1105/tpc.105.037622
- Kawakatsu T, Taramino G, Itoh J-I, Allen J, Sato Y, Hong S-K, Yule R, Nagasawa N, Kojima M, Kusaba M, Sakakibara H, Sakai H, Nagato Y. 2009. *PLASTOCHRON3/GOLIATH* encodes a glutamate carboxypeptidase required for

- proper development in rice. *Plant J* **58**:1028–1040. doi:10.1111/j.1365-313X.2009.03841.x
- Keightley PD, Eyre-Walker A. 1999. Terumi Mukai and the Riddle of Deleterious Mutation Rates. *Genetics* **153**:515–523. doi:10.1093/genetics/153.2.515
- Kiefer M, Schmickl R, German DA, Mandáková T, Lysak MA, Al-Shehbaz IA, Franzke A, Mummenhoff K, Stamatakis A, Koch MA. 2014. BrassiBase: introduction to a novel knowledge database on Brassicaceae evolution. *Plant Cell Physiol* **55**:e3. doi:10.1093/pcp/pct158
- Kinoshita A, Vayssières A, Richter R, Sang Q, Roggen A, van Driel AD, Smith RS, Coupland G. 2020. Regulation of shoot meristem shape by photoperiodic signaling and phytohormones during floral induction of Arabidopsis. *Elife* **9**:e60661. doi:10.7554/eLife.60661
- Kiontke K, Barrière A, Kolotuev I, Podbilewicz B, Sommer R, Fitch DHA, Félix M-A. 2007. Trends, stasis, and drift in the evolution of nematode vulva development. *Curr Biol* **17**:1925–1937. doi:10.1016/j.cub.2007.10.061
- Klodt M, Cremers D. 2015. High-Resolution Plant Shape Measurements from Multi-view Stereo Reconstruction In: Agapito L, Bronstein MM, Rother C, editors. Computer Vision - ECCV 2014 Workshops. Cham: Springer International Publishing. pp. 174–184. doi:10.1007/978-3-319-16220-1_13
- Koenderink NJJP, Wigham MLI, Golbach FBTF, Otten GW, Gerlich RJH, Zedde HJ van de. 2009. MARVIN : high speed 3D imaging for seedling classification Precision Agriculture '09 : Papers Presented at the 7th European Conference on Precision Agriculture, Wageningen, The Netherlands, July 6-8, 2009. Presented at the 7th European conference on precision agriculture, Wageningen, the Netherlands. Wageningen Academic Publishers. pp. 279–286.
- Kong S, Zhu M, Roeder AHK. 2024. Self-organization underlies developmental robustness in plants. *Cells & Development* **203936**. doi:10.1016/j.cdev.2024.203936
- Kristianingsih R. 2024. greatR: Gene Registration from Expression and Time-Courses in R.
- Kroll JR, Tsiaxiras J, van Zon JS. 2020. Variability in β -catenin pulse dynamics in a stochastic cell fate decision in *C. elegans*. *Dev Biol* **461**:110–123. doi:10.1016/j.ydbio.2020.02.004
- Kuhlemeier C. 2017. Phyllotaxis. *Curr Biol* **27**:R882–R887. doi:10.1016/j.cub.2017.05.069
- Kuhlemeier C. 2007. Phyllotaxis. *Trends Plant Sci* **12**:143–150. doi:10.1016/j.tplants.2007.03.004
- Kumar S, Koutsovoulos G, Kaur G, Blaxter M. 2012. Toward 959 nematode genomes. *Worm* **1**:42–50. doi:10.4161/worm.19046
- Kumar V, Stracke E. 2025. Evaluating the implementation of a research-informed tool for dialogic feedback in doctoral supervision. *Innovations in Education and Teaching International* **0**:1–17. doi:10.1080/14703297.2025.2456235
- Kumaran MK, Bowman JL, Sundaresan V. 2002. YABBY polarity genes mediate the repression of KNOX homeobox genes in Arabidopsis. *Plant Cell* **14**:2761–2770.
- Kumaran MK, Ye D, Yang W-C, Griffith ME, Chaudhury AM, Sundaresan V. 1999. Molecular cloning of ABNORMAL FLORAL ORGANS: a gene required for flower development in Arabidopsis. *Sex Plant Reprod* **12**:118–122. doi:10.1007/s004970050180
- Kwiatkowska D. 2006. Flower primordium formation at the Arabidopsis shoot apex: quantitative analysis of surface geometry and growth. *J Exp Bot* **57**:571–580. doi:10.1093/jxb/erj042
- Landrein B, Formosa-Jordan P, Malivert A, Schuster C, Melnyk CW, Yang W, Turnbull C, Meyerowitz EM, Locke JCW, Jönsson H. 2018. Nitrate modulates stem cell dynamics in Arabidopsis shoot meristems through cytokinins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**:1382–1387. doi:10.1073/pnas.1718670115
- Landrein B, Hamant O. 2013. How mechanical stress controls microtubule behavior and morphogenesis in plants: history, experiments and revisited theories. *Plant J* **75**:324–338. doi:10.1111/tpj.12188
- Landrein B, Lathe R, Bringmann M, Vouillot C, Ivakov A, Boudaoud A, Persson S, Hamant O. 2013. Impaired Cellulose Synthase Guidance Leads to Stem Torsion and Twists Phyllotactic Patterns in Arabidopsis. *Current Biology* **23**:895–900. doi:10.1016/j.cub.2013.04.013
- Landrein B, Refahi Y, Besnard F, Hervieux N, Mirabet V, Boudaoud A, Vernoux T, Hamant O. 2015. Meristem size contributes to the robustness of phyllotaxis in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany* **66**:1317–1324. doi:10.1093/jxb/eru482
- Laurentini A. 1994. The Visual Hull Concept for Silhouette-Based Image Understanding. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* **16**:150–162. doi:10.1109/34.273735
- Lee A. 2008. How are doctoral students supervised? Concepts of doctoral research supervision. *Studies in Higher Education* **33**:267–281. doi:10.1080/03075070802049202

