

Apports mutuels de l'agronomie, de l'écophysiologie et de l'écologie

1. Les limites de la sélection variétale ciblée

L'agriculture fait face à plusieurs défis environnementaux, économiques et sociétaux. Le changement climatique et la nécessité de réduire notre dépendance vis-à-vis des intrants agricoles imposent de nouvelles contraintes aux différents acteurs du monde agricole : faire face à des événements climatiques de plus en plus imprévisibles et de forte intensité, et réduire l'apport de nutriments tels que le phosphore ou l'azote (Fischer et al., 2014; Vitousek et al., 2009). Face à des variations climatiques, telles que l'augmentation de la température ou le manque d'eau, la production mondiale est de moins en moins prédictible d'une année sur l'autre (Licker et al., 2010; Lobell and Field, 2007). Depuis la révolution verte, les variétés sont sélectionnées pour leurs rendements dans des conditions optimales de culture et pour une utilisation intensive d'intrants (Abberton et al., 2016; Cheng et al., 2007; Vaughan et al., 2007). Mais, depuis quelques années, une baisse des rendements a été observée chez plusieurs espèces céréalières dans les régions les plus productrices (Ray et al., 2012). Avec le changement climatique, cette diminution des rendements pourrait s'amplifier dans les décennies à venir (Fig. 1). L'amélioration variétale doit donc s'appuyer sur de nouvelles stratégies de sélection pour maintenir voire améliorer cette productivité dans des environnements changeants (Chenu et al., 2018; Denison et al., 2003), tout en limitant l'utilisation d'intrants.

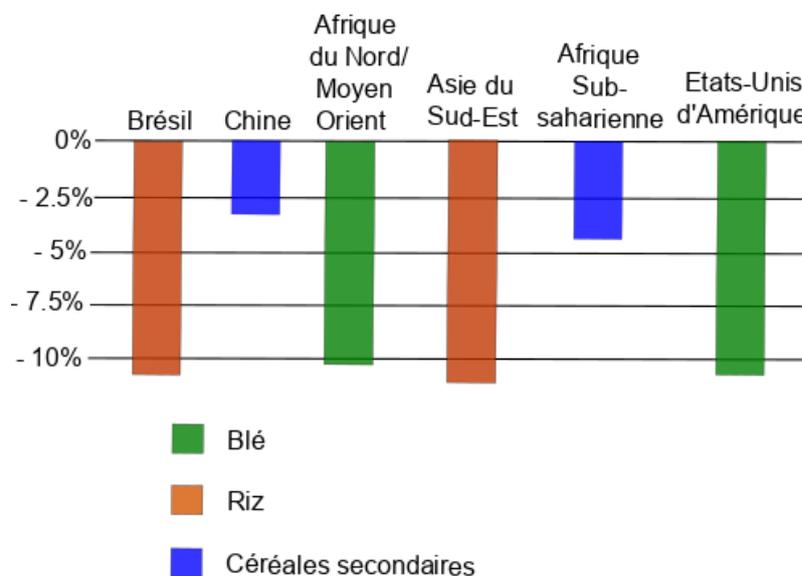


FIGURE 1 Baisse des rendements céréaliers, en pourcentage, prévus en 2050 avec le changement climatique si aucune mesure d'adaptation n'est prise. Cette baisse des rendements est donnée en pourcentage, par rapport aux valeurs de référence de 2050 en l'absence de changement climatique (Source : « Produire plus avec moins en pratique : le maïs, le riz, le blé », FAO, 2016).

Lors de la création de nouvelles variétés, les sélectionneurs ciblent des traits directement liés aux rendements, voire également des traits associés à la tolérance aux stress biotiques et abiotiques. Cependant, l'interdépendance entre les traits (c.-à-d., les covariations phénotypiques) complexifie un schéma de sélection trait par trait, en particulier si l'augmentation de la valeur d'un trait entraîne la diminution de la valeur d'un autre. On parle de compromis. Par exemple, à l'échelle d'une plante, augmenter l'approvisionnement en ressources d'un grain permet d'augmenter sa masse, mais cela implique une diminution du nombre de grains produits (Henery and Westoby, 2001; Sadras, 2007). Il semble donc difficile d'augmenter simultanément la masse et le nombre de grains. Cette contrainte est directement liée à l'utilisation des ressources par la plante, et peut limiter le rendement en qualité ou en quantité chez les espèces cultivées. Il est donc nécessaire d'adapter l'approche du sélectionneur pour prendre en compte ces covariations phénotypiques lors de la sélection ciblée de caractéristiques. Mais pour développer une telle approche, une compréhension approfondie des contraintes liées à l'utilisation des ressources chez les espèces cultivées, et leur variabilité possible en réponse des changements environnementaux, est essentielle (Milla et al., 2014, 2017).

2. Une approche d'écophysiologie comparative pour étudier les espèces cultivées
 - a. Les traits fonctionnels comme outil de l'écophysiologie comparative

Le monde végétal se caractérise par une vaste diversité de formes et de fonctions. Elle est le résultat des différentes stratégies mises en place par les végétaux pour maximiser leur croissance, leur survie, et/ou leur reproduction. Traditionnellement, la diversité biologique est décrite par une approche taxinomique, i.e. une liste et/ou un nombre d'espèces. Cette approche ne paraît cependant pas suffisante pour comprendre les mécanismes écologiques (Shugart and Woodward, 1997). Depuis plusieurs décennies, l'utilisation de l'approche fonctionnelle est utilisée en écologie (on parle d'*écologie comparative*). Elle a pour objectif de décrire les espèces par leurs propriétés fonctionnelles (acquisition du carbone, croissance, reproduction...) plutôt que par la taxinomie (Grime, 2006; Westoby et al., 2002). Cette approche a permis d'extraire des règles générales sur le fonctionnement des organismes, des communautés et des écosystèmes (Garnier et al., 2016; Lavorel et al., 1997).

Une meilleure compréhension des agroécosystèmes est nécessaire pour analyser les impacts du changement climatique et de la réduction des intrants agricoles sur le rendement des espèces cultivées. Par exemple, dans les agroécosystèmes, la densité de semis est souvent un levier important dans l'optique d'optimiser le rendement par m². Si les plantes sont proches les unes des autres, la présence de plantes voisines peut créer des zones d'ombrage pour la plante. Face à cette diminution de la lumière disponible, les modifications morphologiques des organes végétaux peuvent être interprétées comme des stratégies d'évitement (exemple: élongation rapide des entre-nœuds) ou de tolérance (exemple : optimisation de l'assimilation du carbone) de l'ombrage (Gommers et al., 2013; Weiner et al., 2010). Chez le blé tendre, l'arrêt du tallage intervient lorsque l'équilibre entre les longueurs d'onde rouge clair et rouge sombre est modifié par la densité de végétation (Evers et al., 2006). Cet arrêt de la production de tiges secondaires permet une mobilisation des ressources (azote, eau) dans les tiges les plus développées afin d'en améliorer l'interception lumineuse. L'étude comparative de la variabilité des traits de réponse aux différentes conditions environnementales permet de mieux comprendre les interactions entre plantes vis-à-vis du milieu, et aide à analyser le fonctionnement de l'écosystème (Garnier and Navas, 2012). Malgré les différences entre les écosystèmes naturels et agronomiques, plusieurs études ont suggéré d'utiliser les approches développées en écologie fonctionnelle pour étudier et adapter

les agroécosystèmes aux nouveaux enjeux de l'agriculture (Gaba et al., 2014; Milla et al., 2017). L'approche d'écologie comparative fondée sur l'analyse des traits fonctionnels, i.e. des caractères liés aux fonctions biologiques et à la performance de la plante telles que la croissance (Fig. 2, d'après Violle et al., 2007; Arnold 1983), est celle qui a reçu le plus d'intérêt (Barot et al., 2017; Martin and Isaac, 2015). Cette approche est facilitée par le développement des méthodes de phénotypage (quantification des traits) en conditions naturelles et contrôlées.

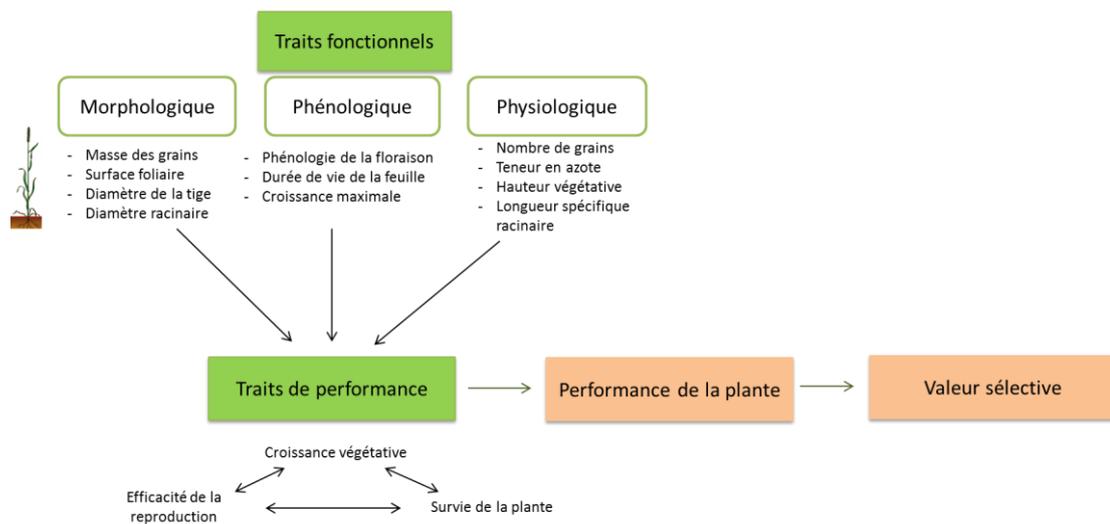


FIGURE 2 Les traits morfo-physio-phénologiques utilisés en écologie comparative comme proxys de la valeur sélective des plantes. Les (co-) variations entre les traits morphologiques, phénologiques et physiologiques modulent un ou plusieurs traits de performance (survie, croissance et reproduction), et *in fine* la valeur sélective de la plante. (D'après Violle et al., 2007; Arnold 1983).

b. L'apport du phénotypage haut-débit

Dans un schéma de sélection classique, le séquençage de l'ADN et la caractérisation du phénotype (ensemble de caractères anatomique, moléculaire et physiologique observables d'un individu) permet la sélection de gènes d'intérêt. De rapides avancées dans les techniques de séquençage d'ADN ont permis de développer le génotypage à haut-débit. De façon surprenante, ces avancées ont été beaucoup plus rapides que celles du phénotypage, créant une limite pour la sélection variétale (Furbank and Tester, 2011; McCouch et al., 2013). Pour combler ce manque, des plateformes de phénotypage à haut-débit se sont développées ces dernières années, permettant d'acquérir un grand nombre de données phénotypiques de manière non destructive, par exemple le suivi temporel de la croissance des plantes face à un stress hydrique (Fahlgren et al., 2015). Dans ce contexte, un réseau d'infrastructures de

phénotypage à haut-débit s'est développé en France, le réseau PHENOME, afin de développer des méthodes et techniques dans la perspective de réaliser une caractérisation fine de la croissance des plantes sous différents scénarios climatiques. À Montpellier, la plateforme de phénotypage à haut-débit PHENOARCH permet la caractérisation de l'architecture aérienne sous différents scénarios hydriques (Cabrera Bosquet et al., 2015).

Les espèces cultivées ont subi des modifications physiologiques, phénologiques et morphologiques importantes, résultats de leur domestication et de la sélection variétale (Gioia et al., 2015; Harlan et al., 1973; Vaughan et al., 2007). Afin d'améliorer notre compréhension des déterminismes du rendement des espèces cultivées, leurs réponses morpho-physiologiques à des fluctuations environnementales ont été très largement étudiées, notamment à l'aide de plateformes de phénotypage à haut-débit (Tardieu and Tuberosa, 2010). Pour cela, des panels de diversité génétique connue sont cultivés dans des environnements contrôlés ou fluctuants (Fig. 3). La caractérisation de l'environnement est réalisée par le suivi de variables climatiques, comme la température ou la disponibilité en lumière. Suite à l'établissement d'un stress, des traits liés à la croissance et à l'architecture de la plante sont mesurés afin d'analyser et de comparer les réponses des variétés (Cabrera Bosquet et al., 2015) (Fig. 3). Ce type de phénotypage haut-débit facilite la mesure d'un grand nombre de traits de façon standardisée, et par suite l'analyse des covariations entre ceux-ci pour de larges gammes de diversité génétique et dans différentes conditions environnementales (Granier and Vile, 2014). Idéalement, les résultats obtenus à partir d'un phénotypage haut-débit en conditions contrôlées sont à comparer à des résultats en plein champ, en lien avec le rendement des variétés étudiées (Fig. 3) (Araus and Cairns, 2014).

