



République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement supérieur
Et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Université Abbès Laghrou Khenchela
جامعة عباس لغرور - خنشلة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Département des Sciences Agronomiques
قسم العلوم الزراعية



Polycopié Pédagogique

Intitulé :

Biologie du Développement Végétal

Document destiné aux étudiants en 1^{ère} Année Master Académique
Spécialité : Biotechnologies Végétales

Réalisé par :

Dr. FERCHA Azzedine

MCA en Biologie & Physiologie Végétale

Année universitaire 2024/2025

Table des Matières

	Page
Préambule	i
Contenu de la matière	ii
Chapitre 1 : Concepts généraux en développement végétal	
1. Introduction	01
2. Définitions	01
3. Les Aspects du développement chez les plantes	02
4. Remarques supplémentaires	05
Résumé	
Questions de révision	
Chapitre 2 : Croissance des Angiospermes : MAC & MAR, fonction et régulation	
1. Introduction	07
2. Contrôle du cycle cellulaire	09
3. Contrôle de l'expansion cellulaire	11
4. Le maintien des méristèmes	13
4.1. Le MAC ; structure et fonction	13
4.2. Les phytomères	14
4.3. Le MAR ; structure et fonction	16
Résumé	20
Questions de révision	20
Chapitre 3 : Aspects fondamentaux du développement reproducteur chez les plantes à fleurs : gamétogenèse, fécondation, embryogenèse.	
<i>I. Gamétogenèse</i>	
1. Structure de la fleur	21
2. Gamétophyte male	22
3. Gamétophyte femelle	26
<i>II. Fécondation</i>	
1. Adhérence et Germination du Pollen	30
2. Croissance du tube pollinique :	31
3. Trajet du tube pollinique dans le Pistil :	33
4. Double Fécondation proprement dite	33
<i>III. Embryogenèse</i>	
1. Introduction	34
2. Mise en place des axes 'apico-basal' et 'radial' de l'embryon	35
3. Principales différences entre embryogenèse végétale et animale.	39
4. L'élaboration du plan d'organisation de l'embryon végétal implique une régulation génétique très fine	40
Résumé	46
Questions de révision	47
Chapitre 4 : Contrôle physiologique (hormonal) du développement végétal	
1. Introduction	49
<i>I. Auxine</i>	
1. Introduction	50
2. Biosynthèse et transport :	50

3. Fonctions	52
4. Mode d'action de l'auxine (à l'échelle moléculaire) :	53
II. Cytokinines	57
1. Introduction	57
2. Biosynthèse et transport des cytokinines	58
3. Fonctions	58
4. Mode d'action	59
III. Gibbérellines	60
1. Introduction	60
2. Lieu de synthèse et fonctions	60
3. Biosynthèse	61
4. Mode d'action	62
IV. Acide Abscissique	63
1. Introduction	63
2. Lieu de synthèse	63
3. Biosynthèse	63
4. Fonctions	63
5. Mode d'action	65
V. Ethylène	67
1. Introduction	67
2. Biosynthèse	67
3. Fonctions	67
4. Ethylène en pratique :	68
Résumé	70
Questions de révision	70
Chapitre 5 : Contrôle génétique de la floraison et la mise en place des pièces florales : Le modèle ABC	
1. Introduction	71
2. Plan d'organisation de la fleur sauvage d' <i>Arabidopsis thaliana</i>	72
3. Les principaux stades du développement de la fleur d' <i>Arabidopsis thaliana</i>	72
4. Description des mutants de classe A, B et C et établissement du modèle ABC	73
5. Profils d'expression des différents gènes ABC	76
Résumé	82
Questions de révision	82
Chapitre 6 : Mort et Senescence Cellulaire	83
1. Introduction	83
2. Sénescence des feuilles	85

3. Sénescence des organes floraux	86
4. Senescence des fruits :	88
Résumé	89
Questions de révision	89
Références	91
Annexes	-
TD/TP 1- L'auto-maintenance du MAC	-
TD/TP 2- Dosage colorimétrique de l'auxine	-
TD/TP 3- Interaction Auxines/Cytokinines (Contrôle du débourrement des bourgeons et la rhizogenèse)	-
TD/TP 4- Mise en évidence de l'impact des Gibbérellines sur l'activité α -amylasique (Germination des semences de blé).	-

Préambule

La biologie du développement végétal englobe l'étude de la manière dont les plantes multicellulaires complexes se développent à partir d'une seule cellule zygote. Ce cours fournira un aperçu des mécanismes sous-jacents à la fonction des méristèmes au cours de la croissance et du développement, de la spécification cellulaire, de la différenciation et de l'organogenèse chez les plantes à fleurs. Il décrit également les approches utilisées pour étudier le développement des plantes.

L'enseignement de cette matière a pour objectifs de permettre aux étudiants de :

- Comprendre les mécanismes moléculaires, métaboliques et physiologiques qui soutiennent les principaux processus du développement végétal, tels que la dormance, la germination, le développement racinaire, le fonctionnement des bourgeons et la floraison.
- Maîtriser les concepts généraux et les outils méthodologiques nécessaires à l'étude et à l'analyse du développement végétal.
- Établir des liens entre les connaissances théoriques et leur application dans des contextes pratiques et de recherche.