- Lemmon ZH, Park SJ, Jiang K, Van Eck J, Schatz MC, Lippman ZB. 2016. The evolution of inflorescence diversity in the nightshades and heterochrony during meristem maturation. *Genome Res* **26**:1676–1686. doi:10.1101/gr.207837.116
- Levin M, Anavy L, Cole AG, Winter E, Mostov N, Khair S, Senderovich N, Kovalev E, Silver DH, Feder M, Fernandez-Valverde SL, Nakanishi N, Simmons D, Simakov O, Larsson T, Liu S-Y, Jerafi-Vider A, Yaniv K, Ryan JF, Martindale MQ, Rink JC, Arendt D, Degnan SM, Degnan BM, Hashimshony T, Yanai I. 2016. The mid-developmental transition and the evolution of animal body plans. *Nature* **531**:637–641. doi:10.1038/nature16994
- Li D, Quan C, Song Z, Li X, Yu G, Li C, Muhammad A. 2021. High-Throughput Plant Phenotyping Platform (HT3P) as a Novel Tool for Estimating Agronomic Traits From the Lab to the Field. *Front Bioeng Biotechnol* **8**. doi:10.3389/fbioe.2020.623705
- Li W, Wu S, Wen W, Lu X, Liu H, Zhang M, Xiao P, Guo X, Zhao C. 2024. Using high-throughput phenotype platform MVS-Pheno to reconstruct the 3D morphological structure of wheat. *AoB PLANTS* **16**:plae019. doi:10.1093/aobpla/plae019
- Li Y, Liu J, Zhang B, Wang Y, Yao J, Zhang X, Fan B, Li X, Hai Y, Fan X. 2022. Three-dimensional reconstruction and phenotype measurement of maize seedlings based on multi-view image sequences. *Front Plant Sci* **13**. doi:10.3389/fpls.2022.974339
- Liu S, Acosta-Gamboa LM, Huang X, Lorence A. 2017. Novel Low Cost 3D Surface Model Reconstruction System for Plant Phenotyping. *Journal of Imaging* **3**:39. doi:10.3390/jimaging3030039
- Long J, Barton MK. 2000. Initiation of axillary and floral meristems in Arabidopsis. *Dev Biol* **218**:341–353. doi:10.1006/dbio.1999.9572
- Louvet-Vallée S, Kolotuev I, Podbilewicz B, Félix M-A. 2003. Control of vulval competence and centering in the nematode *Oscheius* sp. 1 CEW1. *Genetics* **163**:133–146. doi:10.1093/genetics/163.1.133
- Lugassi N, Nakayama N, Bochnik R, Zik M. 2010. A novel allele of FILAMENTOUS FLOWER reveals new insights on the link between inflorescence and floral meristem organization and flower morphogenesis. *BMC Plant Biol* **10**:131. doi:10.1186/1471-2229-10-131
- Lynch JP, Brown KM. 2012. New roots for agriculture: exploiting the root phenome. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **367**:1598–1604. doi:10.1098/rstb.2011.0243
- Lynch M. 2007. The frailty of adaptive hypotheses for the origins of organismal complexity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104** **Suppl** **1**:8597–8604. doi:10.1073/pnas.0702207104
- Mach J. 2010. Different Words, Same Message: How Grasses and Arabidopsis Say “Hold the Bract.” *The Plant Cell* **22**:538. doi:10.1105/tpc.110.220311
- Mähönen AP, Bishopp A, Higuchi M, Nieminen KM, Kinoshita K, Törmäkangas K, Ikeda Y, Oka A, Kakimoto T, Helariutta Y. 2006. Cytokinin signaling and its inhibitor AHP6 regulate cell fate during vascular development. *Science* **311**:94–98. doi:10.1126/science.1118875
- Manuela D, Xu M. 2020. Patterning a Leaf by Establishing Polarities. *Front Plant Sci* **11**. doi:10.3389/fpls.2020.568730
- Martin A, Orgogozo V. 2013. The Loci of Repeated Evolution: A Catalog of Genetic Hotspots of Phenotypic Variation. *Evolution* **67**:1235–1250. doi:10.1111/evo.12081
- Masek A, Alias M. 2020. A Review of Effective Doctoral Supervision: What Is It and How Can We Achieve It? *Universal Journal of Educational Research* **8**:2493–2500. doi:10.13189/ujer.2020.080633
- Masel J, Siegal ML. 2009. Robustness: mechanisms and consequences. *Trends in Genetics* **25**:395–403. doi:10.1016/j.tig.2009.07.005
- Masel J, Trotter MV. 2010. Robustness and Evolvability. *Trends in Genetics* **26**:406–414. doi:10.1016/j.tig.2010.06.002
- McColgan Á, DiFrisco J. 2024. Understanding developmental system drift. *Development* **151**:dev203054. doi:10.1242/dev.203054
- Mestek Boukhibar L, Barkoulas M. 2016. The developmental genetics of biological robustness. *Annals of Botany* **117**:699–707. doi:10.1093/aob/mcv128
- Mir RR, Reynolds M, Pinto F, Khan MA, Bhat MA. 2019. High-throughput phenotyping for crop improvement in the genomics era. *Plant Science, The 4th International Plant Phenotyping Symposium* **282**:60–72. doi:10.1016/j.plantsci.2019.01.007
- Mirabet V, Besnard F, Vernoux T, Boudaoud A. 2012a. Noise and Robustness in Phyllotaxis. *PLOS Computational Biology* **8**:e1002389. doi:10.1371/journal.pcbi.1002389
- Mirabet V, Besnard F, Vernoux T, Boudaoud A. 2012b. Noise and robustness in phyllotaxis. *PLoS Comput Biol* **8**:e1002389. doi:10.1371/journal.pcbi.1002389
- Mirande K, Godin C, Tisserand M, Charlaix J, Besnard F, Hétroy-Wheeler F. 2022. A graph-based approach for simultaneous semantic and instance segmentation of plant 3D point clouds. *Frontiers in Plant Science* **13**.