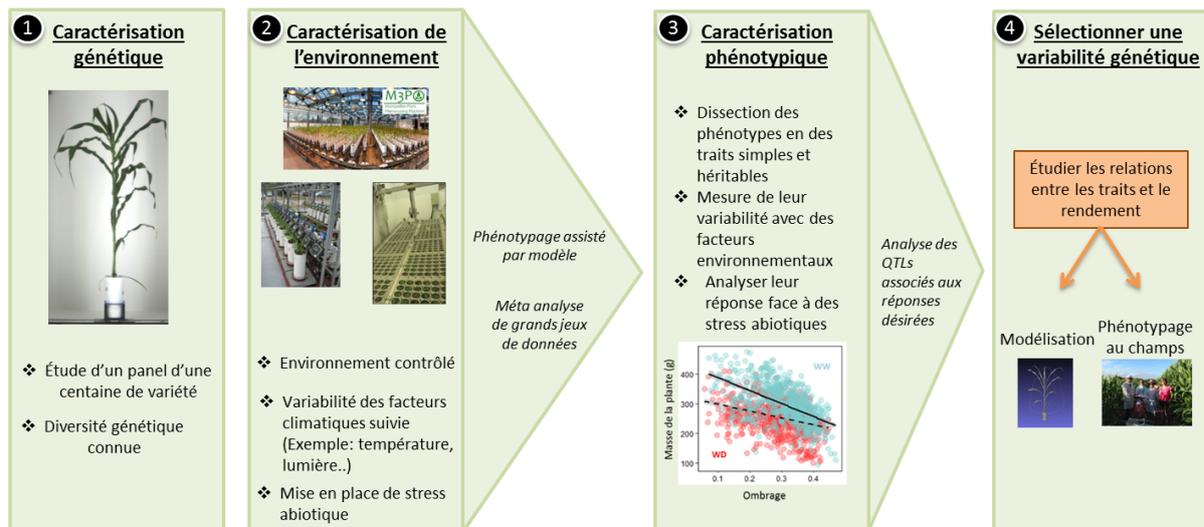


FIGURE 3 Résumé des différentes étapes lors de la sélection de traits fonctionnels pour augmenter le rendement avec l'utilisation de plateformes de phénotypage à haut-débit. (1) Un panel de diversité est choisi pour l'espèce à étudier. La diversité génétique de ce panel est connue. (2) Ce panel est cultivé dans des plateformes de phénotypage à haut-débit. L'environnement est contrôlé et des variables climatiques sont suivies afin de le caractériser. Un stress abiotique peut être mis en place pour analyser et comparer les réponses des variétés. (3) Des traits facilement mesurables et héritables sont alors mesurés au cours de la croissance de la plante (Tardieu and Tuberosa, 2010). Des modèles peuvent permettre le phénotypage de traits, comme par exemple la mesure de la croissance de la plante à partir de photos journalières (Brichet et al., 2017). La variabilité de ces traits et de leurs relations en fonction des variables climatiques est analysée et permet une caractérisation phénotypique des plantes en réponse à l'environnement. Ainsi, une variabilité phénotypique peut être sélectionnée. La possibilité d'avoir de nombreuses plantes en même temps (dans la plateforme de phénotypage à haut-débit PHENOARCH, 1 680 plantes peuvent être cultivées en même temps) permet de réaliser d'obtenir de grands jeux de données. Des analyses QTLs et/ou GWAS sont possibles pour associer une diversité génétique à la variabilité phénotypique désirée. (4) A partir de la valeur des traits, la modélisation permet de prédire le rendement. Il est nécessaire ensuite de tester la variabilité génétique sélectionnée au champs, afin d'étudier les phénotypes dans des conditions « réelles » de culture (Araus and Cairns, 2014).

II. Les compromis et contraintes écophysiologicals et biophysiques chez les espèces cultivées

1. Notions de contraintes et de compromis

La biologie comparative s'intéresse depuis toujours à la façon dont la diversité du vivant a émergé et est contrainte. Historiquement, le travail séminal de Raup et Michelson (1965) sur les contraintes à l'origine des formes des coquilles des crustacés a été la cause de théories majeures discutées en biologie évolutive par la suite. À l'aide de quatre variables structurales, les auteurs en ont déduit un espace théorique contenant la plupart des formes

géométriquement possibles. Pourtant, certaines de ces formes n'existent pas biologiquement. L'hypothèse a ainsi été faite qu'au cours de l'évolution des crustacés certaines combinaisons de ces quatre variables ont été favorisées. Ce résultat a longtemps été considéré comme le résultat d'une optimisation de la forme de l'organisme par la sélection naturelle. Mais Gould et Lewontin (1979) proposent une hypothèse alternative : l'existence de contraintes développementales qui limiteraient les formes et fonctions possibles des organismes. Pour illustrer leur propos, ils se sont appuyés sur l'existence de contraintes architecturales nécessaires dans la basilique Saint-Marc à Venise : la présence d'écoinçons à l'intérieur de la basilique ne serait pas le fruit dirigé d'une réflexion architecturale mais le simple sous-produit de la construction d'arches à l'origine du dôme, qui imposerait en retour des espaces triangulaires entre ces arches (Fig. 4). L'évolution du phénotype serait donc contrainte, ce qui expliquerait par exemple pourquoi un insecte ne peut pas avoir la taille d'un éléphant, ou un mollusque la capacité de voler (Gould and Lewontin, 1979). En résumé, ces contraintes peuvent être le résultat de la sélection naturelle, mais aussi de contraintes génétiques, comme la pléiotropie (un gène agit sur plusieurs caractères) ou l'épistasie (interaction entre deux ou plusieurs gènes), pouvant exister entre deux traits entraînant leur sélection simultanée (Pigliucci, 2007).

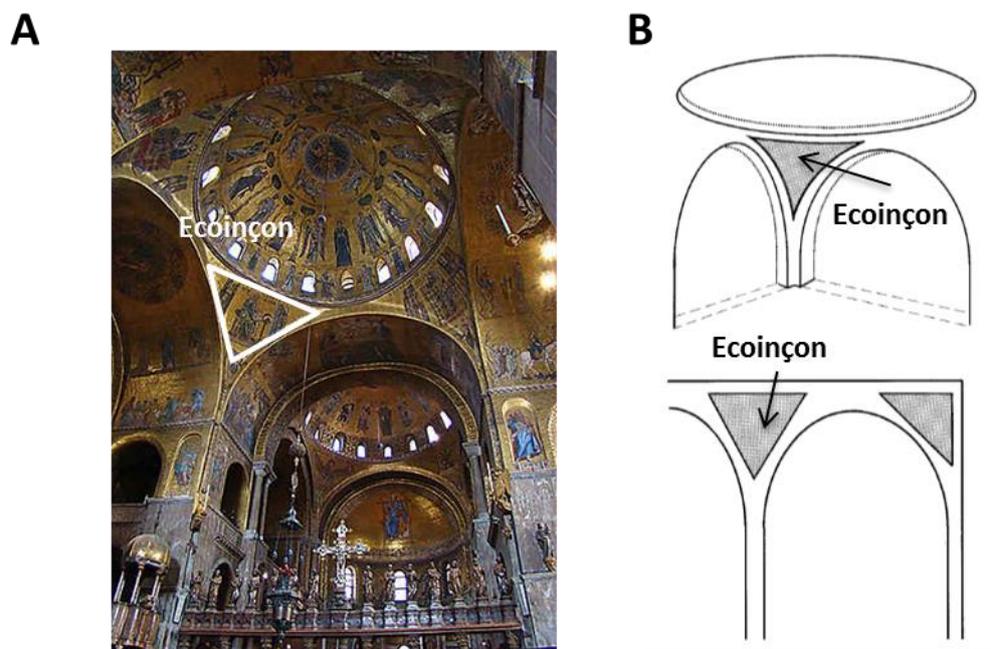


FIGURE 4 Représentation d'un écoinçon, contrainte architecturale, dans la basilique Saint Marc. (A) Photo de l'intérieur de la cathédrale avec l'écoinçon permettant de maintenir le dôme sur l'arche. (B) Représentation schématique de l'importance architecturale de l'écoinçon pour maintenir le dôme entre plusieurs arches (Gould and Lewontin, 1979).

L'étude des traits fonctionnels, et de leurs corrélations, ont permis de mettre en évidence des compromis liés aux facteurs qui limitent les phénotypes possibles des organismes (Agrawal et al., 2010). Ces compromis peuvent concerner un ou plusieurs traits et affectent la valeur sélective de la plante. Par exemple, la production de glucosinolates permet à *Arabidopsis thaliana* de se défendre face aux herbivores, et d'assurer sa survie, mais cette production a un coût énergétique pour la plante. La production de glucosinolates peut ainsi augmenter ou diminuer la valeur sélective de la plante selon son environnement (Agrawal et al., 2010). De façon plus générale, on dit qu'il existe un compromis entre deux (ou plus) traits, lorsque ils dépendent tous deux d'une ressource donnée (le carbone par exemple) (Agrawal et al., 2010). Dans ce travail de thèse, nous nous intéresserons aux compromis écophysiologicals liés à l'acquisition et la conservation des ressources, telles que le carbone ou l'azote, et aux contraintes biophysiques liées à l'allocation de la biomasse entre les différents organes de la plante.

2. Un compromis écophysiological

a. Le spectre d'économie foliaire

À l'échelle foliaire, le spectre d'économie foliaire des ressources est un compromis écophysiological lié à l'utilisation du carbone et des nutriments. Il est illustré par des corrélations entre traits foliaires, initialement chez plus de 2 500 espèces sauvages (Wright et al., 2004) (Fig. 5). Une représentation est la relation négative entre la vitesse photosynthétique maximale et la masse surfacique foliaire (Fig. 5). Une plus grande masse surfacique foliaire provient d'une plus grande densité et/ou d'une plus grande épaisseur de la feuille, et donc d'une accumulation de ressources dans les tissus foliaires par unité de masse (Witkowski and Lamont, 1991). Son augmentation limite la diffusion des gaz, à travers la feuille, nécessaires pour la photosynthèse (Tosens et al., 2016). La photosynthèse se retrouve donc limitée, ce qui réduit la vitesse d'assimilation du carbone par la feuille. La relation entre les deux traits fonctionnels, la masse surfacique foliaire et la capacité photosynthétique foliaire, illustre ainsi un compromis pour l'utilisation du carbone. Ce compromis permet de différencier deux stratégies distinctes, liées à l'utilisation des ressources par la feuille. En effet, si la masse surfacique foliaire est forte et la capacité photosynthétique faible, on parle de stratégie « de conservation des ressources », et à l'inverse, de stratégie d'« acquisition des ressources »

(Reich, 2014). Entre ces deux extrêmes, il existe plusieurs alternatives le long de ce compromis, formant un continuum de stratégies pour l'utilisation des ressources.

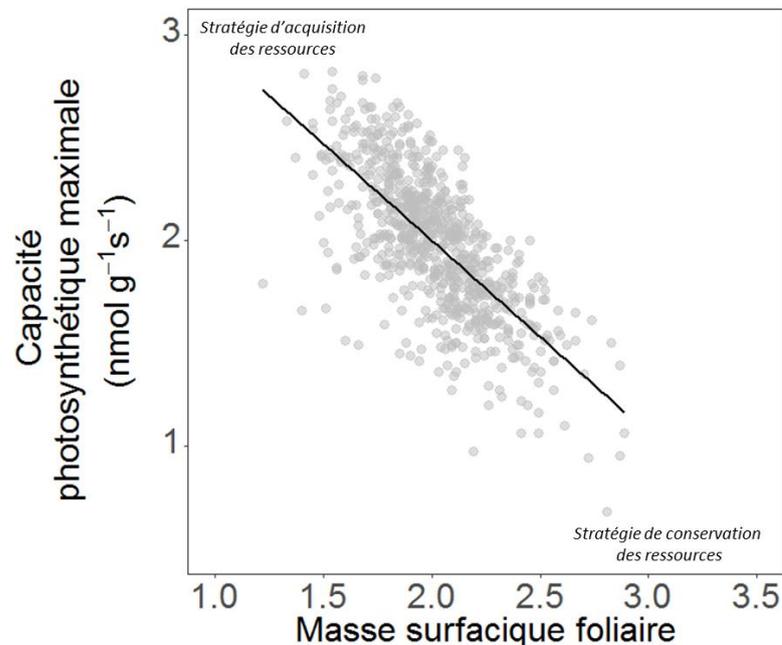


FIGURE 5 Le spectre d'économie foliaire des ressources (ou 'leaf economics spectrum') mis en évidence par Wright et al. (2004) chez 2 548 espèces sauvages. Une relation négative a été observée entre la capacité photosynthétique et la masse surfacique foliaire, aussi bien pour l'ensemble des espèces échantillonnées que pour les espèces herbacées uniquement. Chaque point est la valeur moyenne des traits pour une espèce donnée. La droite noire est la droite de régression par la méthode 'SMA' (Standardized Major Axes) ($R^2 = 0.5$, $P < 0.001$) (Warton et al., 2006). La covariation entre ces deux traits reflète un compromis écologique entre une stratégie d'acquisition (vitesse photosynthétique élevée et feuille peu dense) et une stratégie de conservation (vitesse photosynthétique faible et feuille dense). Données issues de Wright et al. (2004).

b. De l'intérêt d'étudier le spectre d'économie foliaire des ressources au sein des espèces cultivées

La plupart des recherches sur le spectre d'économie foliaire des ressources ont été menées à l'échelle interspécifique, en considérant que la variabilité intraspécifique était négligeable (Wright et al., 2004), tout au moins bien inférieure à celle de la variabilité interspécifique (Kazakou et al. 2014). Pourtant, la variabilité intraspécifique de certains traits foliaires du spectre d'économie des ressources, comme la masse surfacique foliaire ou la teneur en azote, semble souvent conséquente tant chez les espèces sauvages (Siefert et al.,

2015) que cultivées (Sinclair and Horie, 1989). Mais, jusqu'à présent, le maintien d'un spectre d'économie des ressources foliaires au sein d'une espèce est encore questionnée (Niinemets, 2015). Plusieurs études l'ont étudiée mais les résultats sont contrastés. Si certains travaux ont démontré l'existence de ces relations en intraspécifique à des échelles locales et régionales (Hu et al., 2015), d'autres ont suggéré que le spectre d'économie des ressources foliaires pourrait ne pas exister au sein d'une espèce (Messier et al., 2017). Il a ainsi été proposé que ces relations pourraient être universelles, mais seraient observables si et seulement si la variabilité génétique et phénotypique des traits sous-jacents étaient suffisamment grande (Fajardo and Siefert, 2018; Vasseur et al., 2012).