Le polycopié est structuré en six grandes parties :

1. **Concepts généraux en développement végétal** : Introduction aux notions fondamentales du développement et à ses spécificités chez les végétaux.
2. **Acquisition des plans d'organisation** : Étude des étapes clés de la croissance des Angiospermes, en particulier les méristèmes apicaux caulinaires (MAC) et racinaires (MAR), leur fonction et leur régulation.
3. **Développement reproducteur des plantes à fleurs** : Exploration des processus de gaméto-genèse, fécondation et embryogenèse.
4. **Contrôle hormonal du développement** : Analyse des phytohormones et de leur rôle dans la régulation physiologique des plantes.
5. **Régulation génétique du développement** : Approfondissement des mécanismes génétiques contrôlant le fonctionnement des méristèmes et la mise en place des structures florales.
6. **Mort et sénescence cellulaires** : Approche des processus de mort programmée et de sénescence des organes.

Ce cours sera très utile aux étudiants en 1^{ère} année Master – Biotechnologies végétales – pour améliorer leurs connaissances et développer leur intérêt pour la recherche dans le domaine de la biologie du développement.

FICHE DE MATIERE**Master Académique**

Intitulé du Master	BIOTECHNOLOGIES VEGETALES	
Semestre :	01	
Intitulé de la matière:	Biologie du Développement végétal	Code : BDV
Nombre d'heures d'enseignement :	Cours : 22h 30min TP/TD: 17h 30min	
Nombre d'heures de travail personnel:	05h	
Nombre de crédits :	04	
Coefficient de la Matière :	03	
Objectifs de l'enseignement:	Comprendre les bases moléculaires, métaboliques et physiologiques des principaux processus du développement des végétaux (dormance, germination, développement racinaire, fonctionnement du bourgeon, floraison).	
Connaissances préalables recommandées	Physiologie moléculaire et cellulaire des plantes.	
Contenu de la matière :	<p>Cours :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concepts généraux en développement végétal. • Les grandes étapes de l'acquisition des plans d'organisation (la croissance des Angiospermes : MAC et MAR - fonction et régulation). • Aspects fondamentaux du développement reproducteur chez les plantes à fleurs : gamétogenèse, fécondation, embryogenèse. • Contrôle physiologique (hormonal) du développement végétal. • Régulation génétique du fonctionnement méristématique et du développement végétal (cas de la fleur). • Mort et sénescence cellulaires (mort programmée, sénescence des feuilles). <p>TP/TD :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Etudier l'impact des hormones sur la germination et la croissance des angiospermes. • Modèles d'étude et techniques utilisées en génétique du développement végétal. • Recherche bibliographique sur les différents types de culture. 	
Modalités d'évaluation :	Pondération du Contrôle Continu et de l'Examen Final	
Examen Final	(60%)	
Contrôle Continu	(40%)	
	Assiduité (présence, participation)	05/20 (25%)
	Devoirs et/ou comptes rendus	05/20 (25%)
	Interrogations	10/20 (50%)
Total	20/20 (100%)	
Référence :	(Livres et photocopiés, sites internet, etc.).	

Responsable de la matière
Dr. FERCHA Azzedine

Chef de département

CHAPITRE 1

Concepts généraux en développement végétal

Les objectifs de ce chapitre :

1. Faire la distinction entre Développement, croissance, différenciation, ...
2. Comprendre les spécificités du développement végétal par rapport au développement animal.
3. Identifier les processus fondamentaux du développement et leur régulation génétique.
4. Explorer les concepts de plasticité et de totipotence cellulaires chez les plantes.

1. Introduction

Les végétaux et les animaux ont une organisation pluricellulaire différente, bien qu'ils utilisent le même ensemble initial d'outils – l'ensemble de leurs gènes.

La plupart des contrastes dans leurs stratégies de développement découlent de deux particularités essentielles des végétaux. D'abord, les végétaux captent leur énergie de la lumière du soleil, et non en ingérant d'autres organismes comme le font les animaux. Cela impose des plans de corps différents. En second lieu, les cellules végétales sont enfermées dans des cavités cellulaires (parois) semi-rigides et sont cimentées ensembles, ce qui les empêche de se mouvoir comme le font les cellules animales. Cela impose un autre ensemble de mécanismes pour former le corps des végétaux et pour faire face à un environnement changeant (Alberts *et al.*, 2002).

2. Définitions

D'abord que veut dire : "Développement"?

- Selon le dictionnaire *Larousse* le développement est un mot masculin qui veut dire, entre autres, « *l'ensemble des différents stades par lesquels passe un organisme ou un être vivant pour atteindre sa maturité, croissance* ».
- Selon l'encyclopédie libre "Wikipédia" Le développement, au sens végétal, désigne *l'ensemble des changements qualitatifs dans la forme de la plante. Il consiste en la mise en place des différents organes d'un végétal, appelée aussi organogenèse*. Après la division par mitose des cellules des méristèmes, elles s'allongent lors de la période d'élongation, et enfin se différencient, acquérant les organites nécessaires à leur fonction (chloroplastes pour les cellules effectuant la photosynthèse, durcissement de la paroi squelettique pour les vaisseaux conduisant la sève brute, etc.). Les stades **phénologiques** sont les repères qui jalonnent le développement de la plante.¹

1- http://fr.wikipedia.org/wiki/D%C3%A9veloppement_v%C3%A9g%C3%A9tal

- Le développement d'une plante c'est donc l'acquisition de sa **taille**, sa **forme** et son **architecture finale** résultant d'une série d'événements élémentaires qui schématiquement correspondent : à la **croissance** de l'individu : *une augmentation irréversible de sa taille ou de sa masse*. Et, à sa **différenciation** : *une augmentation de complexité et une diversification des types cellulaires* (Jones *et al.*, 2012 ; Kochhar & Gujral, 2020).