- Müller MBD, Kasturi P, Jayaraj GG, Hartl FU. 2023. Mechanisms of readthrough mitigation reveal principles of GCN1-mediated translational quality control. *Cell* **186**:3227-3244.e20. doi:10.1016/j.cell.2023.05.035
- Nole-Wilson S, Krizek BA. 2006. AINTEGUMENTA contributes to organ polarity and regulates growth of lateral organs in combination with YABBY genes. *Plant Physiol* **141**:977-987. doi:10.1104/pp.106.076604
- Nukazuka A, Fujisawa H, Inada T, Oda Y, Takagi S. 2008. Semaphorin controls epidermal morphogenesis by stimulating mRNA translation via eIF2 α in *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev* **22**:1025-1036. doi:10.1101/gad.1644008
- Okada K, Komaki MK, Shimura Y. 1989. Mutational analysis of pistil structure and development of *Arabidopsis thaliana*. *Cell Differ Dev* **28**:27-37. doi:10.1016/0922-3371(89)90020-8
- O'Malley RC, Alonso JM, Kim CJ, Leisse TJ, Ecker JR. 2007. An adapter ligation-mediated PCR method for high-throughput mapping of T-DNA inserts in the *Arabidopsis* genome. *Nat Protoc* **2**:2910-2917. doi:10.1038/nprot.2007.425
- Ossowski S, Schneeberger K, Lucas-Lledó JI, Warthmann N, Clark RM, Shaw RG, Weigel D, Lynch M. 2010. The rate and molecular spectrum of spontaneous mutations in *Arabidopsis thaliana*. *Science* **327**:92-94. doi:10.1126/science.1180677
- Pan H, Hétroy-Wheeler F, Charlaix J, Colliaux D. 2021. Multi-scale Space-time Registration of Growing Plants2021 International Conference on 3D Vision (3DV). Presented at the 2021 International Conference on 3D Vision (3DV). pp. 310-319. doi:10.1109/3DV53792.2021.00041
- Paulus S. 2019. Measuring crops in 3D: using geometry for plant phenotyping. *Plant Methods* **15**:103. doi:10.1186/s13007-019-0490-0
- Paulus S, Behmann J, Mahlein A-K, Plümer L, Kuhlmann H. 2014. Low-Cost 3D Systems: Suitable Tools for Plant Phenotyping. *Sensors* **14**:3001-3018. doi:10.3390/s140203001
- Peaucelle A, Morin H, Traas J, Laufs P. 2007. Plants expressing a miR164-resistant CUC2 gene reveal the importance of post-meristematic maintenance of phyllotaxis in *Arabidopsis*. *Development* **134**:1045-1050. doi:10.1242/dev.02774
- Pénigault J-B, Félix M-A. 2011. Evolution of a system sensitive to stochastic noise: P3.p cell fate in *Caenorhabditis*. *Developmental Biology* **357**:419-427. doi:10.1016/j.ydbio.2011.05.675
- Petrone-Mendoza E, Vergara-Silva F, Olson ME. 2023. Plant morpho evo-devo. *Trends Plant Sci* **28**:1257-1276. doi:10.1016/j.tplants.2023.06.007
- Picao-Osorio J, Bouleau C, Rosa PMG de la, Stevens L, Fekonja N, Blaxter M, Braendle C, Félix M-A. 2025. Evolution of developmental bias explains divergent patterns of phenotypic evolution. doi:10.1101/2025.02.04.636455
- Pinon V, Prasad K, Grigg SP, Sanchez-Perez GF, Scheres B. 2013. Local auxin biosynthesis regulation by PLETHORA transcription factors controls phyllotaxis in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **110**:1107-1112. doi:10.1073/pnas.1213497110
- Poethig RS. 2003. Phase change and the regulation of developmental timing in plants. *Science* **301**:334-336. doi:10.1126/science.1085328
- Polkinghorne M, Taylor J, Knight F, Stewart N. 2023. Doctoral Supervision: A Best Practice Review. *Encyclopedia* **3**:46-59. doi:10.3390/encyclopedia3010004
- Poulet A, Pflieger D, Merret R, Carpentier M-C, Schiaffini M, Zuber H, Gagliardi D, Garcia D. 2024. Multi-transcriptomics identifies targets of the endoribonuclease DNE1 and highlights its coordination with decapping. *Plant Cell* **36**:3674-3688. doi:10.1093/plcell/koae175
- Prenner G, Vergara-Silva F, Rudall PJ. 2009. The key role of morphology in modelling inflorescence architecture. *Trends Plant Sci* **14**:302-309. doi:10.1016/j.tplants.2009.03.004
- Prusinkiewicz P, Erasmus Y, Lane B, Harder LD, Coen E. 2007. Evolution and Development of Inflorescence Architectures. *Science* **316**:1452-1456. doi:10.1126/science.1140429
- Prusinkiewicz P, Lindenmayer A. 1990. The Algorithmic Beauty of Plants, The Virtual Laboratory. New York, NY: Springer. doi:10.1007/978-1-4613-8476-2
- Refahi Y, Brunoud G, Farcot E, Jean-Marie A, Pulkkinen M, Vernoux T, Godin C. 2016. A stochastic multicellular model identifies biological watermarks from disorders in self-organized patterns of phyllotaxis. *eLife* **5**:e14093. doi:10.7554/eLife.14093
- Refahi Y, Farcot E, Guédon Y, Besnard F, Vernoux T, Godin C. 2011. A combinatorial model of phyllotaxis perturbations in *Arabidopsis thaliana*. Presented at the 22nd Annual Symposium on Combinatorial Pattern Matching, Palermo, Italy.
- Reinhardt D, Pesce E-R, Stieger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, Traas J, Friml J, Kuhlemeier C. 2003a.

- Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* **426**:255–260. doi:10.1038/nature02081
- Reinhardt D, Pesce E-R, Stieger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, Traas J, Friml J, Kuhlemeier C. 2003b. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* **426**:255–260. doi:10.1038/nature02081
- Ricou A, Géry C, Horlow C, Loudet O, Camilleri C. 2024. The Versailles Arabidopsis Stock Center (VASC): original genetic resources exploiting both induced and natural diversity to investigate gene functions and analyze the impact of variation on plant biology. *Genetic Resources* 70–77. doi:10.46265/genresj.HNCM8135
- Rossi R, Leolini C, Costafreda-Aumedes S, Leolini L, Bindi M, Zaldei A, Moriondo M. 2020. Performances Evaluation of a Low-Cost Platform for High-Resolution Plant Phenotyping. *Sensors (Basel)* **20**:3150. doi:10.3390/s20113150
- Rousakis A, Vlassis A, Vlantí A, Patera S, Thireos G, Syntichaki P. 2013. The general control nonderepressible-2 kinase mediates stress response and longevity induced by target of rapamycin inactivation in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* **12**:742–751. doi:10.1111/accel.12101
- Rutter MT, Roles A, Conner JK, Shaw RG, Shaw FH, Schneeberger K, Ossowski S, Weigel D, Fenster CB. 2012. Fitness of *Arabidopsis thaliana* mutation accumulation lines whose spontaneous mutations are known. *Evolution* **66**:2335–2339. doi:10.1111/j.1558-5646.2012.01583.x
- Sadier A, Sears KE, Womack M. 2022. Unraveling the heritage of lost traits. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* **338**:107–118. doi:10.1002/jez.b.23030
- Sakoe H, Chiba S. 1978. Dynamic programming algorithm optimization for spoken word recognition. *IEEE Trans Acoust, Speech, Signal Process* **26**:43–49. doi:10.1109/TASSP.1978.1163055
- Salter WT, Shrestha A, Barbour MM. 2021. Open source 3D phenotyping of chickpea plant architecture across plant development. *Plant Methods* **17**:95. doi:10.1186/s13007-021-00795-6
- Samiei S. 2020. Contributions to low-cost imaging and machine learning for plant phenotyping (These de doctorat). Angers.
- Sang Q, Vayssières A, Ó'Maoiléidigh DS, Yang X, Vincent C, Bertran Garcia de Olalla E, Cerise M, Franzen R, Coupland G. 2022. MicroRNA172 controls inflorescence meristem size through regulation of APETALA2 in *Arabidopsis*. *New Phytol* **235**:356–371. doi:10.1111/nph.18111
- Sawa S, Ito T, Shimura Y, Okada K. 1999a. FILAMENTOUS FLOWER controls the formation and development of *Arabidopsis* inflorescences and floral meristems. *Plant Cell* **11**:69–86. doi:10.1105/tpc.11.1.69
- Sawa S, Watanabe K, Goto K, Liu YG, Shibata D, Kanaya E, Morita EH, Okada K. 1999b. FILAMENTOUS FLOWER, a meristem and organ identity gene of *Arabidopsis*, encodes a protein with a zinc finger and HMG-related domains. *Genes Dev* **13**:1079–1088. doi:10.1101/gad.13.9.1079
- Scharr H, Briese C, Embgenbroich P, Fischbach A, Fiorani F, Müller-Linow M. 2017. Fast High Resolution Volume Carving for 3D Plant Shoot Reconstruction. *Front Plant Sci* **8**. doi:10.3389/fpls.2017.01680
- Schiaffini M, Chicois C, Pouclet A, Chartier T, Ubrig E, Gobert A, Zuber H, Mutterer J, Chicher J, Kuhn L, Hammann P, Gagliardi D, Garcia D. 2022. A NYN domain protein directly interacts with DECAPPING1 and is required for phyllotactic pattern. *Plant Physiol* **188**:1174–1188. doi:10.1093/plphys/kiab529
- Schneeberger K. 2014. Using next-generation sequencing to isolate mutant genes from forward genetic screens. *Nat Rev Genet* **15**:662–676. doi:10.1038/nrg3745
- Serrano-Mislata A, Sablowski R. 2018. The pillars of land plants: new insights into stem development. *Current Opinion in Plant Biology, Cell signalling and gene regulation* **45**:11–17. doi:10.1016/j.pbi.2018.04.016
- Shi B, Felipo-Benavent A, Cerutti G, Galvan-Ampudia C, Jilli L, Brunoud G, Mutterer J, Vallet E, Sakvarelidze-Achard L, Davière J-M, Navarro-Galiano A, Wallia A, Lazary S, Legrand J, Weinstain R, Jones AM, Prat S, Achard P, Vernoux T. 2024. A quantitative gibberellin signaling biosensor reveals a role for gibberellins in internode specification at the shoot apical meristem. *Nat Commun* **15**:3895. doi:10.1038/s41467-024-48116-4
- Shi B, Guo X, Wang Y, Xiong Y, Wang J, Hayashi K-I, Lei J, Zhang L, Jiao Y. 2018. Feedback from Lateral Organs Controls Shoot Apical Meristem Growth by Modulating Auxin Transport. *Dev Cell* **44**:204–216.e6. doi:10.1016/j.devcel.2017.12.021
- Siegal ML, Leu J-Y. 2014. On the Nature and Evolutionary Impact of Phenotypic Robustness Mechanisms. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **45**:495–517. doi:10.1146/annurev-ecolsys-120213-091705
- Siegfried KR, Eshed Y, Baum SF, Otsuga D, Drews GN, Bowman JL. 1999. Members of the YABBY gene family specify abaxial cell fate in *Arabidopsis*. *Development* **126**:4117–4128. doi:10.1242/dev.126.18.4117