Depuis peu, la question se pose du maintien des covariations phénotypiques à l'origine du spectre d'économie foliaire des ressources chez les espèces cultivées (Milla et al., 2014). En comparaison avec leurs ancêtres sauvages, la sélection artificielle, au cours de la domestication des espèces cultivées, aurait entraîné des changements des valeurs des traits foliaires en faveur d'une stratégie « plus acquisitive » des ressources (Martin et al., 2017; Milla et al., 2014, 2015). De plus, des études ont montré que les relations étaient moins fortes et présentaient une certaine plasticité au sein des espèces cultivées (Donovan et al., 2014; Milla et al., 2014). En effet, une variabilité intraspécifique de la valeur des traits, liés à l'acquisition et à la conservation des ressources, a été mise en évidence en réponse à des variations environnementales (Donovan et al., 2014; Martin et al., 2018a). Une meilleure compréhension de la plasticité de ces traits chez les espèces cultivées permettrait de mieux comprendre leur fonctionnement (Martin et al., 2018). Cependant, ces résultats ont besoin d'être approfondis, en réalisant des approches multi-génotypes et multi-espèces, mais aussi en faisant varier les conditions environnementales. En effet, si ce compromis écophysologique est retrouvé au sein des espèces cultivées, même dans des conditions environnementales stressantes, il doit être pris en compte en amélioration variétale dans la mesure où la sélection ciblée de caractéristique peut entraîner celle d'autres traits « non désirés ».

3. Une contrainte biophysique

a. Les relations allométriques

D'autres contraintes, dites biophysiques, existent entre des traits fonctionnels associés à la forme, la taille ou la croissance d'un organe. Analyser ces contraintes revient à étudier les relations allométriques, relations non linéaires entre un caractère phénotypique (exemple : taux métabolique) et la taille d'un organe ou d'un organisme (Huxley, 1935). Depuis de

nombreuses années, les relations allométriques entre un trait biologique donné et la taille de l'organisme (Gould, 1966), d'abord illustrées chez les animaux, sont étudiées chez les plantes (Niklas, 1994, 2004). Elles permettent d'illustrer des barrières « physiques », considérées comme difficilement « cassables », et affectant la structure de l'organe ou de de la plante. Par exemple, la relation allométrique entre la croissance et la biomasse sèche de la plante a été illustrée chez plusieurs espèces sauvages (Niklas and Enquist, 2001; Vasseur et al., 2012, 2018; Weiner, 2004) et cultivées (Reddy, 1998) (Fig. 6). Largement étudiées en écologie, les relations allométriques sont considérées comme invariable entre espèces (Niklas, 1994; Price et al., 2007) (Fig. 6). Par exemple, Müller et al. (2000) a montré chez 27 espèces d'herbacées, que la relation allométrique entre les biomasses des différents organes (feuille, tige et racine) et la taille de la plante ne changeaient pas en fonction de la disponibilité des nutriments dans le milieu. Elles sont représentées par des relations non-linéaires de la forme, $Y = Y_0M^b$, où M est un trait lié à la taille de la plante ou d'un organe, et Y est une variable morphologique ou physiologique. L'exposant b est considéré comme constant lorsque l'on compare toutes les espèces vascularisées, et égal à $\frac{3}{4}$ (Enquist et al., 2007; Niklas and Enquist, 2001). L'exposant allométrique serait le résultat de contraintes communes pour la diffusion dans le système vascularisé (Price et al., 2010, 2012; West et al., 1997, 1999). Pourtant, de récentes études ont suggéré une variabilité de l'exposant b, en lien notamment avec les contraintes environnementales locales (Coomes et al., 2011; Russo et al., 2007; Vasseur et al., 2012). Pourtant, la plasticité de l'allométrie de la plante est encore peu étudiée que ce soit chez les espèces sauvages ou les espèces cultivées.

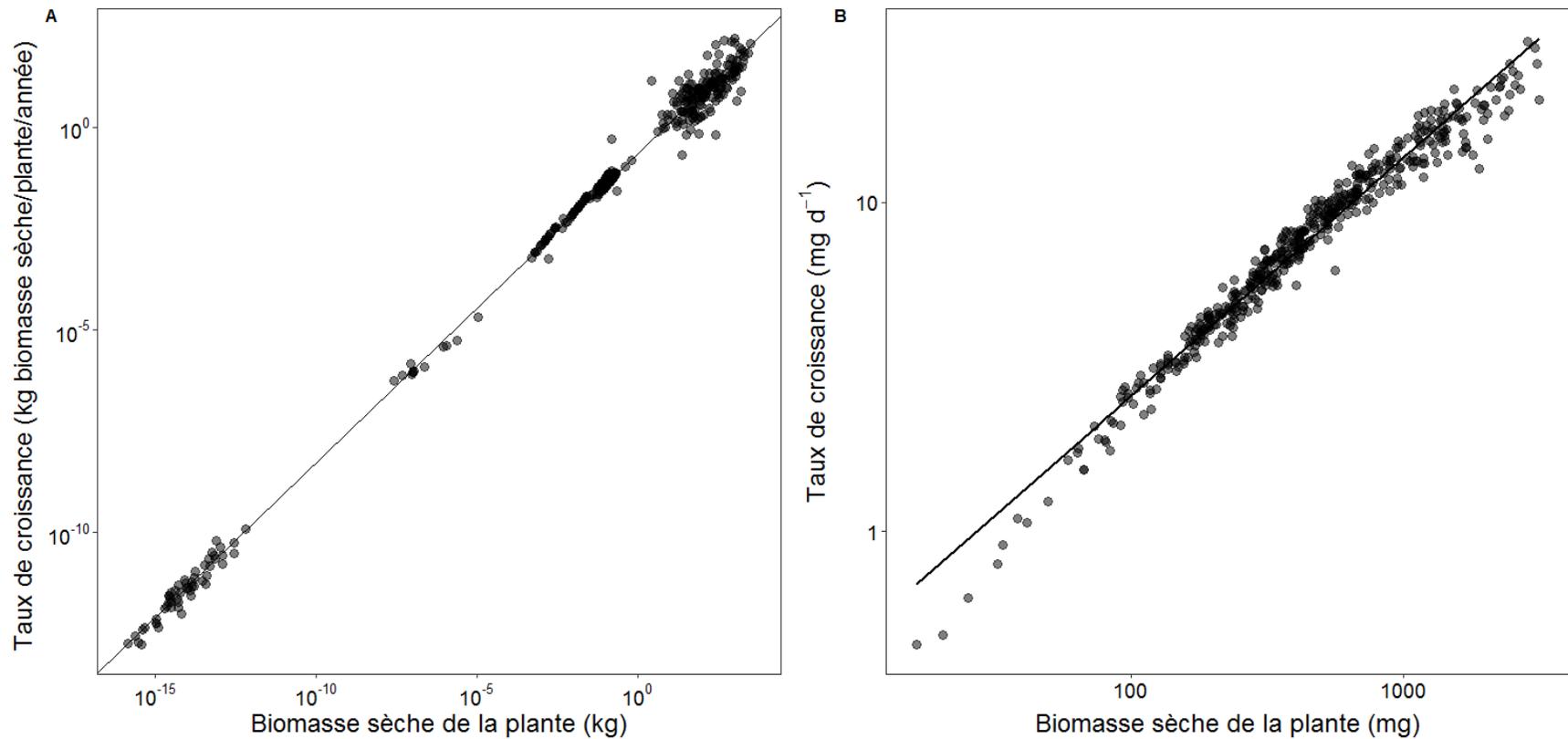


FIGURE 6 Relations allométrique entre les logarithmes de la biomasse sèche de la plante et du taux de croissance mise en évidence chez des espèces sauvages par Niklas et Enquist (2001) et au sein d'*A.thaliana* par Vasseur et al. (2012). (A) Chaque point représente la moyenne d'une espèce provenant des 21 espèces étudiées par Niklas (*L. minor*, *S. natans*, *A. caroliniana* et des algues unicellulaires) et de 32 arbres étudiées par Cannell. La droite représente la régression linéaire des axes majeurs réduits avec une pente globale de $\frac{3}{4}$ (Niklas and Enquist, 2001). (B) Chaque point représente un individu appartenant à quatre sous-populations d'*A.thaliana*, deux lignées parentales et deux lignées recombinantes pour les locus EDI et FLG (Vasseur et al., 2018). La droite représente la régression linéaire des axes majeurs standardisés avec une pente globale de $\frac{3}{4}$. Données issues de Niklas et Enquist (2001) et Vasseur et al. (2018).

b. De l'intérêt d'étudier les relations allométriques au sein des espèces cultivées

Différentes relations allométriques ont été illustrées entre des traits liés à la croissance et la forme des organes de la plante chez les espèces cultivées (Qin et al., 2013; Reddy, 1998; Sieling et al., 2016; Vega and Sadras, 2003; Vega et al., 2001). Mais, jusqu'à présent, l'étude de ces relations allométriques a surtout été réalisée entre espèces, notamment avec pour objectif de comparer les stratégies d'allocation de biomasse lors de la reproduction. Pourtant, des études ont montré l'importance d'étudier la variabilité intraspécifique des compromis et contraintes (Albert et al., 2011; Messier et al., 2017). Dans ce contexte, Qin et al. (2013) ont étudié et comparé les relations allométriques entre les biomasses végétatives et reproductives chez plusieurs variétés de blé. Les auteurs ont montré le maintien de cette relation chez les six variétés étudiées, ce qui suggère que l'allocation de biomasse pour la reproduction dépend de la taille de la plante. Mais, une variabilité de la pente entre variétés a également été mise en évidence, suggérant une possible plasticité de la relation.

Vasseur et al. (2018) ont montré une autre preuve du contrôle de l'environnement sur ces relations allométriques. En effet, avec des accessions naturelles d'*Arabidopsis thaliana*, les auteurs ont illustré une possible variabilité de l'exposant en fonction de gradients de température et de précipitation. La plasticité de ces relations allométriques selon les conditions environnementales, ainsi que leur possible variabilité intraspécifique, ont besoin d'être approfondies chez les espèces cultivées. En effet, leur étude permettrait de mieux comprendre la stratégie d'allocation de biomasse de la plante.

4. Origine génétique des traits et de leurs combinaisons

L'évolution de l'ensemble des formes et fonctions possibles pour une espèce est limitée, comme l'illustre l'impossibilité d'avoir certaines combinaisons phénotypiques (Pigliucci, 2007). Une explication peut être l'existence de contraintes génétiques (Donovan et al., 2011; Pigliucci, 2007). En effet, la présence de corrélations génétiques peut contraindre les combinaisons entre traits. Par exemple, la pléiotropie implique qu'un seul gène peut affecter plusieurs traits, la sélection d'un trait entraînant alors celle d'un autre (Donovan et al., 2011). Pour comprendre

l'évolution des contraintes et compromis, il est nécessaire de s'intéresser à la diversité génétique possible des combinaisons de traits (Fig. 7). En agronomie et en amélioration des plantes, examiner la diversité génétique de caractères donnés est l'étape préliminaire à toute étude. L'identification des bases génétiques des traits physiologiquement importants, pour la résistance à un stress biotique ou abiotique par exemple, facilite leur sélection. L'héritabilité des traits physiologiques mesure la part de variabilité expliquée par le déterminisme génétique. Si l'héritabilité est faible, une grande partie de sa variabilité est causée par l'environnement et son évolution en réponse à la sélection sera lente (Donovan et al., 2011). Pour étudier les relations entre les changements phénotypiques et les variables climatiques, il faut s'intéresser aux traits héréditaires (McKown et al., 2014). Pourtant, la diversité génétique des traits et de leurs corrélations reste peu étudiée en écologie fonctionnelle.

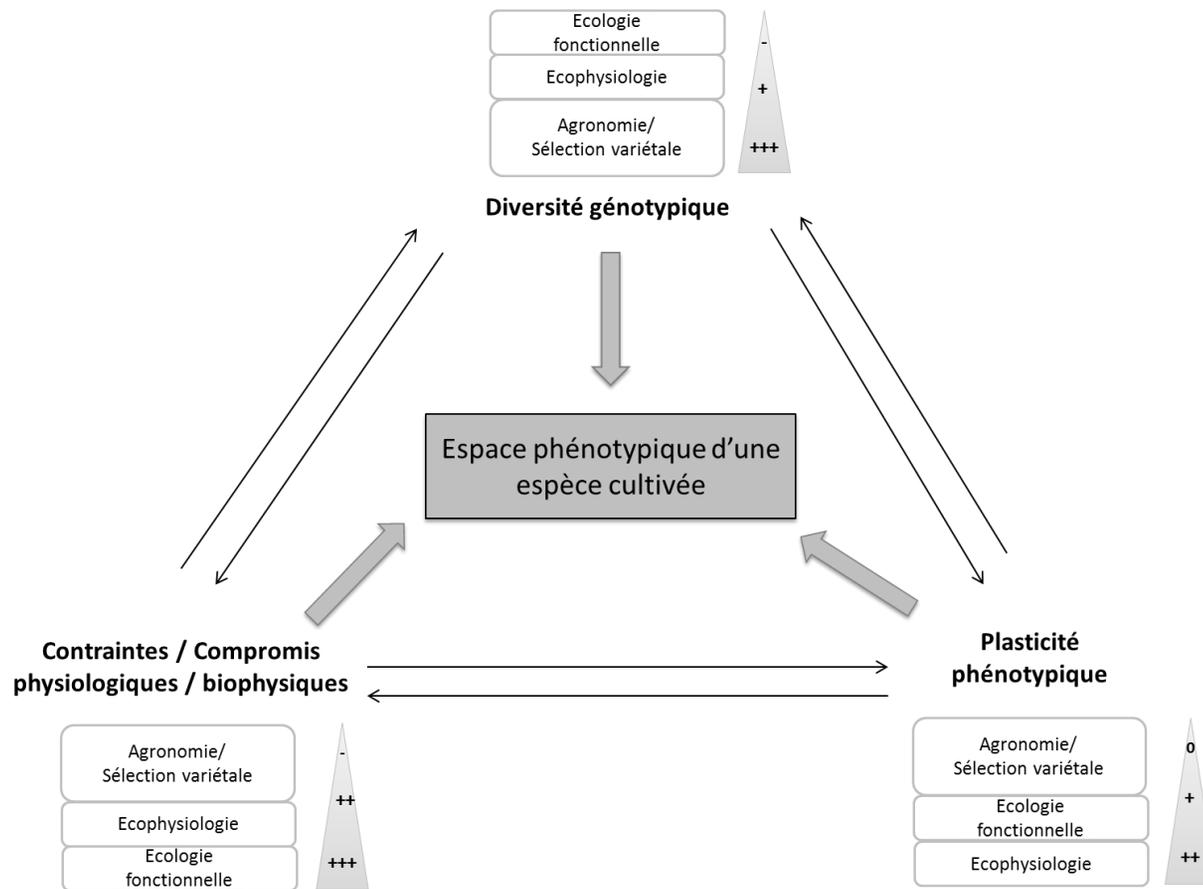


FIGURE 7 Cadre conceptuel du travail de thèse. L'espace phénotypique d'une espèce cultivée est contraint à la fois par la diversité génotypique de l'espèce, sa plasticité phénotypique mais aussi par les contraintes et compromis physiologiques et biophysiques existants. Mutuellement, chacune de ces composantes influencent les deux autres. Leur étude a été réalisée dans les trois domaines scientifiques, que sont l'agronomie/sélection variétale, l'écophysiologie, et l'écologie fonctionnelle. L'investissement de ces champs disciplinaires dans l'étude de ces trois sources de variabilité est indiqué par les symboles suivants : de très étudié (+++) à peu étudié (-).