Conclusion :

Le concept de développement englobe toutes les modifications, tant sur le plan quantitatif (croissance) que qualitatif (différenciation), qui surviennent tout au long de la vie de la plante.

3. Les Aspects du développement chez les plantes

Le développement, dans le monde végétal, consiste en un processus complexe lors duquel se forme un organisme multicellulaire (ou pluricellulaire), avec des tissus et des organes hautement organisés, à partir d'une cellule simple et unique, il s'agit dans la plupart des cas du « Zygote ou Œuf fécondé ».

- + Du coup, le développement des plantes se fait en deux grandes étapes, (1) la phase Embryonnaire et (2) la phase Post-Embryonnaire.
 - (1) La **phase Embryonnaire** consiste en la transformation d'une cellule unique et simple (Zygote ou Œuf fécondé) en une plante miniature (Embryon).
 - (2) La phase **Post-Embryonnaire**, quant à elle, implique la prolifération des méristèmes contenus dans l'Embryon pour former les systèmes caulinaire et racinaire de la plante à l'âge adulte.
- + Contrairement aux animaux qui acquièrent leur forme pendant le développement de l'embryon, le développement des végétaux est **progressif**, car à partir d'une simple structure - embryon - avec une organisation rudimentaire et un nombre très limité de types cellulaires, se forme graduellement un organisme complexe avec de nombreux types cellulaires organisés selon des *motifs de formation*² spécifiques.
- + Le développement des plantes implique ou nécessite cinq (05) processus majeurs, à savoir :
 - (1) *la division cellulaire* ; (2) *l'allongement cellulaire* ; (3) *la différenciation cellulaire* ; (4) *la formation des motifs* et enfin (5) *la morphogénèse* (Twyman, 2003).
 - L'allongement et la division cellulaire se déroulent simultanément et sont nécessaires pour augmenter la biomasse et le nombre des quelques types cellulaires préexistants.

² -Pattern formation (en Anglais). Voir un dictionnaire scientifique, ou visitez le site web <http://fr.wikipedia.org>

- La différenciation, quant à elle, consiste en la formation de cellules avec des structures et des fonctions particulières (spécialisées). Le développement s'accompagne souvent par l'augmentation de la diversité des types cellulaires.
- La formation des motifs implique l'organisation (agencement) spatiale des cellules dans des plans particuliers (ex, formation de cercles concentriques comme dans les tiges et les racines).
- Enfin, la morphogénèse correspond à la formation des formes et les structures finales. Cela dépend, entre autres, des plans de division cellulaire.

Bien que tous ces processus soient influencés par l'environnement (épigénétique³), ils restent tout de même sous un contrôle génétique. ➡ Donc il est possible de modifier le développement d'une plante !!!

- ✚ L'essentiel des "gènes de développement" codent pour (1) des facteurs de transcription, (2) des molécules signales/récepteurs ou bien (3) des régulateurs du cycle cellulaire⁴.
- ✚ Contrairement aux animaux, qui ont un programme de développement rigide, les plantes, compte tenu de leur mode de vie sessile, possèdent un programme plus flexible, on parle aussi de **plasticité**⁵ développementale, pour prendre en compte les variations de l'environnement (voir l'**Encadré 1.1**).
- ✚ Le développement des plantes est "ouvert" ou **indéfinie**, grâce à la présence des "Méristèmes" et le fait que les cellules végétales sont "totipotentes ou pluripotentes" (voir plus loin).

L'un des exemples classiques qui démontre la plasticité du développement végétal est la capacité de cellules complètement spécialisées de se régénérer en des plantes entières quand elles sont isolées et placées dans un milieu de culture approprié (clonage), cela impose la **totipotence** (voir l'**Encadré 1.2**) ou **omnipotence** des cellules végétales (c-t-d., la capacité de reproduire l'essentiel de leur voie de développement et produire de nouveaux types cellulaires jusqu'à devenir une plante entière).

³ L'épigénétique est l'étude des changements d'activité des gènes - donc des changements de caractères - qui sont transmis au fil des divisions cellulaires ou des générations sans faire appel à des mutations de l'ADN.

⁴ La prolifération des cellules est régulée par un réseau de produits et de facteurs géniques qui influent sur les mécanismes du cycle cellulaire en empruntant diverses voies. Ces mécanismes ont pour moteur un complexe d'enzymes, constitué d'une kinase dépendante des cyclines (CDK) et d'une sous-unité de régulation, la cycline, qui assure la régulation de la division cellulaire. La progression des étapes du cycle cellulaire est assurée par l'association séquentielle des CDK avec diverses cyclines.

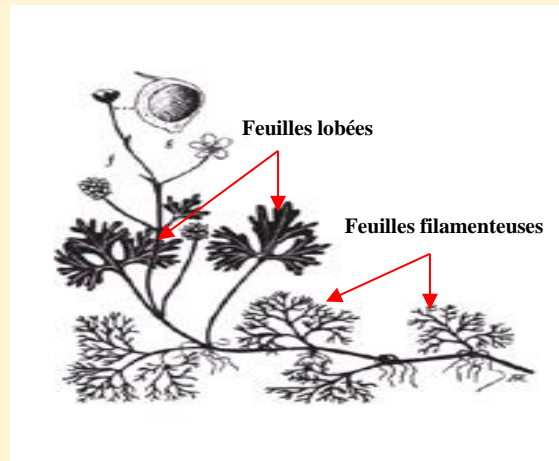
⁵ La plasticité de croissance des végétaux : s'exprime par leur capacité à prospecter un milieu hétérogène et d'étendre leurs unités modulaires (branches, racines) vers les zones riches en ressources (lumière, eau ou nutriments).