- Sláviková S, Shy G, Yao Y, Glozman R, Levanony H, Pietrokovski S, Elazar Z, Galili G. 2005. The autophagy-associated Atg8 gene family operates both under favourable growth conditions and under starvation stresses in Arabidopsis plants. *Journal of Experimental Botany* **56**:2839–2849. doi:10.1093/jxb/eri276
- Smith MW, Carrivick JL, Quincey DJ. 2016. Structure from motion photogrammetry in physical geography. *Progress in Physical Geography* **40**:247–275. doi:10.1177/0309133315615805
- Smith RS, Kuhlemeier C, Prusinkiewicz P. 2006. Inhibition fields for phyllotactic pattern formation: a simulation study This article is one of a selection of papers published on the Special Theme of Shoot Apical Meristems. *Can J Bot* **84**:1635–1649. doi:10.1139/b06-133
- Sommer RJ. 2006. *Pristionchus pacificus*. *WormBook* 1–8. doi:10.1895/wormbook.1.102.1
- Sommer RJ. 2005. Evolution of development in nematodes related to *C. elegans*. *WormBook* 1–17. doi:10.1895/wormbook.1.46.1
- Sommer RJ. 2001. As good as they get: cells in nematode vulva development and evolution. *Current Opinion in Cell Biology* **13**:715–720. doi:10.1016/S0955-0674(00)00275-1
- Sternberg PW. 2009. Vulval development. *WormBook*. doi:10.1895/wormbook.1.6.1
- Stoma S, Lucas M, Chopard J, Schaedel M, Traas J, Godin C. 2008. Flux-based transport enhancement as a plausible unifying mechanism for auxin transport in meristem development. *PLoS Comput Biol* **4**:e1000207. doi:10.1371/journal.pcbi.1000207
- Stracke E, Kumar V. 2020. Encouraging Dialogue in Doctoral Supervision: The Development of the Feedback Expectation Tool. *International Journal of Doctoral Studies* **15**:265–284. doi:10.28945/4568
- SUSSEX IM. 1989. Developmental programming of the shoot meristem. *Cell (Camb)* **56**:225–229.
- Teo ZWN, Song S, Wang Y-Q, Liu J, Yu H. 2014. New insights into the regulation of inflorescence architecture. *Trends Plant Sci* **19**:158–165. doi:10.1016/j.tplants.2013.11.001
- Traas J. 2013. Phyllotaxis. *Development* **140**:249–253. doi:10.1242/dev.074740
- True JR, Haag ES. 2001. Developmental system drift and flexibility in evolutionary trajectories. *Evolution & Development* **3**:109–119. doi:10.1046/j.1525-142x.2001.003002109.x
- Tsai Y-T, Chen P-Y, To K-Y. 2012. Plant regeneration and stable transformation in the floricultural plant *Cleome spinosa*, a C₃ plant closely related to the C₄ plant *C. gynandra*. *Plant Cell Rep* **31**:1189–1198. doi:10.1007/s00299-012-1240-1
- Ubbens J, Cieslak M, Prusinkiewicz P, Stavness I. 2018. The use of plant models in deep learning: an application to leaf counting in rosette plants. *Plant Methods* **14**:6. doi:10.1186/s13007-018-0273-z
- Vargas-Velazquez AM, Besnard F, Félix M-A. 2019. Necessity and Contingency in Developmental Genetic Screens: EGF, Wnt, and Semaphorin Pathways in Vulval Induction of the Nematode *Oscheius tipulae*. *Genetics* **211**:1315–1330. doi:10.1534/genetics.119.301970
- Vassilieva LL, Lynch M. 1999. The rate of spontaneous mutation for life-history traits in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **151**:119–129.
- Vernoux T, Besnard F, Godin C. 2021. What shoots can teach about theories of plant form. *Nat Plants* **7**:716–724. doi:10.1038/s41477-021-00930-0
- Vernoux T, Brunoud G, Farcot E, Morin V, Van den Daele H, Legrand J, Oliva M, Das P, Larrieu A, Wells D, Guédon Y, Armitage L, Picard F, Guyomarc'h S, Cellier C, Parry G, Koumproglou R, Doonan JH, Estelle M, Godin C, Kepinski S, Bennett M, De Veylder L, Traas J. 2011. The auxin signalling network translates dynamic input into robust patterning at the shoot apex. *Mol Syst Biol* **7**:508. doi:10.1038/msb.2011.39
- Wabnik K, Kleine-Vehn J, Balla J, Sauer M, Naramoto S, Reinöhl V, Merks RMH, Govaerts W, Friml J. 2010. Emergence of tissue polarization from synergy of intracellular and extracellular auxin signaling. *Mol Syst Biol* **6**:447. doi:10.1038/msb.2010.103
- Waddington CH. 1942. Canalization of Development and the Inheritance of Acquired Characters. *Nature* **150**:563–565. doi:10.1038/150563a0
- Wang L, Ming L, Liao K, Xia C, Sun S, Chang Y, Wang H, Fu D, Xu C, Wang Z, Li Xu, Xie W, Ouyang Y, Zhang Qinglu, Li Xianghua, Zhang Qinghua, Xiao J, Zhang Qifa. 2021. Bract suppression regulated by the miR156/529-SPLs-NL1-PLA1 module is required for the transition from vegetative to reproductive branching in rice. *Mol Plant* **14**:1168–1184. doi:10.1016/j.molp.2021.04.013
- Weng M-L, Becker C, Hildebrandt J, Neumann M, Rutter MT, Shaw RG, Weigel D, Fenster CB. 2019. Fine-Grained Analysis of Spontaneous Mutation Spectrum and Frequency in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **211**:703–714. doi:10.1534/genetics.118.301721

- Whipple CJ. 2017. Grass inflorescence architecture and evolution: the origin of novel signaling centers. *New Phytol* **216**:367–372. doi:10.1111/nph.14538
- Whipple CJ, Hall DH, DeBlasio S, Taguchi-Shiobara F, Schmidt RJ, Jackson DP. 2010. A conserved mechanism of bract suppression in the grass family. *Plant Cell* **22**:565–578. doi:10.1105/tpc.109.073536
- Wintz T, Colliaux D, Hanappe P, Paris SC. 2018. Automated extraction of phyllotactic traits from *Arabidopsis thaliana* CVPPP Workshop ECCV.
- Wu S, Wen W, Gou W, Lu X, Zhang W, Zheng C, Xiang Z, Chen L, Guo X. 2022. A miniaturized phenotyping platform for individual plants using multi-view stereo 3D reconstruction. *Front Plant Sci* **13**. doi:10.3389/fpls.2022.897746
- Wu S, Wen W, Wang Y, Fan J, Wang C, Gou W, Guo X. 2020. MVS-Pheno: A Portable and Low-Cost Phenotyping Platform for Maize Shoots Using Multiview Stereo 3D Reconstruction. *Plant Phenomics* **2020**:1848437. doi:10.34133/2020/1848437
- Xiao Y, Guo J, Dong Z, Richardson A, Patterson E, Mangrum S, Bybee S, Bertolini E, Bartlett M, Chuck G, Eveland AL, Scanlon MJ, Whipple C. 2022. Boundary domain genes were recruited to suppress bract growth and promote branching in maize. *Sci Adv* **8**:eabm6835. doi:10.1126/sciadv.abm6835
- Yang B, Rifkin SA. 2020. A larger target leads to faster evolution. *eLife* **9**:e62689. doi:10.7554/eLife.62689
- Yang W, Feng H, Zhang X, Zhang J, Doonan JH, Batchelor WD, Xiong L, Yan J. 2020. Crop Phenomics and High-Throughput Phenotyping: Past Decades, Current Challenges, and Future Perspectives. *Mol Plant* **13**:187–214. doi:10.1016/j.molp.2020.01.008
- Yang Z, Han Y. 2020. A Low-Cost 3D Phenotype Measurement Method of Leafy Vegetables Using Video Recordings from Smartphones. *Sensors* **20**:6068. doi:10.3390/s20216068
- Zhao F, Chen W, Sechet J, Martin M, Bovio S, Lionnet C, Long Y, Battu V, Mouille G, Monéger F, Traas J. 2019. Xyloglucans and Microtubules Synergistically Maintain Meristem Geometry and Phyllotaxis1 [OPEN]. *Plant Physiology* **181**:1191–1206. doi:10.1104/pp.19.00608
- Zhu M, Chen W, Mirabet V, Hong L, Bovio S, Strauss S, Schwarz EM, Tsugawa S, Wang Z, Smith RS, Li C-B, Hamant O, Boudaoud A, Roeder AHK. 2020. Robust organ size requires robust timing of initiation orchestrated by focused auxin and cytokinin signalling. *Nat Plants* **6**:686–698. doi:10.1038/s41477-020-0666-7