5. Des traits fonctionnels à l'espace phénotypique

Les compromis et les contraintes, qui existent entre certains traits, limitent le nombre de combinaisons phénotypiques possibles (Agrawal et al., 2010). Une approche trait par trait ne suffit pas pour analyser la variabilité phénotypique possible. Il faut combiner l'ensemble de ces traits, ainsi que leurs relations, en prenant en compte les contraintes et les compromis (Fig. 7) (Messier et al., 2017). L'ensemble des combinaisons entre les n traits considérés forment un espace à n dimensions regroupant les formes et fonctions phénotypiques possibles (Díaz et al., 2016). L'étude de cet espace pour une espèce permet une description des phénotypes possibles (Milla et al., 2014). Les contraintes et compromis physiologiques et biophysiques, la diversité génétique des traits et de leurs relations, et la plasticité phénotypique sont tous des déterminants de l'espace phénotypique des espèces cultivées.

III. Variabilité phénotypique des espèces cultivées et réponse à l'environnement

1. La plasticité phénotypique

Dans un milieu, les conditions environnementales peuvent changer, comme la disponibilité lumineuse ou la température. En réponse à ces facteurs environnementaux, un génotype exprime une capacité plus ou moins forte à modifier son phénotype dans tel ou tel environnement. Par exemple, Schlichting et Pigliucci (1995) ont étudié la morphologie de plusieurs populations naturelles de *Phlox drummondii* dans sept environnements différents. Ils ont montré des modifications de la taille et de la forme des fleurs, dépendantes du milieu considéré. Ils ont suggéré que le phénotype pouvait être plastique en réponse à l'environnement. La plasticité phénotypique se définit comme la capacité d'un génotype donné à produire différents phénotypes en réponse à des variations de l'environnement (Pigliucci, 2001; Stearns, 1989). La plasticité phénotypique peut avoir différents impacts sur la valeur sélective de l'individu : on parlera respectivement de plasticité adaptative, mal-adaptative ou neutre pour des effets bénéfiques, non bénéfiques ou sans impact (Fig. 8B) (Grenier et al., 2016). Cette plasticité, même si elle peut être

bénéfique pour l'individu, peut avoir des coûts de maintenance ou de production pour la plante (DeWitt et al., 1998; Valladares et al., 2007).

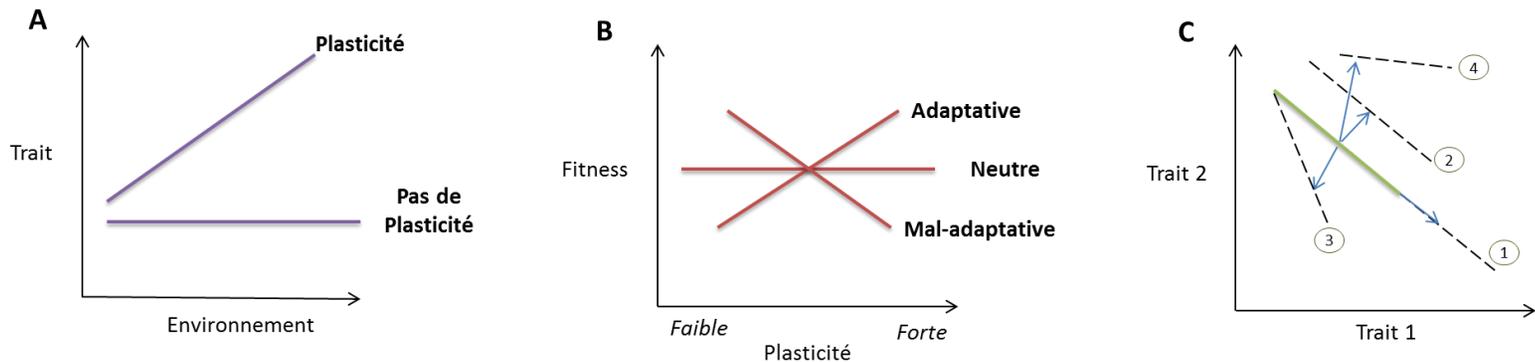


FIGURE 8 Représentations schématiques de la plasticité possible des traits fonctionnels et de leurs covariations. (A) Le trait peut varier ou pas avec l'environnement, présentant ou non une plasticité (Pigliucci, 2001). (B) La plasticité plus ou moins importante d'un trait peut augmenter (adaptative), réduire (mal adaptative) ou ne pas changer (neutre) la fitness individuelle (Nicotra et al., 2010). (C) Pour un compromis entre deux traits, la variabilité en réponse à un stress peut entraîner différents changements dans la relation : 1, la pente et l'ordonnée à l'origine ne changent pas, la relation reste identique; 2, la pente ne change pas à l'inverse de l'ordonnée, la relation ne change pas entre les deux traits, un changement dans le trait 1 a plus d'impact positif sur le trait 2; 3, la pente change mais pas l'ordonnée à l'origine, un changement dans le trait 2 a plus d'impact négatif sur le trait 1 ; 4 : la pente et l'ordonnée changent, la relation peut alors être moins forte entre les deux traits. Pour chacune des possibilités, seulement un cas a été considéré dans cette représentation dans un souci de clarté.

En écophysiologie, la plasticité des traits physiologiques a été étudiée dans des conditions contrôlées, pour comprendre la réponse des plantes aux fluctuations environnementales. En effet, son étude permet une meilleure compréhension de la relation entre le génotype et l'environnement, ce qui permet également d'alimenter les modèles agronomiques (Dingkuhn et al., 2005). Malgré son importance pour analyser la réponse des plantes au changement climatique (Nicotra et al., 2010), la plasticité phénotypique reste peu étudiée dans le cadre de la sélection variétale.

2. La plasticité des compromis et contraintes écophysiologiques et biophysiques

En réponse à des stress environnementaux, la réponse individuelle des traits écophysiologiques et biophysiques liés à l'acquisition, l'utilisation et l'allocation des ressources a souvent été bien étudiée chez les espèces sauvages mais aussi cultivées (Farooq et al., 2009; Gou et al., 2017; Poorter et al., 2009a; Rascio et al., 1990; Tardy et al., 2015). À l'échelle foliaire, en cas de stress hydrique, une taille de la feuille réduite est interprétée comme une façon pour la plante de limiter les pertes en eau (Xu et al., 2009). Peu d'études se sont intéressées à la variabilité ou l'invariance des compromis et contraintes écophysiologiques. Pourtant, ils peuvent révéler des changements dans le fonctionnement de la plante (Ackerly, 2004; Craine and Lee, 2003).

Un ou plusieurs stress combinés peuvent maintenir, réduire ou renforcer les relations entre deux traits (Fig. 8C). En effet, soit l'ajout d'un stress environnemental ne modifie pas la relation entre deux traits fonctionnels (Fig. 8C). Dans ce cas-là, le compromis et/ou la contrainte est invariable avec les fluctuations environnementales. Ils limitent la plasticité phénotypique possible de la plante. Soit les conditions stressantes augmentent ou diminuent l'impact d'un trait sur l'autre, ou diminue la relation entre les deux traits (Fig. 8C). Dans ce cas-là, le compromis et/ou la contrainte est variable avec les fluctuations environnementales. Leur étude permettra d'étudier la variabilité phénotypique possible de la plante. Dans les deux cas, l'étude de la variabilité ou non des combinaisons de traits est nécessaire pour évaluer la plasticité phénotypique de la plante. Les compromis et contraintes physiologiques et biophysiques permettent d'analyser les stratégies d'utilisation des ressources (Weiner, 2004; Westoby et al., 2002). Leur variabilité en fonction des conditions environnementales peut permettre d'étudier et de comparer les adaptations phénotypiques pour l'utilisation des ressources du milieu (Anderegg, 2015; Pang et al., 2011; Song et al., 2015; Wright et al., 2001)

IV. Les impacts de la sélection agronomique sur la variabilité phénotypique des espèces cultivées

1. Le syndrome de domestication

Au cours du Néolithique, l'espèce humaine est passée du chasseur-cueilleur aux prémices de l'agriculteur (Gepts, 2014). Cette transition s'est déroulée dans plusieurs régions du globe, comme par exemple le Croissant fertile ou la Mésoamérique, et a donné naissance aux espèces cultivées (Gepts, 2012). Lors de cette transition vers l'agriculture, un des moments clés est la domestication des espèces sauvages. Au cours de ce processus, les espèces cultivées ont subi des modifications phénotypiques importantes suite à leur sélection par l'homme (Diamond, 2002). L'ensemble de ces modifications morphologiques et physiologiques communes aux espèces cultivées forment le « syndrome de domestication » (Hammer, 1984; Harlan et al., 1973). Ce syndrome regroupe principalement des traits liés à l'augmentation des rendements, sélectionnés artificiellement par l'homme (Preece et al., 2017). Par exemple, l'augmentation de la taille du grain a été sélectionné pour augmenter le rendement, la diminution de la profondeur du système racinaire est lié à l'utilisation d'intrants agricoles (Doebley et al., 2006; Pérez-Jaramillo et al., 2016). Des approches archéologiques, ou encore génomiques (Gepts, 2014), ont permis d'étudier et de décrire le syndrome de domestication de ces espèces cultivées.

La plupart des traits utilisés pour décrire ce syndrome sont principalement des caractéristiques agronomiques liées au rendement (Doebley et al., 2006). Par exemple, la perte du rachis cassant chez les céréales permet une amélioration de la récolte (Peng et al., 2011). Au cours de la domestication des espèces cultivées, la disponibilité du milieu en ressources a été modifiée : l'apport d'intrants a augmenté la disponibilité en ressources, comme le phosphore ou l'azote, et la densité de peuplement a augmenté la compétition pour la lumière. Face à ces modifications, une évolution du phénotype vers une acquisition rapide des ressources et une meilleure compétition pour la lumière est attendue (Meyer et al., 2012; Milla et al., 2015). Pour tester cette hypothèse, il est nécessaire d'étudier la variabilité des traits liés à l'utilisation des ressources au cours de la domestication des espèces cultivées. Mais aussi, les variations possibles dans les combinaisons entre ces traits permettront une intégration des changements à l'échelle du phénotype (Meyer et al., 2012; Milla et al., 2014, 2015). Dans ce contexte, Milla et al. (2014) ont étudié la variabilité des traits liés à l'utilisation des ressources, ainsi que leurs combinaisons, au cours de la domestication des graminées. Les auteurs ont observé l'évolution des traits fonctionnels vers une acquisition

plus importante de la ressource lumineuse. Ils ont suggéré, qu'au cours de l'évolution des graminées, des phénotypes plus compétiteurs pour la lumière ont été sélectionnés. Cette étude a donc permis d'élargir la description du syndrome de domestication des graminées. L'étude des combinaisons entre les traits liés à l'utilisation des ressources, au cours de la domestication des espèces cultivées, permet à la fois de tester leur possible variabilité, mais aussi d'explorer les conséquences non voulues de la domestication. Leur analyse permet d'élargir la description du syndrome de domestication des espèces cultivées, et renseigne sur l'évolution de leur espace phénotypique.

2. Les impacts de la sélection agronomique sur les compromis écophysiologicals et biophysiques

L'existence de compromis écophysiologicals et biophysiques chez les espèces sauvages suggère une contrainte sur l'évolution des traits et l'inexistence de certaines combinaisons entre eux. Ce constat suggère une limitation de l'espace phénotypique des possibles (Díaz et al., 2016; Wright et al., 2004). Bien que l'évolution de ces contraintes chez les espèces sauvages ait été très étudiée, nous en savons peu sur leur existence et évolution chez les espèces cultivées. Il est possible que la sélection artificielle ait modifié les compromis écophysiologicals et biophysiques afin d'adapter l'allocation de la biomasse et de l'énergie dans la plante pour augmenter les rendements. Comme pour la diversité génétique (Zeder et al., 2006), on pourrait s'attendre à une diminution de la diversité phénotypique au cours de la domestication et donc à une enveloppe des contraintes plus restreinte pour les espèces cultivées (Fig. 9). De plus, une sélection similaire au sein des espèces cultivées pour une stratégie plus « acquisitive » des ressources est attendue en raison d'environnements « plus riches » associés à l'utilisation d'intrants par l'agriculture (Milla et al., 2014). L'espace phénotypique des espèces cultivées représenterait principalement des stratégies pour une utilisation rapide des ressources. De plus, suite à l'amélioration variétale, la question se pose sur l'existence de super domestiqués, sélectionnés artificiellement, qui « outrepasseraient » ces compromis et sortiraient de l'enveloppe des contraintes (Fig. 9).