* L'hétérophyllie est la caractéristique de certaines plantes, dites hétérophyllées, qui produisent des feuilles d'au moins deux types différents.

Encadré 1.1**Plasticité développementale**

Du fait de leur nature immobile (parois semi-rigides), les plantes doivent faire face aux variations importantes de leur environnement. Pour survivre dans un milieu souvent hostile, les plantes ont adopté un mode de développement **flexible**. Cette **plasticité** du développement, spécifique du règne végétal, est permise principalement par une **organogenèse continue**. La plupart des plantes forment des embryons très rudimentaires, souvent constitués de quelques feuilles embryonnaires, une tige rudimentaire et une simple racine. Pourtant, à partir de ces embryons peuvent se développer des arbres de dizaines de mètres de haut, avec des architectures très complexes. Cette situation est donc très différente de celle des animaux supérieurs chez lesquels la majeure partie des organes est mise en place au cours de la vie embryonnaire.

Exemple : L'hétérophyllie* des plantes aquatiques et semi-aquatique telle que la renoncule à flagelles, qui possède deux types de feuilles selon si les feuilles sont exposées à l'air ou submergées dans l'eau.

*Ranunculus flabellaris***Encadré 1.2****Qu'est-ce que la totipotence cellulaire ?**

Une cellule est dite '**totipotente**' si elle est capable de se différencier en n'importe quelle cellule spécialisée et de se structurer en formant un organisme pluricellulaire. En effet, les cellules végétales, prélevées sur un organe quelconque d'une plante, possèdent la capacité de régénérer un individu complet identique à la plante mère (un clone).

La totipotence des cellules végétales repose sur l'aptitude à la **dédifférenciation** ; les cellules peuvent redevenir des cellules simples, non spécialisées et se différencier ensuite pour donner à nouveau les différents types de cellules spécialisées.

Grâce à la totipotence, l'arbre et d'autres plantes, mis en milieu stérile, sont techniquement **immortels**.



Cal produit à partir d'un embryon de blé

Ci-haut, un cal, démontrant bien l'existence d'une totipotence végétale !

Remarques supplémentaires :

- ✚ **Facteurs de Transcriptions** : Les facteurs de transcription (FTs) sont des protéines qui se lient à des séquences d'ADN spécifiques afin de réguler l'expression d'un gène donné.
- *Les FTs régulent la transcription seul ou en formant un complexe avec d'autres protéines : ils activent ou inhibent le recrutement de l'ARN polymérase sur des gènes spécifiques.*
 - *Les FTs sont présent chez tous les organismes vivants. Leur nombre est corrélé à la taille du génome d'un organisme. Le génome de l'homme code environ 2600 protéines qui possèdent un domaine de fixation à l'ADN (environ 10% des gènes). Les FTs constituent la famille de protéines la plus vaste. Par leurs rôles clefs dans la régulation de l'expression des gènes, orchestrent le développement des organismes.*
 - *Du point de vue structural, les FTs possèdent un ou plusieurs domaine(s) de fixation à l'ADN qui se lient à une séquence régulatrice de l'ADN non codant [amplificateur ("enhancer") ou promoteur ("promoter")] adjacente aux gènes que les FT régulent⁶.*
- ✚ **Lignage et position** : Outre la croissance et la prolifération des cellules, le développement s'accompagne de leur différenciation, qui permet la formation de structures spécialisées. Parmi les déterminants de l'évolution d'une cellule, on peut distinguer des facteurs **intrinsèques**, hérités de la cellule-mère ou liés à son âge, et des facteurs **extrinsèques**, liés à l'influence de l'environnement ou du reste de l'organisme. Dans le cas des cellules végétales, la différenciation est dépendante à la fois de leur **lignage** et de leur **position**.
- ✚ **Totipotence** : La découverte de la totipotence des cellules végétales a été faite par **Gottlieb Haberlandt** en **1902**. Grâce à la totipotence un tissu végétal est capable de régénérer une plante.

6- <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/Zsuite/9FacteursTranscription/1FacteursTranscription.htm>

Résumé :

Ce chapitre introduit les concepts généraux du développement végétal, soulignant les différences fondamentales entre les plantes et les animaux dues à leur mode de vie sessile et à la rigidité de leurs parois cellulaires. Le développement des plantes s'articule en deux phases : embryonnaire, où le zygote devient un embryon rudimentaire, et post-embryonnaire, caractérisée par l'activité des méristèmes qui permettent une croissance ouverte et progressive. Les processus clés incluent la division cellulaire, l'élongation, la différenciation, la formation des motifs et la morphogenèse, tous sous contrôle génétique et influencés par l'environnement. La plasticité et la totipotence des cellules végétales, qui leur permettent de régénérer des organismes entiers, sont des caractéristiques essentielles. Enfin, les gènes de développement jouent un rôle central, notamment en codant des facteurs de transcription et des molécules régulatrices. Telles que les cyclines et les phytohormones.

Questions de révision :

- Quels sont les principaux processus impliqués dans le développement végétal ?
- Comment la plasticité et la totipotence influencent-elles la capacité des plantes à s'adapter et à se régénérer ?
- Quels sont les rôles des méristèmes dans le développement post-embryonnaire des plantes ?
- Quels types de gènes sont impliqués dans la régulation du développement végétal ?