Annexes

Annexe 1: Exemples de mesures précises de phyllotaxie le long d'axes de plantes individuelles

Ce tableau liste, par ordre chronologique de publication, les articles de recherche que nous avons recensé impliquant des mesures de phyllotaxie sur des tiges allongées ou des structures allongées (cônes, épi) de plantes individuelles, la plupart sur l'inflorescence mature d'*Arabidopsis thaliana* (lorsqu'il s'agit d'une autre plante, la dernière colonne le précise).

Les productions en propre de notre laboratoire sont indiquées en vert, celles impliquant notre laboratoire (7/23) via une collaboration en bleu (2/23).

Year	Article (link)	Research group(s)	<i>Arabidopsis</i> ?
1998	Couder Y., Acta Soc. Bot. Pol. " Initial transitions, order and disorder in phyllotactic patterns: the ontogeny of Helianthus annuus. A case study "	Lab. Physique Statistique (France, Paris)	NON Tournesol
2007	Peaucelle A. et al., Development. " Plants expressing a miR164-resistant CUC2 gene reveal the importance of post-meristematic maintenance of phyllotaxy in Arabidopsis "	IJPB (France, Versailles) / team: P. Laufs	
2008	Ragni L. et al., The plant Cell. " Interaction of KNAT6 and KNAT2 with BREVIPEDICELLUS and PENNYWISE in Arabidopsis Inflorescences "	IJPB (France, Versailles) / team: V. Pautot	
2008	Peaucelle A. et al., Current Biology. " Arabidopsis Phyllotaxis Is Controlled by the Methyl-Esterification Status of Cell-Wall Pectins "	IJPB (France, Versailles) / team: G. Mouille	
2011	Prasad K. et al., Current Biology. " Arabidopsis PLETHORA Transcription Factors Control Phyllotaxis "	Utrecht University (Netherlands) / team: B. Scheres	
2013	Kierzkowski D. et al., Developmental Cell. " Interaction between Meristem Tissue Layers Controls Phyllotaxis "	University of Bern (Switzerland) / team: C. Kuhlemeier	
2013	Pinon V. et al., PNAS. " Local auxin biosynthesis regulation by PLETHORA transcription factors controls phyllotaxis in Arabidopsis "	Utrecht University (Netherlands) / team: B. Scheres	
2013	Guédon Y. et al., Journal of Theoretical Biology.	Lab. RDP (France) / Team: T. Vernoux	

Year	Article (link)	Research group(s)	Arabidopsis ?
	“Pattern identification and characterization reveal permutations of organs as a key genetically controlled property of post-meristematic phyllotaxis”	and C. Godin	
2013	Landrein B. et al., Current Biology. “Impaired Cellulose Synthase Guidance Leads to Stem Torsion and Twists Phyllotactic Patterns in Arabidopsis”	Lab. RDP (France) / Team: O. Hamant	
2014	Besnard F. et al., Nature. “Cytokinin signalling inhibitory fields provide robustness to phyllotaxis”	Lab. RDP (France) / Team: T. Vernoux	
2015	Landrein B. et al., J. of Exp. Bot. “Meristem size contributes to the robustness of phyllotaxis in Arabidopsis”	Lab. RDP (France) / Team: O. Hamant	
2015	Burian A. et al., Annals of Botany. “The CUP-SHAPED COTYLEDON2 and 3 genes have a post-meristematic effect on Arabidopsis thaliana phyllotaxis”	University of Silesia (Poland, Katowice) / team: D. Kwiatkowska	
2016	Tobin CJ, Thesis “Morphogenesis of the Arabidopsis Shoot Apical Meristem” , Chap. 3 “Meristem Size and Phyllotaxis” .	Caltech Inst. (USA), team: E. Meyerowitz	
2016	Golé C. and Douady S. Acta Soc. Bot. Pol. “Fibonacci or quasi-symmetric phyllotaxis” (PartI and PartII)	Université Paris Diderot (France) / Team: S. Douady Smith College (USA, Northampton) / team: C. Golé	NON cones de <i>Picea</i> , <i>Pinus</i> et <i>Cedrus</i> , épi de maïs, choux, artichaud, Peteh (<i>Parkia speciosa</i>)
2016	Refahi Y. et al., eLife. “A stochastic multicellular model identifies biological watermarks from disorders in self-organized patterns of phyllotaxis”	Lab. RDP (France) / Team: T. Vernoux and C. Godin	
2017	Fal K. et al., Development. “Phyllotactic regularity requires the Paf1 complex in Arabidopsis”	Lab. RDP (France) / Team: O. Hamant	
2019	Zhao F. et al., Plant Physiology. “Xyloglucans and	Lab. RDP (France) / Team: J. Traas, F.	

Year	Article (link)	Research group(s)	Arabidopsis ?
	Microtubules Synergistically Maintain Meristem Geometry and Phyllotaxis	Moneger, O. Hamant	
2019	Sampathkumar A. et al., <i>Development</i> . " Primary wall cellulose synthase regulates shoot apical meristem mechanics and growth "	Caltech Inst. (USA), team: E. Meyerowitz	
2020	Zhu M. et al., <i>Nature Plants</i> . " Robust organ size requires robust timing of initiation orchestrated by focused auxin and cytokinin signalling "	Lab. RDP (France) / Team: A. Boudaoud Cornell University (USA) / Team: A. Roeder	
2021	Zagórska-Marek B. et al., <i>Journal of Plant Research</i> . " Verbena officinalis Verbenaceae (Lamiales): a new plant model system for phyllotaxis research "	University of Wrocław (Poland, Wrocław) / team: B. Zagórska-Marek	NON Verbena officinalis
2021	Gelova Z. et al., <i>Plant Science</i> . " Developmental roles of Auxin Binding Protein 1 in Arabidopsis thaliana "	IST (Austria, Klosterneuburg) / team J. Friml Lab. RDP (France) / Team: T. Vernoux	
2022	Schiaffini M. et al. <i>Plant Physiology</i> . " A NYN domain protein directly interacts with DECAPPING1 and is required for phyllotactic pattern "	Institut de Biologie Moléculaire des Plantes (IBPM, Strasbourg, France) / Team: D. Gracia	
2025	Caselli F. et al., <i>the Plant Journal</i> . " Behind phyllotaxis, within the meristem: a REM-ARF complex shapes inflorescence in Arabidopsis thaliana "	Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, (Milano, Italy) Team: V. Gregis & M. Kater	