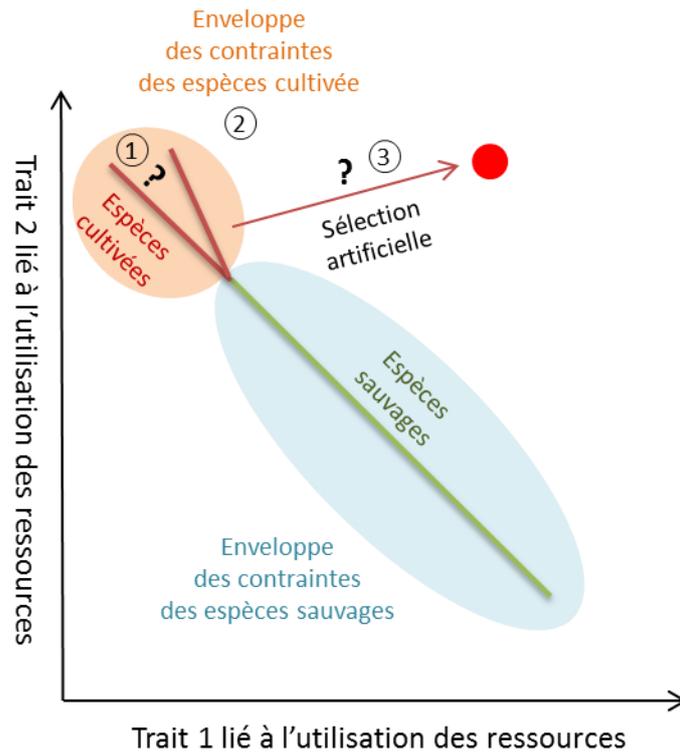


FIGURE 9 Représentation schématique d'un compromis écophysologique ou biophysique chez les espèces sauvages et cultivées. La répartition des espèces sauvages, le long du compromis entre les deux traits liés à l'utilisation des ressources, forme une enveloppe des contraintes des espèces sauvages. Chez les espèces cultivées, l'existence et la persistance de ces compromis, ainsi que la présence d'une enveloppe des contraintes, se posent : 1, un compromis existe-il chez les espèces cultivées, si oui est-il différent de celui illustré chez les espèces sauvages ? 2, Les espèces cultivées se trouvent-elles dans une enveloppe des contraintes différente de celle des espèces sauvages ; et si oui, à une extrémité ? 3, la sélection artificielle a-t-elle permis de créer des super domestiqués capables de sortir de cette enveloppe des contraintes ?

Présentation de la thèse

I. Les objectifs du travail de thèse

Dans ce travail de thèse, nous proposons une approche d'écophysiologie comparative afin d'étudier l'espace phénotypique des espèces cultivées. Pour cela, nous étudions l'existence et le maintien de compromis et contraintes écophysiologiques et biophysiques chez les espèces cultivées, aussi bien par des comparaisons d'espèces que de génotypes au sein d'une espèce (études intra- vs. interspécifiques), et leur sensibilité à des variations environnementales (stress hydrique en particulier). Cette étude a pour objectif de répondre à trois questions :

- Quel est l'impact de la domestication sur l'espace phénotypique des espèces cultivées ?
- La sélection artificielle a-t-elle modifié, ou franchi, les contraintes écophysiologiques et biophysiques chez les espèces cultivées ?
- Quel est le rôle de la plasticité phénotypique dans le maintien, la réduction ou l'augmentation de ces contraintes dans des conditions sous-optimales ?

Pour répondre à ces trois questions, ce travail de thèse est divisé en trois axes. Tout d'abord, le premier axe a pour objectif d'étudier l'évolution, au cours de la domestication des espèces cultivées, des compromis écophysiologiques pour différents compartiments de la plante. Ensuite, dans le deuxième axe, nous étudions, au sein d'une espèce cultivée, les variations des relations allométriques face à différentes conditions environnementales. Enfin, le troisième axe vise à comparer, entre et au sein d'espèces cultivées, les stratégies foliaires face à un stress hydrique.

II. L'étude de cinq céréales d'importance agronomique et économique

Pour répondre à ces trois objectifs, nous avons choisi cinq espèces céréalières (maïs, mil, sorgho, blé tendre et blé dur) d'importance agronomique et économique. Le maïs, le blé et le sorgho sont respectivement la première, troisième et cinquième espèce de céréales les plus produites dans le monde avec 817, 600 et 55 millions de tonnes en 2007-2009 (Source : FAOSTAT). Le maïs et le blé sont des denrées alimentaires de base dans de nombreux pays

du monde, tandis que le sorgho est surtout produit et consommé dans des zones arides d’Afrique, Amérique latine et Asie du sud (<http://www.fao.org>). Le mil est considéré comme une culture de subsistance pour l’alimentation et le fourrage des animaux. Il est principalement produit au Nigéria et en Inde avec 31 millions de tonne en 2007 (Source : FAOSTAT). Avec ces cinq céréales, trois expériences ont été mises en place afin de répondre aux trois objectifs. Tout d’abord, une série de domestication du blé dur a été étudiée en extérieur dans des pots, sans apports d’intrants (Fig. 10A). Ensuite, un panel d’hybrides de maïs a été cultivé dans la plateforme à haut débit PhenoArch (<https://www6.montpellier.inra.fr/lepse/M3P>) en condition de stress hydrique (Fig. 10B). Pour finir, une expérience avec plusieurs lignées de blé tendre, maïs, sorgho et mil a été réalisée dans la plateforme PhenoDyn (<https://www6.montpellier.inra.fr/lepse/M3P>) en conditions de stress hydrique (Fig. 10C). Au cours de ces expérimentations, des traits fonctionnels à l’échelle de la plante et de l’organe ont été mesurés, et les possibles corrélations entre eux quantifiées, au cours de la croissance végétative de la plante. L’ensemble des différentes expérimentations réalisées au cours de ce travail de thèse, et les analyses statistiques, seront développées dans la partie Matériels & Méthodes.

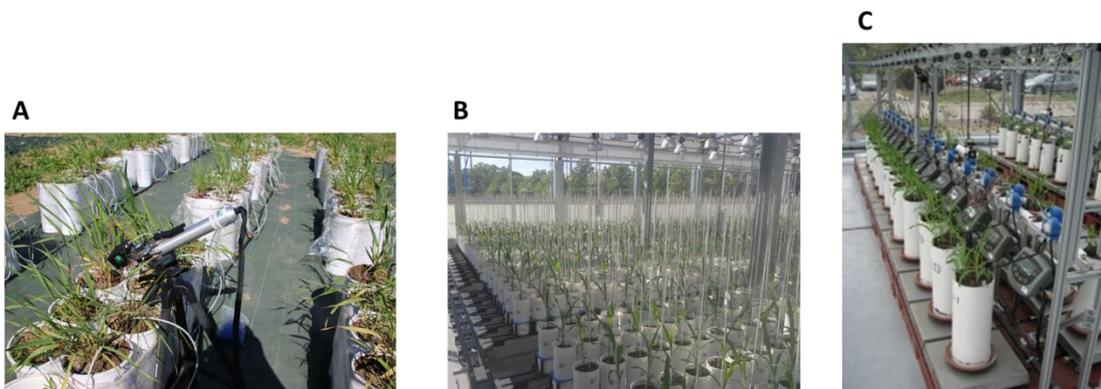


FIGURE 10 Représentation des trois expérimentations. (A) La série de domestication du blé dur cultivée dans des pots au champ. (B) Le panel d’hybrides de maïs cultivé dans la plateforme de phénotypage à haut-débit PhenoArch. (C) L’expérience multi-espèces mise en place dans la plateforme PhenoDyn.

III. L’étude des compromis écophysologiques et contraintes biophysiques

L’ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail de thèse ont été organisés en trois chapitres. Le premier chapitre s’intéresse à l’impact de la domestication sur les

compromis écophysiologicals à l'échelle foliaire, racinaire et plante entière chez le blé dur. Les résultats obtenus sur cette série de domestication du blé dur ont fait l'objet d'un article publié en janvier 2018. Le deuxième chapitre de cette thèse concerne la réponse allométrique de plusieurs génotypes de maïs au stress hydrique et l'influence de l'ombrage. Les principaux résultats de cette étude ont fait l'objet d'une deuxième publication en préparation. Le troisième chapitre s'intéresse à l'impact d'un stress hydrique sur les relations écophysiologicals qui peuvent exister chez les quatre espèces céréalières étudiées. Les principaux résultats de cette étude ont fait l'objet d'une troisième publication en préparation.

IV. Un travail collaboratif et transdisciplinaire

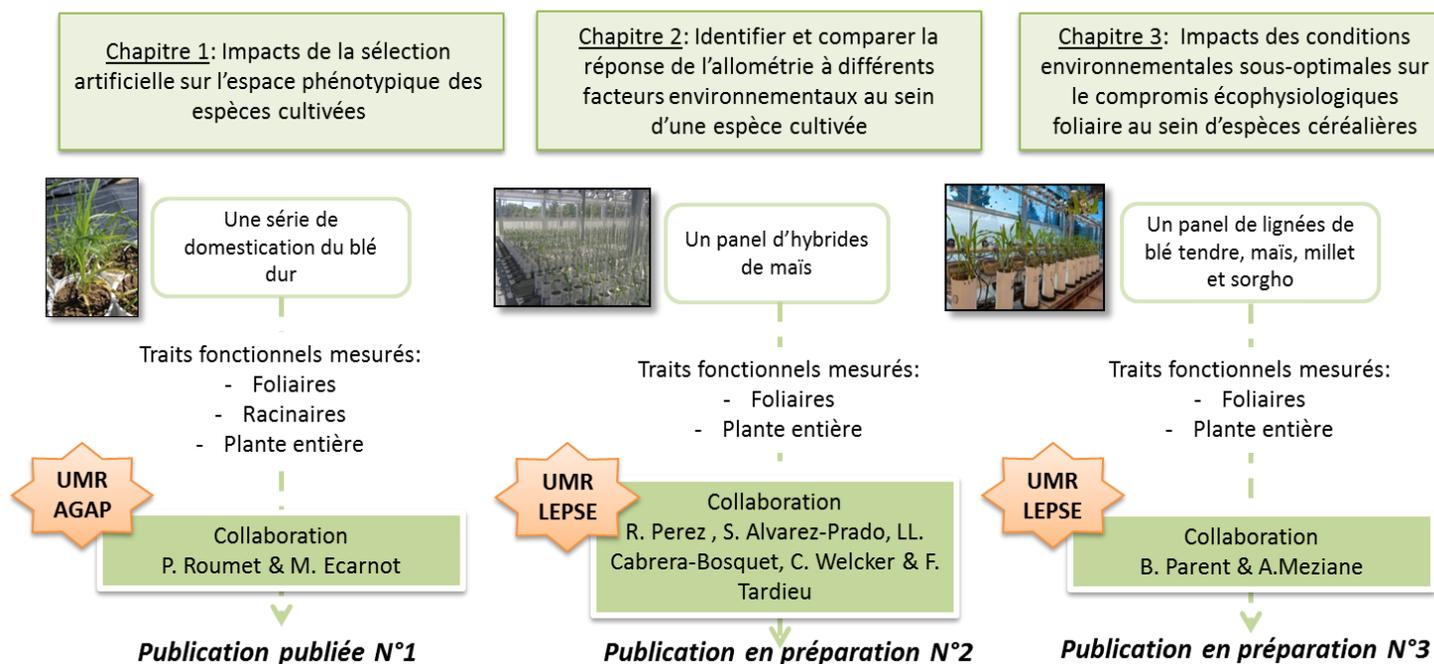
Pour répondre à notre problématique, nous avons mis en place un travail transdisciplinaire grâce aux nombreuses collaborations effectuées. Notre approche a permis d'appliquer des théories écologiques aux espèces cultivées, en dépassant à la fois chacune des disciplines étudiées que sont l'écologie fonctionnelle, l'écophysiological et l'agronomie. L'étude comparative de plusieurs espèces (5 espèces cultivées, 473 génotypes) réalisée grâce à différents outils (plateformes de phénotypage haut-débit, expérimentation en plein air) a apporté à chacune des disciplines. Tout d'abord, la collecte des données permet d'élargir l'étude des compromis écophysiologicals et contraintes biophysiologicals, réalisées sur les espèces sauvages en écologie fonctionnelle, sur les espèces cultivées. Ensuite, notre étude peut permettre de passer d'une approche trait par trait, utilisée en agronomie et sélection variétale, à une intégration des contraintes pouvant limiter leur sélection. Finalement, l'étude des traits et de leurs compromis et contraintes face à des stress environnementaux peut affiner la description de la réponse phénotypique des plantes. Dans ce travail, nous avons cherché à appliquer des concepts de l'écologie fonctionnelle à l'écophysiological et l'agronomie, afin de développer une approche qui s'appuie sur les compromis écophysiologicals et les contraintes biophysiologicals lors de l'étude phénotypique des espèces cultivées.

TABLEAU 1 Tableau récapitulatif des différents chapitres avec les objectifs. Les différentes collaborations, ainsi que les productions écrites, sont renseignées.