CHAPITRE 2

Croissance des Angiospermes : MAC & MAR, fonction et régulation

Les objectifs de ce chapitre :

- Identifier les structures et fonctions des méristèmes apicaux caulinaires et racinaires
- Expliquer la régulation du cycle et l'expansion cellulaire dans les méristèmes.
- Analyser les interactions hormonales et génétiques impliquées dans le fonctionnement et l'auto-maintenance des méristèmes
- Etc.

1. Introduction

Chez les plantes supérieures, la formation des organes se produit tout au long de leur vie via le maintien de réservoirs de cellules souches au niveau des apex des tiges et des racines appelés '*méristèmes*'. Le fonctionnement des méristèmes est sous un double contrôle : génétique et environnemental (Clark, 1996).

Dans les méristèmes, les cellules indifférenciées sont produites par la prolifération cellulaire, et lorsque ces cellules cessent de se diviser, elles quittent la région méristématique et commencent à se différencier en des tissus spécifiques formant des organes (Magyar, 2008).

La division et la différenciation cellulaires sont des événements bien coordonnés au cours de la vie végétale, mais les mécanismes moléculaires qui maintiennent l'équilibre entre ces processus ne sont pas encore bien compris (@1).

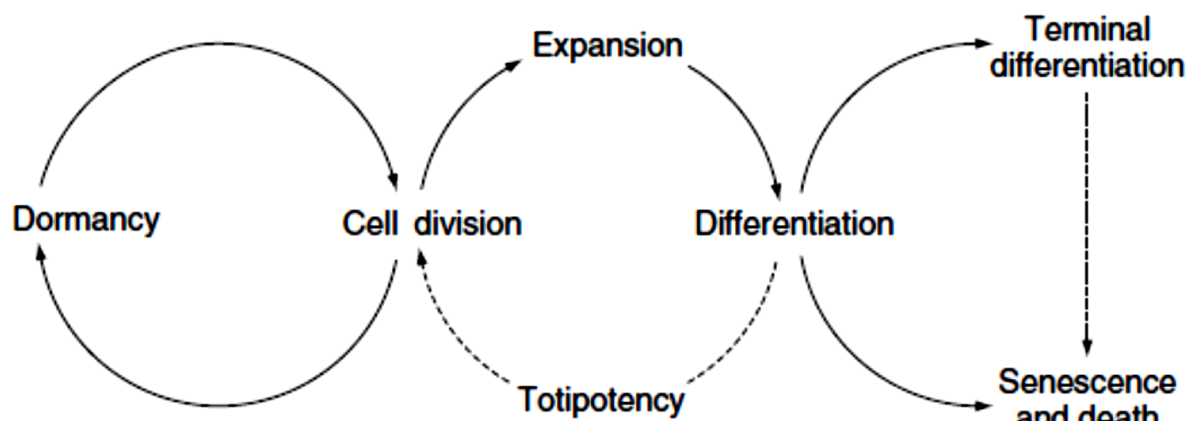


Schéma 2.1 : Cycle de développement des cellules végétales

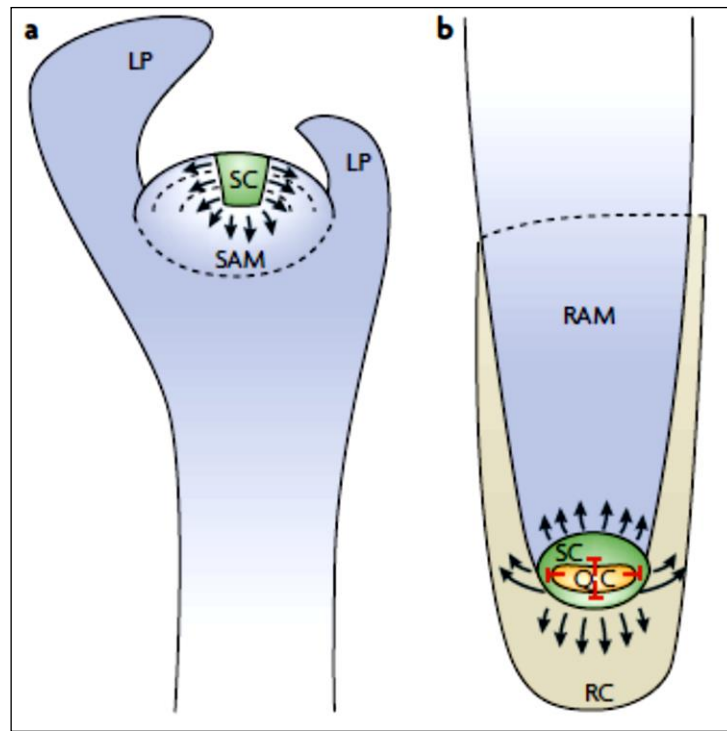


Fig. 2.1 : Méristèmes apicaux et cellules souches (Jones *et al.*, 2012).