Annexe 2 : Collègues ayant participé aux entretiens préparatoires

Pour les encadrants.es:

Je me suis entretenu avec sept collègues:

- 2 femmes et cinq hommes
- 4 directeurs.rices de recherche, 2 chargés.es de recherche, 1 Maître.sse de conférence
- 5 au RDP, 2 d'autres laboratoires
- soutenance HDR : depuis 8 ans (médiane) (min 2023 ; max 2003)
- Nombre de personnes encadrées : 5 (min=2 ; max ~30)

Pour les doctorants.es:

Je me suis entretenu avec cinq collègues:

- 3 hommes, 2 femmes
- 1 en 1ère année, 2 en 2ème année, 1 en 3ème année, 1 encore au labo après soutenance
- tous.tes au RDP

Annexe 3 : questionnaire d'entretien avec mes collègues encadrants.es

Ce questionnaire a fait l'objet d'entretiens individuels auprès de sept collègues, d'une durée approximative de 1 heure à chaque fois, en mars-avril 2025.

- 1) Es-tu satisfait par le diplôme actuel de l'HDR ?
- 2) Le trouves-tu utile ?
- 3) Penses-tu qu'il faudrait le supprimer (cela n'existe pas à l'étrange) / le garder / le faire évoluer ?
- 4) Si faire évoluer, comment ?
- 5) Comment as-tu appris à encadrer ?
- 6) As-tu suivi des formations ? Si oui, les as-tu trouvées utiles ?
- 7) As-tu un modèle ou une référence ? Une source d'inspiration ?
- 8) quelle part joue ta propre expérience de doctorant.e dans ta pratique actuelle (autant comme modèle positif que négatif)
- 9) comment définirais-tu ton style d'encadrement ?
- 10) Penses-tu que tes doctorant.es ont la même perception de ton encadrement ?
- 11) dans quelle mesure tu penses être capable d'adapter ton encadrement au profil de ton.ta doctorant.e ?
- 12) comment tu t'y prends pour évaluer ton encadrement ?
- 13) est-ce que tu trouves que dans le monde académique en général le positionnement hiérarchique est facile à trouver avec tes encadrés.es, doctorants.es en particulier ? Est-ce différent de la position de chef.fe/responsable dans un autre métier similaire (ex. scientifique très qualifié dans ou hors académie)
- 14) Est-ce que tu ressens une tension entre instaurer un climat professionnel et instaurer un climat moins formel et plus amical ? Comment tu t'y prends pour trouver le bon équilibre ?

Est-ce qu'un encadrant doit être amical ? un ami ? (remplacé par 13)

est-ce qu'une relation d'amitié encadrant-encadré est le signe d'une bonne thèse ? (remplacé par 14)

- 15) Quels sont pour toi les objectifs principaux que tu vises quand tu encadres un.e doctorant.e ?
- 16) Parmi ces objectifs, il y en a-t-il des plus dur à atteindre ?
- 17) Pour toi, ça veut dire quoi l'autonomie d'un.e doctorant.e ?
- 18) Comment on s'y prend en pratique pour amener un.e doctorante à devenir autonome ?
- 19) Comment peut-on concilier l'exécution d'un projet de thèse avec la liberté intellectuelle et la créativité d'un.e doctorant.e ?
- 20) as-tu des exemples de choses dont tu laisses la décision à ton/ta doctorant.e ?
- 21) La thèse apprend-elle à être chercheur.se ou est-ce une expérience qui révèle et épanouit des aptitudes qui pré-existent à la recherche ?
- 22) Quels sont selon toi les critères qui indiquent chez un.e étudiant.e de master un bon profil pour continuer en thèse et au contraire un profil pour qui la thèse ne serait pas une bonne expérience ?
- 23) Comment organises-tu les échanges avec tes doctorant.es ?
- 24) avez-vous des rdv réguliers fixes ? Si oui quelle durée et fréquence ? Si oui, qui décide de quoi on parle ?
- 25) Concrètement, lors des échanges, de quoi parlez-vous ? Quels sont les sujets les plus abordés ?

- 26) autorises-tu des sollicitations au fil de l'eau, et si oui, avec quelles modérations ?
- 27) Il y a-t-il des moments plus importants ou stratégiques dans l'encadrement d'une thèse ? Si oui lesquels et pourquoi ?
- 28) Que penses-tu de l'idée d'un contrat en début de thèse pour mettre à plat (cad exposer et négocier) les attentes réciproques de chacun ?
- 29) Est-ce que tu discutes souvent des questions d'encadrement avec tes collègues ?
- 30) Si oui, à quel point est-il question précisément des pratiques d'encadrement et de leurs effets sur le/la doctorant.e ?
- 31) Est-ce que tu as connaissance de travaux de recherche en science de l'éducation sur les études doctorales, et sur les relations encadrant-encadré en particulier ?
- 32) es-tu intéressé par ces sujets ? Au point d'assister à des séminaires / ateliers sur la question ?
- 33) Que penses-tu d'un encadrement avec plusieurs personnes ?
- 34) Est-ce préférable à un mono-encadrement ?
- 35) sous quelle(s) forme(s) et a quelle(s) condition(s) un encadrement de thèse en groupe pourrait être bénéfique ?

commentaire libre

Annexe 4 : questionnaire d'entretien avec mes collègues doctorants.es

Ce questionnaire a fait l'objet d'entretiens individuels auprès de cinq collègues, d'une durée approximative de 1 heure à chaque fois, en mars-avril 2025.