Compromis écophysiologicals et contraintes biophysiques chez les espèces cultivées

Objectifs :

- Impacts de la domestication sur l'espace phénotypique des espèces cultivées
- Rôle de la plasticité phénotypique dans le maintien, l'amenuisement ou le renforcement des contraintes et compromis dans des conditions sous-optimales
- Impacts de la sélection agronomique sur les compromis et contraintes écophysiologicals et biophysiques



Matériel & Méthodes

Matériel & Méthodes

I. Matériel végétal

1. Une série de domestication du blé dur

Pour répondre à l'objectif du premier chapitre, une série de domestication du blé tétraploïde *Triticum turgidum* a été étudiée. Trois sous-espèces de *T. triticum* furent sélectionnées comme représentantes des grandes étapes de la domestication du blé dur : la forme sauvage (*T. triticum* ssp. *dicocoides*), la première forme domestiquée (*T. triticum* ssp. *dicoccum*) et la forme moderne (*T. triticum* ssp. *durum*) (Fig. 1). *T. triticum* ssp. *durum* se distingue des autres par l'apparition de grains nus, c'est-à-dire la disparition des glumes protectrices (Fig. 1). Dans cette dernière sous-espèce, les variétés pré et post Révolution Verte sont différenciées (Fig. 1). Les populations représentent les variétés pré Révolution Verte (avant 1970) et les élites, les variétés post Révolution Verte (entre 1970 et 1990) (Fig. 1). Ces deux groupes se distinguent notamment par la taille plus petite des élites, résultat de l'introgession du gène de nanisme.

Pour chacun des quatre groupes étudiés, dix génotypes ont été sélectionnés afin de maximiser leur diversité génétique, grâce à 21 marqueurs microsatellites cartographiés sur les 14 chromosomes de *durum* (David et al., 2003; Röder et al., 1998). Les accessions proviennent de collections maintenues dans différents centres de stock dans le monde. Les graines utilisées ont été fournies par l'UMR AGAP de Montpellier.

Cette première expérimentation a été réalisée avec la collaboration de Pierre Roumet et Martin Ecartot (UMR AGAP).

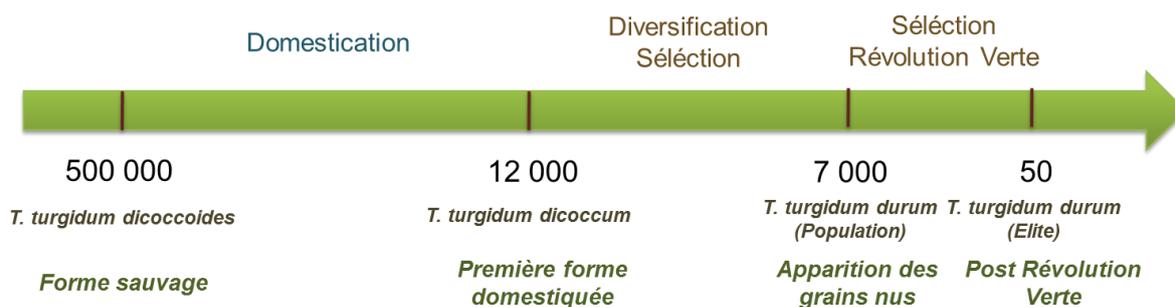


FIGURE 1 Frise chronologique de la série de domestication du blé dur. Chacune des trois sous-espèces étudiées est représentée selon sa date d'apparition au cours de la domestication du blé dur. La sous-espèce *T. turgidum durum* est séparée en deux groupes : les populations correspondant aux variétés apparues avant la Révolution verte et les élites correspondant aux variétés apparues après la Révolution Verte. Les évènements (domestication, diversification, sélection, Révolution Verte) qui ont amené leur apparition sont précisés.

2. Un panel d'hybrides de maïs

Pour répondre à l'objectif du deuxième chapitre, nous avons sélectionné 337 génotypes de maïs (*Zea mays*). Les génotypes sont des hybrides F1 provenant du croisement entre 337 lignées dentées et un testeur corné commun *UH007* (Prado et al., 2018). *UH007* est une lignée cornée développée par le programme d'amélioration variétale du maïs de l'université de Hohenheim, en Allemagne. Les 337 lignées dentées proviennent de différents panels européens et américains. Elles ont été sélectionnées pour leur fenêtre de floraison restreinte. Le panel d'hybrides issu de ce croisement a une fenêtre de floraison de 7 jours (Millet et al., 2016).

En Europe, les maïs sont classés en 4 catégories : les grains vitreux, les cornés, les cornés dentés et les dentés. Ces différences se font principalement sur les grains (Fig. 2). En effet, l'amidon présent dans les grains est à majorité vitreux chez les cornés et farineux chez les dentés (Fig. 2). De plus, les cycles végétatifs de ces deux variétés sont différents. Les cornés sont plus adaptés à des zones froides, leurs besoins en sommes de températures sont donc inférieurs à ceux des dentés. Il en résulte une précocité de floraison des cornés par rapport aux dentés.

Cette deuxième expérimentation a été réalisée en collaboration avec l'équipe MAGE de l'UMR LEPSE.

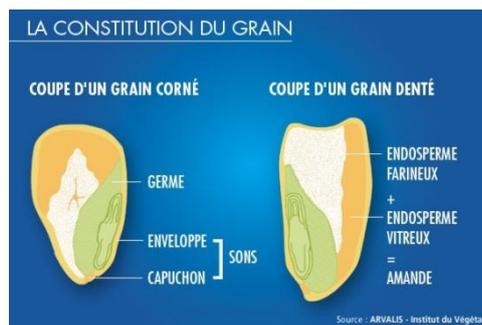


FIGURE 2 Constitution des grains de maïs corné vs denté. Le grain de maïs est constitué d'environ 70 % d'amidon contenu principalement dans l'amanche. La différence entre les grains cornés et dentés provient principalement de la consistance de cet amidon. Chez les cornés, l'endosperme est majoritairement vitreux à l'inverse de chez les dentés (SOURCE : Arvalis – Institut du Végétal).

3. Un panel de lignées de plusieurs espèces céréalières

Pour répondre à l'objectif du troisième chapitre, nous avons sélectionné plusieurs panels de lignées pour quatre espèces céréalières. Pour chacune des espèces, les génotypes ont été choisis pour maximiser la diversité génétique, mais aussi phénotypique.

Le matériel génétique a été sélectionné de la même manière pour le maïs (*Zea mays*), mil (*Pearl millet*) et sorgho (*Sorghum bicolor*). Le processus de sélection s'est déroulé en deux étapes. Tout d'abord, un large panel est sélectionné afin de maximiser la diversité génétique de chacune des espèces (89 pour le maïs, 152 pour le sorgho et 264 pour le mil). Ensuite, ce panel a été restreint à certaines lignées, maximisant la diversité phénotypique possible pour la réponse à la sécheresse.

Pour le maïs, les 89 lignées ont été testées pour la réponse de l'élongation foliaire au potentiel hydrique du sol. Un micro panel de 29 lignées de maïs, composées de 15 tempérées et 15 tropicales, a ainsi été sélectionné.

Pour le mil, les 264 lignées ont été testées, sous différentes conditions hydriques, pour l'efficacité d'utilisation de l'eau. Un micro panel de 23 lignées de mil a été sélectionné pour leur contraste de réponse à la demande évaporative.

Pour le sorgho, les 152 lignées ont été testées de la même manière que pour le mil. Un micro panel de 19 lignées de sorgho a donc été sélectionné. Les accessions sont issues majoritairement de deux institutions, l'ICRISAT (Institut international de recherche sur les cultures des zones tropicales semi-arides) et d'Agropolis-CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement) ; et proviennent d'Afrique, Inde et Amérique.

Pour le blé tendre (*Triticum turgidum aestivum*), un micro panel de 23 lignées a été sélectionné pour la diversité de leur localisation géographique et résistance à la sécheresse. Les génotypes choisis proviennent principalement d'Europe, États-Unis, Australie et Mexique. Leurs années de sortie sont comprises entre 1932 et 2015.

Cette troisième expérimentation a été réalisée en collaboration avec Boris Parent et Adel Meziane (équipe MAGE, UMR LEPSE).

II. Description et caractéristiques des expérimentations

1. Une expérimentation en plein air

La série de domestication du blé dur fut cultivée en extérieur sur le campus de l'INRA-SupAgro (France, 43° 37' 02''N, 3° 51' 18'' E) pour une durée de 90 jours (expérimentation 1). Les températures minimale et maximale étaient respectivement de 2°C et 19°C. Les plantes ont été mises dans des pots de 9 L (avec 17.5 cm de diamètre et 38.5 cm de profondeur) remplies d'une terre végétale tamisée à 2 mm provenant d'une prairie naturelle située dans les Cévennes (France, 44° 26' 25''N, 3° 55' 58''E ; 0.994 g N kg⁻¹ de sol, 4.17 g K kg⁻¹ de sol et 0.166 g P kg⁻¹ de sol). Les 40 accessions étudiées furent répétées cinq fois dans le dispositif expérimental. Chaque répétition représentant un bloc, les plantes furent disposées aléatoirement dans chacun des blocs (Fig. 3). Au cours de la croissance des plantes, aucun intrant ne fut apporté et les plantes furent arrosées une à deux fois par semaine avec 150 mL d'eau du robinet, en fonction de l'assèchement de la terre.



FIGURE 3 Dispositif expérimental du chapitre 1. La série de domestication du blé dur a été cultivée dans des pots de 9L en extérieur sur le campus de l'INRA-SupAgro. Chacun des 5 blocs représente une répétition des 40 accessions. À l'intérieur de chaque bloc, les génotypes sont disposés de manière aléatoire.

2. La plateforme à haut-débit PhenoArch

Le panel d'hybrides de maïs fut cultivé pendant 55 jours dans la plateforme à haut débit PhenoArch (<https://www6.montpellier.inra.fr/lepse/M3P>) (Cabrer-Bosquet et al., 2016) sur le campus de l'INRA-SupAgro (France, 43° 37' 02''N, 3° 51' 18'' E) sous des conditions contrôlées (expérimentation 2). Les températures minimale et maximale étaient respectivement de 15°C et 29°C. Les plantes ont été cultivées dans des pots de 9L (avec 17.5 cm de diamètre et 38.5 cm de profondeur) remplis d'un substrat composé d'un mélange de 30% d'argile et 70% de compost organique. Les plantes ont été disposées aléatoirement dans la plateforme organisée en 28 colonnes et 60 lignes (Fig. 4A).

Au cours de cette expérimentation, chaque lignée a été répétée deux fois en condition bien irriguée et trois fois en condition stressée. Afin de maintenir le niveau de stress, le statut hydrique de chaque pot fut maintenu à des valeurs cibles selon le traitement hydrique

souhaité : un potentiel hydrique du sol de -0.05 MPa pour les bien irriguées et -0.6 MPa pour les stressées. Les pots sont pesés trois fois par jour et des stations hydriques ajoutent de l'eau si nécessaire (520 U, Watson Marlow, Wilmington, MA, USA).

Après le semis, du septième au trente sixième jour, chaque plante était photographiée de manière journalière : 13 photos prises, avec 12 vues latérales espacées chacune d'une rotation de 30° et une vue au-dessus (Fig. 4B). Les cycles d'imagerie ont été réalisés entre 21h et 5h.

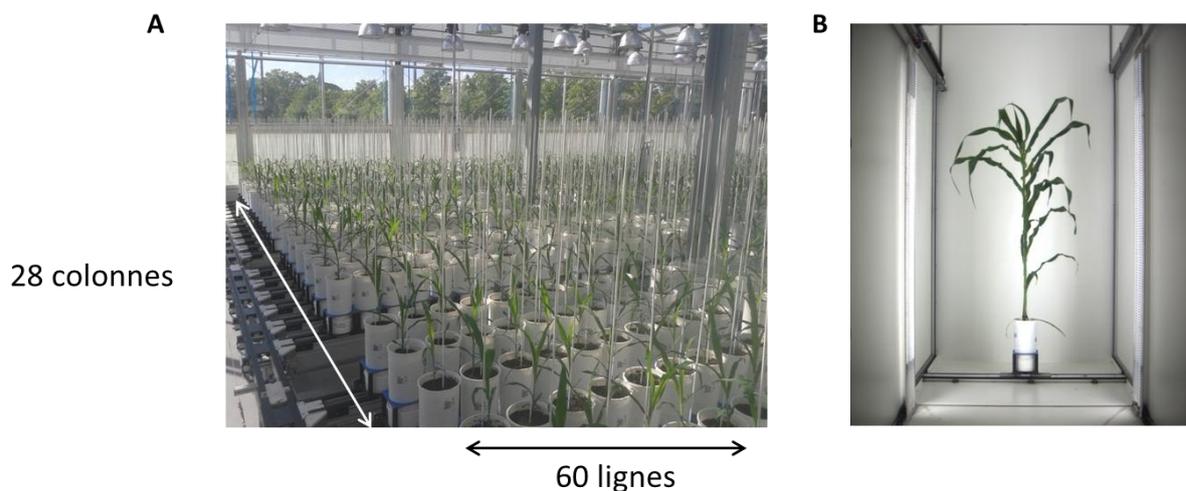


FIGURE 4 Dispositif expérimental du chapitre 2. (A) Chacune des plantes est disposée aléatoirement selon 28 colonnes et 60 lignes. (B) Chaque jour, les plantes sont photographiées 13 fois selon 12 vues latérales et 1 au-dessus.

3. La plateforme à haut débit PhenoDyn

Le panel de lignées multi-espèces fut cultivé pendant 35 jours dans la plateforme à haut-débit PhenoDyn (<https://www6.montpellier.inra.fr/lepse/M3P>) sur le campus de l'INRA-SupAgro (France, $43^\circ 37' 02''$ N, $3^\circ 18' 51' 18''$ E) sous conditions contrôlées (expérimentation 3). Les températures minimales et maximales étaient respectivement de 19°C et 25°C . Les plantes ont été cultivées dans des pots de 9L (avec 17.5 cm de diamètre et 38.5 cm de profondeur) remplis d'un substrat composé d'un mélange de 30% d'argile et 70% de compost organique.

Chaque plante a été répétée 3 fois en condition bien irriguée et 3 fois en condition de stress hydrique. Dans la plateforme PhenoDyn, les plantes sont disposées sur des balances individuelles (Fig. 5A). Le potentiel hydrique est maintenu pour les stressées entre -0.3 et -0.4 MPa, entre -0.05 et -0.01 MPa pour les bien irriguées.