Contrairement aux animaux, les plantes continuent de s'accroître après la phase embryogénèse, en formant de nouveaux tissus et organes tout au long de leur vie. Les méristèmes apicaux, situés aux extrémités des tiges (méristème apical caulinaire, ou MAC ; Fig. 2-1a) et des racines (méristème apical racinaire, ou MAR ; Fig. 2-1b), sont les tissus responsables de ce mode de croissance « ouvert ». Ces deux types de méristèmes sont composés de cellules indifférenciées qui, en se divisant, génèrent de nouvelles cellules pour les organes en croissance. La présence de petites populations de cellules souches (CS ou SC pour Stem Cells) dans les méristèmes est cruciale pour leur autoperpétuation (persistance). À la suite d'une division asymétrique, chaque cellule souche produit deux cellules filles aux destins distincts. L'une reste inchangée pour maintenir la population de cellules souches, tandis que l'autre reçoit des instructions pour se différencier en un type cellulaire spécifique. Cependant, cette différenciation finale est différée et ne se produit qu'après plusieurs cycles de divisions symétriques, ce qui entraîne la formation de plusieurs couches cellulaires (flèches). Au sommet de la pousse, le primordium foliaire (Leaf Primordia = LP), constitué également de cellules en division, se forme près du MAC. Dans la racine, aucun nouvel organe ne se forme à proximité du MAR ; la structure entière est protégée par un capuchon racinaire (Root cap = RC). À la limite entre l'apex et le capuchon de la racine, un petit groupe de cellules se divise peu ou pas du tout, formant le centre quiescent (CQ). Ces cellules émettent des signaux qui maintiennent les cellules qui les entourent immédiatement dans un état prolifératif et non différenciateur.

2. Contrôle du cycle cellulaire

La croissance des plantes et leur développement sont des processus entraînés par la production continue de nouvelles cellules. Les processus impliqués dans la production de deux cellules filles par une cellule définissent le cycle de division cellulaire. Le développement des plantes nécessite un contrôle précis de la division cellulaire (taux, sortie et réactivation du cycle cellulaire, endoréplication) et de la différenciation (David, 2017).

Dans la présente partie, nous allons voir comment les cellules végétales contrôlent-elles leur cycle cellulaire.

Bien que de nombreux articles de synthèse portant sur l'implication de la division cellulaire dans le développement végétal soient publiés, il n'en demeure pas moins que beaucoup reste à faire afin de comprendre, entre autres :

- ✚ *Quand et comment les cellules végétales entrent dans le cycle cellulaire ou sortent de celui-ci ?*
- ✚ *Comment les cellules quiescentes réactivent leur cycle cellulaire ?*
- ✚ *Comment les divisions cellulaires asymétriques sont impliquées dans la génération de nouveaux tissus et organes, tels que les racines latérales ?*
- ✚ *Comment les cellules végétales sortent du cycle cellulaire en réponse à des signaux de développement qui entraînent la différenciation cellulaire ?*
- ✚ *Comment le cycle cellulaire est bloqué en réponse à des conditions environnementales défavorables ?*
- ✚ *Si la quasi-totalité des cellules végétales aient la capacité de se diviser, qu'est-ce qu'il empêche la plupart d'entre elles de le faire ?*

La régulation du cycle cellulaire se trouve donc au cœur de la réponse.

Les hormones végétales telles que les auxines, les cytokinines et les gibbérellines (Chapitre IV) sont des stimulateurs potentiels de la division cellulaire dans beaucoup de tissus, sans pour autant ignorer les conditions nutritionnelles telles que la disponibilité du saccharose qui jouent aussi un rôle effectif.

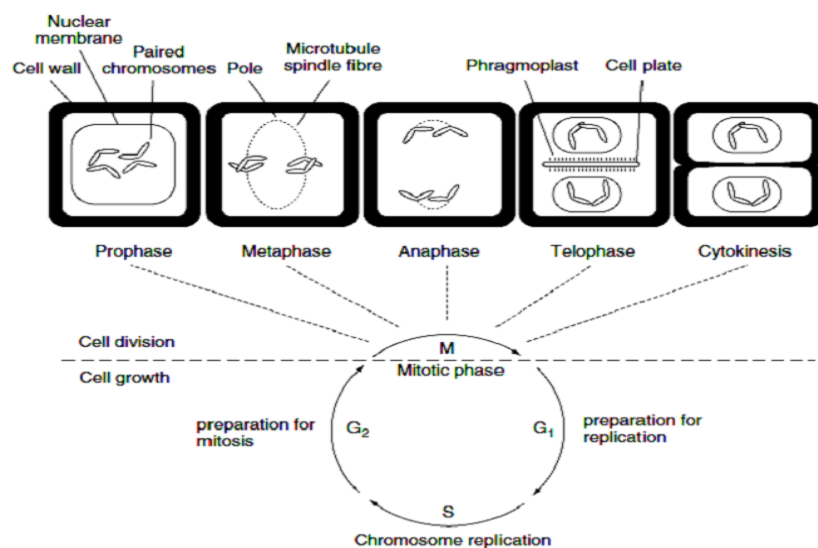


Schéma 2.2 : Cycle Cellulaire (aperçu général)

☞ Cycle cellulaire est contrôlé à deux endroits !

- **Contrôle de la transition de G1 en S :**

La transition de la phase G1 à la phase S est contrôlée par de nombreux gènes dont l'expression nécessite l'activation d'un facteur de transcription à savoir la protéine '**E2F-DP**¹'. L'activation du facteur E2F-DP dépend d'une seconde protéine qui se fixe plus ou moins fortement à celui-ci, il s'agit de la protéine '*rétinoblastome*' (**Rb**). La fixation de Rb sur E2F-DP dépend de son degré de phosphorylation qui à son tour dépend des protéines **CDKA1** et **CycD**. (Fig.2). Ensemble, ces deux protéines forment la kinase qui hyper-phosphoryle la Rb, ce qui l'amène à se dissocier du facteur E2F-DP. Notant, que l'expression des protéines CDKA1 et CycD est stimulée par les hormones (Auxine, Cytokinines, GA), le saccharose, tandis qu'elle est inhibée par l'ABA. L'ABA peut aussi inhiber la division cellulaire via l'induction de l'expression d'un inhibiteur de la kinase (ICK)². L'effet de chaque hormone dépend du type de tissu considéré, par exemple, dans les racines tandis que l'auxine stimule l'expression des protéines CDKA1 et CycD, les cytokinines l'inhibent.