- 1) comment définirais-tu le style d'encadrement de ton encadrant.e ?
- 2) Penses-tu que ton encadrant.e a la même perception de son encadrement ?
- 3) Est-ce que tu penses que ton encadrant.e a adapté ses pratiques pour t'encadrer ?
- 4) comment penses-tu qu'un encadrant.e pourrait évaluer ses pratiques ?
- 5) qu'est-ce que tu sais / penses de la façon dont la communauté évalue le travail d'encadrement ?
- 6) est-ce que tu trouves que dans notre milieu professionnel le positionnement hiérarchique de ton encadrant est clair ? Penses-tu que ce serait différent de la position d'un chef.fe/responsable dans un autre métier similaire (ex. scientifique très qualifié dans ou hors académie)?
- 7) Dans cette relation avec ton encadrant, est-ce que tu ressens parfois une ambiguïté entre un climat très professionnel et un climat moins formel et plus amical ?
- 8) si oui, vers quel côté préfères-tu voir cette relation évoluer ?
- 9) Est-ce qu'un encadrant doit être amical ? un ami ?
- 10) est-ce qu'une relation d'amitié encadrant-encadré est le signe d'une bonne thèse ? Est-ce désirable ?
- 11) Quels sont pour toi les objectifs principaux d'une thèse ?
- 12) Est-ce que tu penses que ces objectifs sont partagés par ton encadrant.e ?
- 13) Parmi ces objectifs, il y en a-t-il des plus dur à atteindre ?
- 14) Qu'attends-tu principalement d'un encadrant de thèse (jusqu'à 5 items) ?
- 15) Parmi ces attentes, auxquelles est-il plus facile de répondre ? plus difficile ?
- 16) Que penses-tu de l'idée d'un contrat en début de thèse pour mettre à plat (cad exposer et négocier) les attentes réciproques de chacun ?
- 17) Pour toi, ça veut dire quoi l'autonomie d'un.e doctorant.e ?
- 18) Comment concrètement tu penses que ta thèse t'apprend à être plus autonome ?
- 19) Quelles sont les éléments où tu as l'impression de décider seul.e dans ta thèse ?
- 20) Quelles sont les éléments où tu as l'impression de co-décider ou de pouvoir négocier une décision ?
- 21) es-tu satisfait de l'équilibre entre ta liberté de choix et le contrôle exercé par ton encadrement ?
- 22) Tu conçois plus ton projet de thèse comme qqch de très cadré avec avec un plan bien défini à exécuter ou un cadre global dans le quel tu peux exprimer ta liberté intellectuelle et ta créativité
- 23) Est-ce que tu discutes souvent de la façon dont tu es encadré.e avec tes pairs (doc/post-doc)
- 24) Si oui, à quel point est-il question précisément des pratiques d'encadrement et de leurs effets sur le déroulé de ta thèse ?
- 25) Est-ce que tu as connaissance de travaux de recherche en science de l'éducation sur les études doctorales, et sur les relations encadrant-encadré en particulier ?
- 26) es-tu intéressé par ces sujets ? Au point d'assister à des séminaires / ateliers sur la question ?
- 27) Que penses-tu d'un encadrement avec plusieurs personnes ?
- 28) sous quelle(s) forme(s) et à quelle(s) condition(s) un encadrement de thèse en groupe pourrait être bénéfique ?

commentaire libre

Annexe 5 : questionnaire en ligne envoyé aux personnes que j'ai encadrées

Ce questionnaire a été envoyé sous forme de formulaire en ligne, à réponses anonymes, aux personnes que j'ai encadrées sur des contrats à durée déterminée (non permanent), soit 13 personnes, en février 2025. J'ai reçu 12 réponses.

Retour encadrement Fabrice Besnard

J'ai eu l'occasion de vous encadrer ces dernières années dans le cadre de vos études, de votre formation par la recherche ou d'expériences professionnelles.

A l'occasion du passage de mon HDR, je me pose des questions sur les fonctions d'encadrements en recherche et la façon de les évaluer. Pour m'aider à prendre du recul sur ma pratique, voulez-vous bien essayer de remplir ce rapide questionnaire ?

Le questionnaire est anonyme, pas de rancune possible, soyez sincère... et constructif ! Toutes les questions ne correspondent pas forcément à votre expérience, dans cas, n'hésitez pas à passer en cochant "ne se prononce pas".

Merci !

Fabrice

(Note : sur les questions qui attendent un réponse sous forme de notes, un système de bouton à cocher permettait de sélectionner la valeur souhaitée)

L'expérience du projet de recherche (1/2) : est-ce que cette expérience de recherche... (Répondez de 0 (pas d'accord) à 5 (tout à fait d'accord) aux questions ci-dessus)

- ... avait un contenu scientifique intéressant et stimulant ?
- ... avait un contenu scientifique intéressant et stimulant ?
- ... vous a permis de progresser sur des savoirs être professionnels ?
- ... vous a permis de préciser votre projet/trajectoire professionnel/le?
- ... a répondu aux attentes que vous aviez avant ?

L'expérience du projet de recherche (2/2) : commentaire libre

L'encadrement (1/3) (Répondez de 0 (pas d'accord) à 5 (tout à fait d'accord) aux questions ci-dessus.

- En cas de problème ou blocage, mon encadrement aide-t-il à trouver des solutions ?
- mon style d'encadrement aide-t-il à travailler de manière autonome ?
- mon style d'encadrement aide-t-il à penser de manière autonome ?

L'encadrement (2/3)

- en tant qu'encadrant quelles sont mes atouts et mes qualités ?
- en tant qu'encadrant, quelles sont les compétences ou qualités que je devrais travailler et développer ?
- qu'attendez-vous principalement d'un encadrant dans la recherche académique ?
- comment pensez vous qu'un encadrant peut évaluer son travail d'encadrant ? (indicateurs, processus)

L'encadrement (3/3): parmi les fonctions potentielles d'un encadrant listées ci-dessous, lesquelles sont celles que j'assume ? (ne se prononce pas ou échelle de 0 = fonction non assumée à 5 = fonction bien assumée)

1. recommander de la littérature sur le sujet
2. orienter vers des experts compétents
3. organiser des interactions avec des experts compétents
4. aider dans l'organisation du projet de recherche
5. donner des conseils concernant les méthodes
6. commenter les résultats et les conclusions
7. aider à l'écriture (éditer/commenter les textes produits, rapports, articles, présentations, etc...)
8. relayer les informations sur les évènements scientifiques (conférences, congrès, etc...)
9. aider pour l'après (trouver des membres de jury, aide à l'orientation, recommandations professionnelles, etc...)