Pour chacune des plantes, une feuille (cinquième pour le blé et sixième pour les 3 autres espèces) est « pincée » (Fig. 5B). Cette pince est reliée à un poids par un fil (Fig. 5C). Lors de la croissance foliaire, le fil bouge le long d'un capteur de déplacement rotatif (RDTs 60-1045 Full Smart Position Sensor; Spectrol Electronics, Ltd, Wiltshire, England) (Fig. 5C). Ce dispositif permet de mesurer quotidiennement l'élongation foliaire de la feuille sélectionnée.

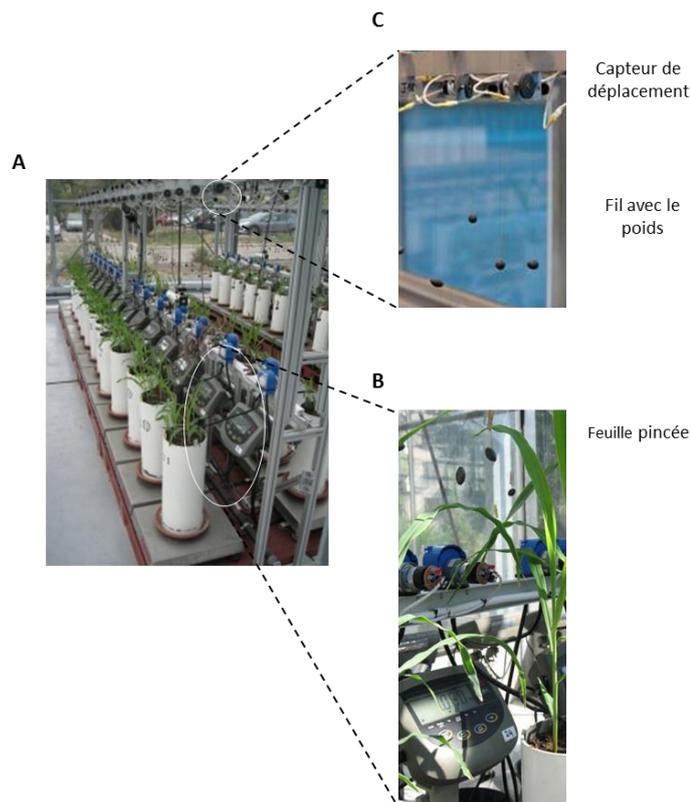


FIGURE 5 Dispositif expérimental du chapitre 3. Chacune des plantes est disposée sur une balance qui permet de calculer de manière journalière son poids. Le statut hydrique du sol est maintenu à une valeur cible par l'irrigation individuelle. (A) Une rangée de plantes disposées sur les balances. (B) Illustration d'une feuille « pincée ». (C) Capteurs de déplacement rotatif et les fils avec le poids qui permettent de mesurer l'élongation foliaire.

III. Méthodes générales

Au cours de ces trois expérimentations, des traits fonctionnels ont été mesurés aux différentes échelles de la plante : foliaire, racinaire et plante entière. Tous n'ont pas été mesurés dans chacune des expérimentations. Mais pour ceux qui le sont, les méthodes de

calcul sont identiques. Dans cette partie, chacune des mesures réalisées est expliquée, plus d'informations sont disponibles dans le matériel et méthodes de chaque chapitre.

1. Mesure des traits foliaires

À l'échelle foliaire, plusieurs traits fonctionnels ont été analysés lors des trois expérimentations. Les abréviations et unités utilisées dans les trois chapitres sont données ci-dessous (Tableau 1).

TABLEAU 1 Abréviations et unités des traits foliaires, telles qu'utilisées dans les chapitres.

Trait fonctionnel	Traduction anglaise	Abréviations	Unité
<i>Au cours de la croissance végétative</i>			
Taux d'élongation foliaire	Leaf elongation rate	LER	mm d ⁻¹
Durée de vie de la feuille	Leaf longevity	LL	°Cd
Taux photosynthétique maximal	Maximal photosynthetic rate	A _{max}	nmol m ⁻² s ⁻¹
Taux d'azote foliaire	Leaf nitrate content	LNC	%
<i>A la récolte</i>			
Masse surfacique foliaire	Leaf mass per area	LMA	g m ⁻²
Surface spécifique foliaire	Specific leaf area	SLA	m ² g ⁻¹
Surface foliaire	Leaf area	LA	cm ² ou m ²
Masse foliaire sèche	Leaf dry mass	LDM	g
Capacité photosynthétique maximale	Maximal photosynthetic capacity	A _{mass}	nmol g ⁻¹ s ⁻¹

a. Mesure au cours de la croissance végétative

Lors de la croissance végétative de la plante, la quatrième feuille est observée quotidiennement. De son apparition jusqu'à sa sénescence, la durée de vie de la feuille est calculée en degrés jours. Pour cela, les températures quotidiennes moyennes recueillies par la station météorologique INRA-SupAgro sont cumulées pour obtenir des degrés jours.

Dans la plateforme PhenoDyn, le taux d'élongation foliaire est mesuré quotidiennement sur une feuille (cinquième ou sixième) grâce à des capteurs de déplacement rotatif (RDTs 60-1045 Full Smart Position Sensor; Spectrol Electronics, Ltd, Wiltshire, England) (Fig. 6A). Après avoir enlevé les erreurs de mesure possibles, le taux d'élongation foliaire est calculé en moyennant les valeurs des trois premiers jours.

Sur la même feuille, pour mesurer le taux photosynthétique maximal, on utilise des appareils photosynthétiques portatifs, avec une chambre foliaire d'assimilation (CIRAS, PP systems and LI-6400XT, LI-COR) (Fig. 6B). Les mesures sont faites à humidité constante (80 %), à température ambiante (25°C), à une constante concentration de CO₂ atmosphérique (400 ppm) et à lumière saturante (PAR = 1500 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$).

Sur la même feuille, le taux d'azote foliaire est mesurée grâce à la spectroscopie infrarouge au moyen d'un spectromètre infrarouge (NIRS) (FieldSpec 2,500 ; Anatyca Spectral Devices (ASD) Inc., Boulder, CO, USA) (Fig. 6C). Deux spectres sont pris par feuille grâce à des clips foliaires et un fond blanc pour les mesures de réflectance. Le taux d'azote foliaire est alors estimé à partir de ces spectres, en utilisant une calibration définie au préalable avec une grande variété de blés (Ecarnot et al., 2013).



FIGURE 6 Mesures de trois traits foliaires au cours de la croissance végétative. (A) Poids attachés aux feuilles reliés aux transducteurs de déplacement rotatif dans PhenoDyn pour calculer l'élongation foliaire. (B) Mesure de la vitesse photosynthétique grâce à l'appareil portatif CIRAS. (C) Prélèvement des spectres sur les feuilles sélectionnées grâce au NIRS.

b. Mesure à la récolte

A la récolte, la feuille mûre, utilisée pour les mesures précédentes, est prélevée. Après une réhydratation à 4°C pendant 24 heures, la feuille est scannée (150 dpi). Sa surface foliaire est calculée grâce au logiciel ImageJ (ImageJ ; U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Cette méthode est utilisée pour les feuilles de blé, mil et sorgho. Pour

les feuilles de maïs, la longueur et la largeur sont mesurées et utilisées pour calculer la surface foliaire (Sezer et al., 2009).

Ensuite, la même feuille est mise pendant 72 heures à 60°C pour déterminer sa masse sèche.

Pour les feuilles de blé, mil et sorgho, la masse surfacique foliaire est calculée comme le ratio de la masse sèche de la feuille par la surface foliaire. Pour le maïs, dix ponçons sont réalisés de part et d'autre de la veine principale le long de la feuille (aire du ponçon = 50.26 mm²). Ils sont ensuite déposés à 60 °C pendant 72h pour déterminer leur poids sec total. Ce résultat est alors divisé par la surface des ponçons pour obtenir la masse surfacique foliaire.

Avec la masse surfacique foliaire, la capacité photosynthétique maximale est calculée comme le ratio du taux photosynthétique maximal par la masse surfacique foliaire. L'inverse de la masse surfacique foliaire est la surface spécifique foliaire.

2. Mesure des traits racinaires

À l'échelle racinaire, des traits fonctionnels ont été analysés uniquement pour le premier chapitre. Dans ce chapitre, leurs mesures sont plus détaillées. Les abréviations et unités utilisées pour la première expérimentation sont données (Tableau 2).

TABLEAU 2 Abréviations et unités des traits racinaires, telles qu'utilisées dans le chapitre 1.

Trait fonctionnel	Traduction anglaise	Abréviation	Unité
<i>A la récolte</i>			
Angle racinaire	Crown root angle	RA	°
Diamètre racinaire moyen	Mean root diameter	RD	mm
Proportion de racines fines	Percent of fine roots	PFR	%
Longueur spécifique racinaire	Specific root length	SRL	m g ⁻¹
Poids sec du système racinaire	Root dry weight	RDW	g

À la récolte, l'angle racinaire est déterminé comme l'angle entre les racines et la surface du sol (Fig. 7A). Après nettoyage du système racinaire, deux racines séminales sont prélevées et scannées (600 dpi) (Fig. 7B). Le scan obtenu est analysé par le logiciel

WinRHIZO Pro afin de calculer la proportion de racines fines, le diamètre racinaire moyen et la longueur racinaire (version 2009 ; Regent Instrument, Quebec, Canada) (Fig. 7C). Le poids sec de ces deux racines séminales est obtenu après 72h à 60°C. Le quotient de leur longueur racinaire par leur poids permet d'obtenir la longueur racinaire spécifique.

L'ensemble du système racinaire est déposé à l'étuve à 60 °C pendant 72h pour obtenir le poids total sec du système racinaire.

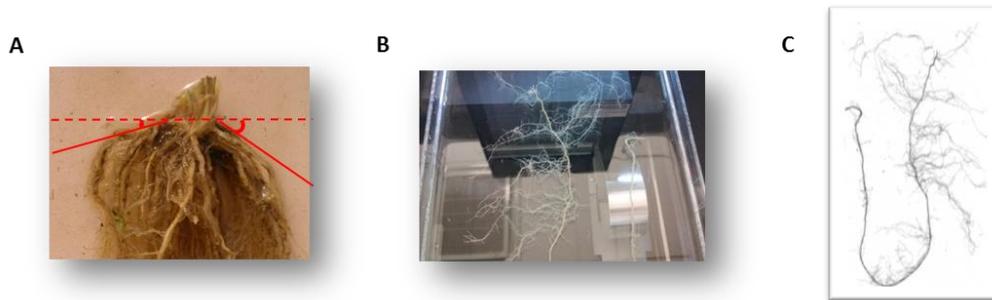


FIGURE 7 Les différentes étapes d'analyse du système racinaire. (A) L'angle racinaire est calculé entre le début du système racinaire et l'horizontal représentant le sol. (B) Les deux racines séminales choisies sont scannées (600 dpi). (C) Le scan obtenu est ensuite analysé par le logiciel WinRHIZO.

3. Mesure des traits plante entière

À l'échelle de la plante entière, plusieurs traits fonctionnels ont été analysés lors des trois expérimentations. Les abréviations et unités utilisées dans les trois chapitres sont données ci-dessous (Tableau 3).

TABLEAU 3 Abréviations et unités des traits plante entière, telles qu'utilisées dans les chapitres.

Trait fonctionnel	Traduction anglaise	Abréviation	Unité
<i>Au cours de la croissance végétative</i>			
Croissance absolue de la plante	Absolute plant growth	PG	g d ⁻¹
<i>A la récolte</i>			
Poids frais de la partie aérienne	Aboveground plant fresh biomass	PM	g
Poids sec de la partie aérienne	Aboveground plant dry mass	PDM	g
Ratio du poids sec de la partie racinaire par la partie aérienne	Root-to-shoot ratio	RSR	
Hauteur étirée	Plant height	H	cm
Diamètre de la plante	Plant diameter	PD	cm
Surface foliaire totale	Total leaf area	PA	m ²

A la récolte, pour l'expérimentation 1, la « hauteur étirée » est mesurée du sol jusqu'à la feuille la plus longue (Fig. 8A). Un autre trait architectural est mesuré, le diamètre de la plante, qui représente la distance entre les deux feuilles les plus éloignées (Fig. 8B).

Dans l'expérimentation 2, la surface totale de la plante est estimée à partir des photos réalisées.

Après ces mesures, la partie aérienne de la plante est récoltée. Son poids frais est calculé. Ensuite, son poids sec est obtenu après 72 heures à 60°C. Avec les poids secs des parties souterraines et aériennes de la plante, le ratio de l'un sur l'autre peut être calculé.

Pour l'expérimentation 2, à partir des estimations faites pour le poids frais au cours du temps à travers les photos réalisées, la croissance absolue de la plante a été estimée.

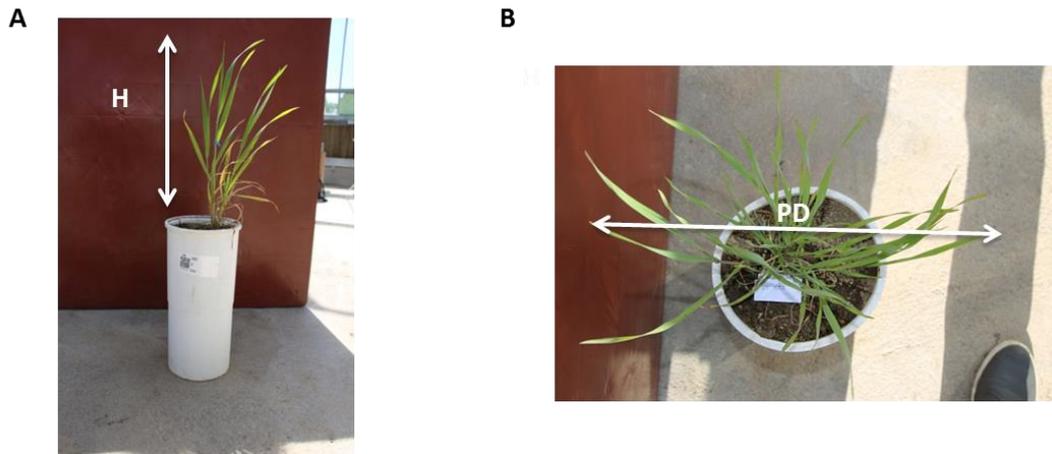


FIGURE 8 Différentes mesures des traits fonctionnels à l'échelle de la plante entière. (A) La hauteur étirée de la plante pour l'expérience 1 est mesurée comme la longueur entre le sol et la plus grande feuille. (B) Le diamètre de la plante est obtenu en mesurant la longueur entre les deux plus grandes feuilles opposées.