- **Contrôle de la transition de G2 en M :**

Cette étape exige l'activation des **kinases** et des **phosphatases** lesquelles sont régulées par les hormones de croissance (Auxines, Cytokinines et Gibbérellines). Jusqu'à présent les plantes n'ont pas encore révélé tous leurs secrets sur les voies de signalisation qu'elles utilisent pour contrôler cette transition. Comme pour *l'induction* de l'activité enzymatique (soit par l'augmentation de la transcription ou par des modifications post-transcriptionnelles), la *dégradation* des protéines (*ubiquitination*) joue un rôle important dans le contrôle du cycle cellulaire. À la lumière de nombreux travaux récents, beaucoup d'hormones végétales (Auxines, Cytokinines, Brassinostéroïdes, Gibbérellines, etc.) semblent être impliquées dans le contrôle de ce processus.

1- DP=DIMERIZATION PARTNER

2- ICK pour Inhibitor of cycline-dependent kinase. Dans une étude récente Xiao et al., (2017), ont identifié 8 gènes qui codent pour les protéines ICK.

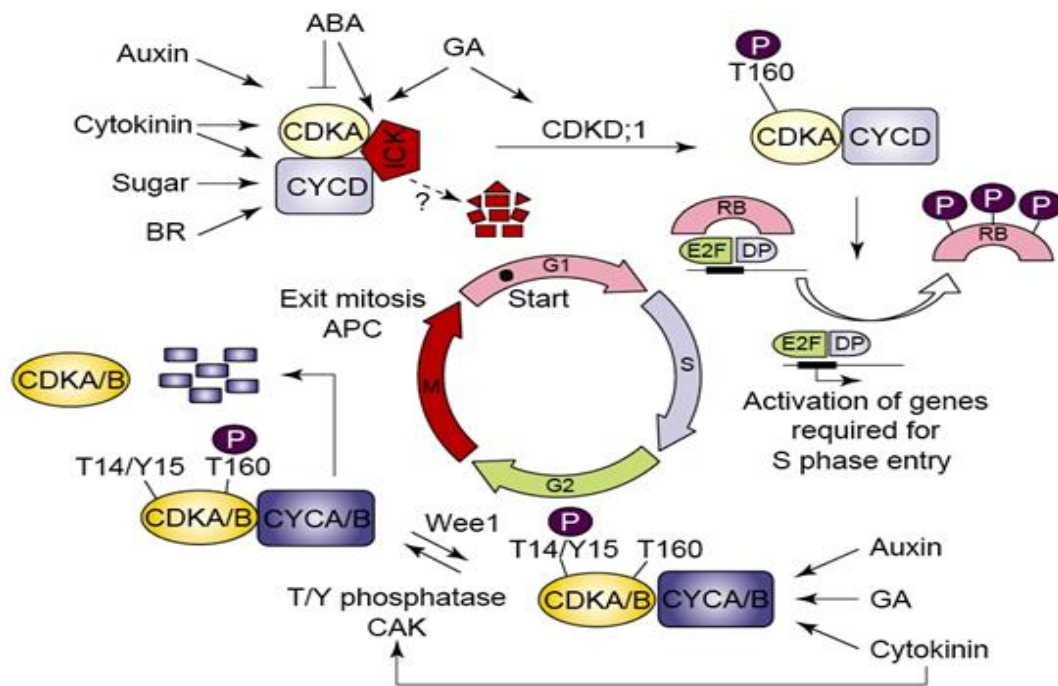


Fig. 2.2 : Régulation du Cycle Cellulaire.

Il y a deux points de contrôle dans le cycle cellulaire des plantes, à savoir les passages de G1 en S et de G2 en M. La transition de la phase G1 à S implique les protéines 'E2F-DP' qui à l'état libre sont actives, mais lorsqu'elles sont liées aux Rb (protéine du rétinoblastome) elles deviennent inactives. L'association d'E2F-DP à Rb est contrôlée par l'état de phosphorylation de Rb, qui, à son tour, est contrôlée par l'activité des kinases et phosphatases. En présence de l'auxine, cytokinines, acide gibbérellique, brassinostéroïdes et le saccharose, l'activité kinase est stimulée. L'hyperphosphorylation de Rb l'amène à se dissocier d'E2F-DP. La kinase peut être inhibée par l'ABA. La transition de G2 en M est aussi régie par l'état de phosphorylation de certains acides aminés dans les protéines formant un complexe de régulation qui, à son tour, est régulé par les cytokinines, etc. APC = anaphase-promoting complex; T= Thr; Y = Tyr; CAK= CDK-activating kinase; BR=brassinosteroids.

3. Contrôle de l'expansion cellulaire :

► Généralités :

- Une fois les cellules cessent de se diviser, elles quittent les régions méristématiques et subissent une expansion spectaculaire³. Le sens de cette expansion détermine la forme des organes et la direction de la croissance (apicale, sphérique, latérale, etc.). Cependant, bien que dans certains cas la division cellulaire augmente énormément le nombre de cellules, c'est l'expansion cellulaire qui augmente réellement la taille (masse) des organes (Exemple le poids d'un tubercule de pomme de terre).
- L'expansion cellulaire résulte du prélèvement de l'eau, notamment le gonflement de la vacuole, qui représente seule 98% du volume cellulaire (Pression de turgescence).
- L'expansion cellulaire est accompagnée d'une synthèse continue des constituants des parois cellulaires.