TABLEAU 4 Récapitulatif des traits mesurés au cours des trois expérimentations.

Expérimentations	Matériel végétal	Lieu	Traits foliaires	Traits racinaires	Traits plantes entière
Expérimentation 1	Série de domestication du blé dur	En extérieur sur le campus INRA-SupAgro 	A_{mass} LMA LA LL LNC	SRL PFR RA RD RDW	PDM RSR H PD
Expérimentation 2	Panel d'hybrides de maïs	Plateforme PhenoArch 	SLA	 	PM PG PA
Expérimentation 3	Plusieurs panels de lignées de maïs, blé tendre, sorgho et millet	Plateforme PhenoDyn 	A_{mass} LMA LA LER	 	PDM

IV. Analyse statistique

L'ensemble des données obtenues au cours de ce travail de thèse ont fait l'objet de différentes analyses statistiques à l'aide du **logiciel R 3.5.0**.

1. La variabilité et l'héritabilité des traits fonctionnels

Afin d'étudier la variabilité intraspécifique, on réalise des analyses univariées. Pour chacun des chapitres, on a réalisé une analyse de variance (ANOVA) sur chacun des traits fonctionnels étudiés. L'objectif est d'expliquer le trait en fonction de variables explicatives, par exemple le scénario hydrique. L'analyse consiste à tester si les différences de variation dans chaque groupe défini par les modalités des variables explicatives (exemple : bien irrigué vs déficit hydrique) s'écartent de manière significative ($P < 0.05$) de la valeur 0. Avec cette analyse statistique, nous pouvons étudier les impacts des conditions environnementales ou la variabilité entre génotypes sur la valeur du trait fonctionnel.

L'héritabilité au sens large a été calculée pour les traits fonctionnels étudiés au cours de chaque expérimentation. Au sein de chacune des espèces, elle a été calculée avec des modèles mixtes sur les génotypes, en séparant les conditions hydriques (selon l'expérimentation).

2. Analyser les corrélations, covariations et contraintes

Afin d'étudier les relations entre traits, et leurs réponses face aux conditions environnementales, des analyses bivariées sont effectuées. Selon l'objectif recherché, il y a différentes manières d'analyser les relations entre deux traits fonctionnels, X et Y :

- La *corrélation* est une mesure statistique qui détermine s'il y a présence ou absence d'une association entre X et Y. Il s'agit alors de représenter une relation linéaire entre ces deux variables.
- Pour étudier les *covariations*, *compromis* et *contraintes* entre X et Y, on utilise des régressions linéaires. Elles décrivent comment une variable indépendante est numériquement reliée à une autre variable. Il s'agit alors d'adapter la relation linéaire pour avoir la meilleure estimation possible de Y sur la base de X.

Dans cette partie, une description des différentes analyses statistiques pour étudier les corrélations, covariations et contraintes entre X et Y est donnée.

Le coefficient de *corrélation* (r^2) et sa significativité (P) entre X et Y permet de tester leur éventuelle combinaison. Une valeur positive et significative indique une variation

simultanée dans le même sens, et une valeur négative et significative une variation dans le sens inverse. Dans ce travail de thèse, on s'intéresse au coefficient de Spearman (package `cor.test`). Ce coefficient de corrélation est calculé sur les rangs d'échelles ordinales. Pour X et Y séparément, chacune des valeurs se fait attribuer un rang dans l'ordre décroissant; c'est-à-dire que la valeur la plus haute se fait attribuer le rang 1 et la suivante par ordre décroissant le rang 2 (Fig. 9A). On peut ainsi comparer les valeurs de X et Y rang par rang.

Pour étudier les *covariations* entre X et Y, deux types de régression linéaire sont utilisées. Les régressions linéaires de type I permettent de déterminer si les valeurs de Y peuvent être associées à celles de X (pente de la relation différente de 0) (Fig. 9B). De plus, l'étude de son coefficient de détermination (R^2) et sa *pvalue* (*P*) permet d'analyser la force et la significativité de cette relation, c'est-à-dire à quel point une variation de Y peut être expliquée par une régression linéaire sur X (Warton et al., 2006).

En écologie, pour étudier l'existence de *contraintes et de compromis* entre traits, Y n'est pas estimé en fonction de X, mais on cherche la meilleure relation possible entre les deux (Warton et al., 2012). De plus, les traits fonctionnels étudiés sont souvent biologiquement interdépendant, il ne semble donc pas raisonnable de donner le même poids aux variables X et Y. Il est nécessaire de faire une estimation de la meilleure relation décrivant au mieux la dispersion bivariée de X et Y, et de mettre en évidence les espaces non occupés (Warton et al., 2006). Pour cela, des régressions linéaires de type II sont utilisées (Kühner and Kleyer, 2008). En écologie, on utilise la méthode des moindres carrés où la droite de régression est estimée par rapport à une standardisation des deux axes principaux (SMA : « Standardized major axis ») (Warton et al., 2012) (Fig. 9C). Avec cette standardisation, les relations sont estimées avec une plus grande précision. L'erreur standard de la pente est réduite, permettant une meilleure comparaison des régressions. Les pentes, interceptes et significativités des droites de régression sont étudiées afin de tester des différences significatives selon des groupes préalablement définis (package `smatr`).

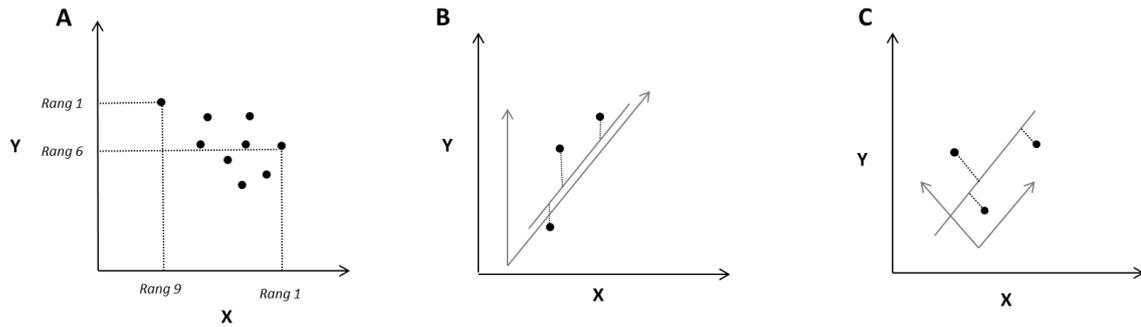


FIGURE 9 Différentes méthodes pour comparer les relations entre deux traits fonctionnels X et Y. (A) Le coefficient de corrélation sur les rangs (ou Spearman) permet de comparer si les valeurs les plus fortes sur X sont aussi les plus fortes sur Y. (B) La régression linéaire de type I permet de prédire Y à partir de X ; si la pente de cette relation est différente de 0, on pourra en déduire que Y est associé à X. (C) : la régression linéaire de type II permet une meilleure estimation de la dispersion bivariée de X et Y quand leurs échelles ne sont pas comparables. La standardisation des axes principaux (SMA) se fait en les rééchelonnant à partir de données standardisées par la méthode des moindres carrés (Warton et al., 2006).

3. Intégrer les relations entre traits

Afin d'étudier et de décrire l'ensemble des traits fonctionnels, des analyses descriptives multivariées sont utilisées. Ces études permettent de synthétiser et de visualiser rapidement une grande quantité d'information. Dans ce travail de thèse, on utilise des analyses factorielles qui permettent de représenter en 2 dimensions des données multidimensionnelles.

Avec des variables quantitatives, on réalise des analyses en composantes principales (ACP) (package FactoMineR). L'ACP repose sur l'étude de corrélation entre les variables prises globalement. Ici, on utilise les corrélations de Spearman, décrites préalablement. L'ACP définit 2 ou 3 nouvelles variables (composantes principales) qui seront utilisées pour représenter les données plus simplement. Les données projetées ont été au préalable standardisées, c'est-à-dire centrées-réduites avec une moyenne et un écart-type égaux respectivement à 0 et 1. Les composantes de l'ACP sont définies comme combinaisons linéaires des p variables initiales. Les données sont alors représentées (projetées) à l'aide des composantes (Fig. 10). Deux représentations graphiques sont alors utilisées pour analyser l'ACP : le cercle des corrélations entre les traits étudiés (Fig. 10A) et la représentation des individus selon les composantes (Fig. 10B). Le cercle des corrélations représente le poids de chacun de traits sur les composantes obtenues par l'ACP (Fig. 10A). Il illustre aussi les différentes corrélations entre les traits étudiés. Dans la représentation des individus, leurs

coordonnées sont obtenues sur les nouvelles composantes calculées par l'ACP (Fig. 10B). Cette représentation permet de discriminer les individus sur les composantes principales. L'analyse simultanée des deux représentations permet de discriminer des individus ou des groupes d'individus selon leurs valeurs pour les traits.

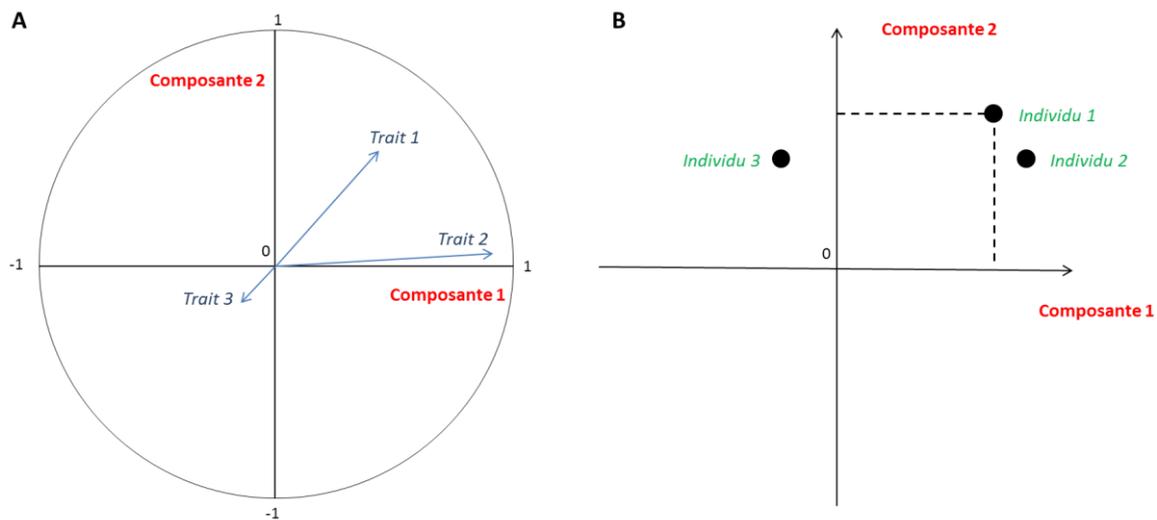


FIGURE 10 Les deux représentations graphiques de l'analyse en composantes principales (ACP). (A) Cercle des corrélations entre les traits étudiés. Le trait 2 est fortement représenté sur la composante 1 et peu sur la composante 2. Le trait 1 est représenté de la même manière sur les deux composantes. Le trait 3 n'est pas bien représenté dans ce plan formé par les deux composantes principales. Les positions opposées du trait 1 et 3 suggèrent une corrélation négative. (B) Représentation des individus selon leurs valeurs obtenues pour chacune des composantes. Les individus 1 et 2 sont proches dans la représentation avec les deux composantes principales. À l'inverse, l'individu 3 est éloigné. L'analyse des deux représentations suggère que le trait 2 discrimine les individus 1 et 2, de l'individu 3.

Lorsqu'il y a des variables qui peuvent être structurées en groupe, on réalise une analyse factorielle multiple (package FactoMineR). L'AFM est une synthèse de l'ACP, elle permet de la généraliser à des variables hétérogènes. Au cours de l'AFM, les variables du même groupe sont normalisées en utilisant la même valeur de pondération, qui peut varier d'un groupe à l'autre (Pagès, 2002). En écologie, ce genre d'analyse est utilisé lorsque l'individu peut être discriminé par une ou plusieurs variables. Par exemple, quand on étudie l'impact du stress hydrique sur les corrélations entre traits, chaque individu est caractérisé par deux valeurs de traits selon le traitement hydrique. Ce genre d'analyse permet une visualisation plus explicite de l'impact du stress hydrique sur les corrélations entre traits.

Afin d'intégrer toutes les corrélations entre traits étudiés, une analyse de réseaux peut être réalisée (package igraph). Les analyses de réseaux sont des approches quantitatives qui illustrent les connections et les distances entre les objets représentés dans le graphique (Messier et al., 2017). Ici, les objets sont les traits étudiés. Ils sont alors représentés comme des « nœuds » et leurs connections comme des « bords ». Seules les corrélations significatives sont représentées ($P < 0.05$), on s'intéressera aux corrélations de Spearman dans ce travail de thèse. Seules les corrélations avec des coefficient de corrélations plus haut que 0.25 sont gardées pour éviter les corrélations qui n'ont pas de base mécanique (Poorter et al., 2014). Des graphs de réseaux sont alors construits et analysés en deux dimensions. L'épaisseur du trait entre les nœuds augmente avec un coefficient de corrélation plus grand. Ce genre de représentation permet d'intégrer toutes les corrélations entre les traits étudiés sur un même graph.