3- A titre d'exemple : pour qu'une cellule issue d'un MAR se transforme en une cellule parenchymateuse elle doit augmenter sa taille de 30- à 100-fois. Chez la pomme de terre, une augmentation dans le poids de 40 à 200g s'accompagne par une augmentation du nombre cellulaire de 300 fois, mais seulement 30-fois de sa taille.

- L'un des facteurs qui gouvernent la direction de l'expansion des parois cellulaires figure l'orientation (position) des microfibrilles de cellulose, car l'orientation aléatoire des microfibrilles de cellulose donnent lieu à la formation de cellules sphériques (Par exemple suite à la digestion enzymatique des microfibrilles de cellulose).

► **L'auxine et le contrôle de l'expansion cellulaire :**

- Même si on commence tout juste à considérer l'implication des cytokinines et des gibbérellines dans le contrôle de l'expansion cellulaire, l'intervention de l'auxine (AIA) est connue depuis la fin du 19^{ème} siècle (depuis que Charles Darwin et son fils en 1881 ont publié leurs travaux sur l'effet de la lumière sur la croissance des coléoptiles d'avoine = phototropisme).⁴
- L'auxine semble avoir un effet stimulateur sur l'expansion (augmentation de la plasticité⁵) des cellules végétales (l'étirement de la paroi cellulaire = **cell wall stretching**).
- L'AIA change les propriétés physicochimiques des parois cellulaires ce qui permet l'allongement des cellules (augmentation de la surface cellulaire sans modification de la pression de turgescence).
- La synthèse des éléments nécessaires pour la fabrication de la paroi débute juste après le desserrement (relâchement) de la paroi cellulaire (**cell wall loosening**).
- Durant l'expansion cellulaire, l'une des modifications qui accompagne cet événement figure **l'Acidification des parois**.

► **La théorie de la croissance acide (Acid Growth Theory) :**

- L'auxine (probablement les autres hormones aussi) induit la diminution du pH apoplastique (Acide) ou l'acidification de la paroi en stimulant l'activité d'une H⁺-ATPase, une enzyme localisée au niveau de la membrane plasmique, qui pompe les protons H⁺ depuis le cytoplasme vers l'apoplaste. Cependant, il est maintenant clair, que cette modification de pH est liée directement à des protéines structurales qui entrent dans la composition de la paroi appelées **Extensines** ou **HRGP** (=Hydroxyproline Rich GlycoProtein). Cet effet s'explique par le fait que la structure de la paroi est maintenue stable généralement grâce à la présence d'un grand nombre de ponts hydrogène (H-H), dès lors en brisons les ponts hydrogènes les cellules puissent écarter les microfibrilles de cellulose pour en installer d'autres.

⁴Darwin, C., & Darwin, F. E. (1888). The Power of movement in plants.-1880. <https://jscholarship.library.jhu.edu/bitstream/1774.2/34917/633/31151029527417.pdf>

⁵Étirement réversible = élasticité ; étirement irréversible = plasticité (Heyn, 1931, The Physiology of Cell Elongation).

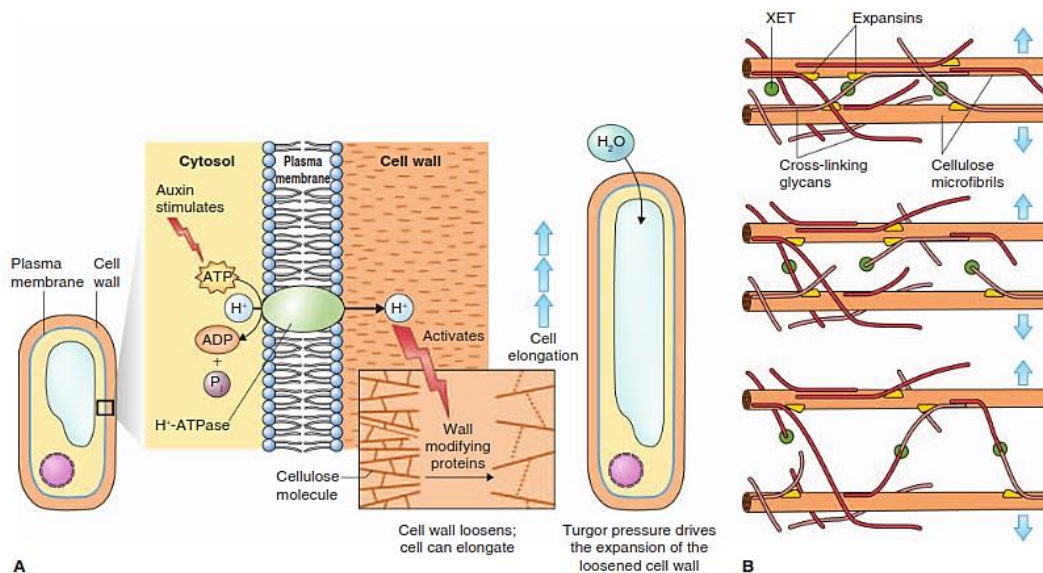


Fig. 2.3 : Théorie de la croissance acide ou Séparation des microfibrilles de la paroi cellulaire et expansion cellulaire par osmose (Jones *et al.*, 2012)

(A) La croissance acide est médiée par une pompe à protons stimulée par l'auxine dans la membrane plasmique, ce qui diminue le pH de la solution de paroi cellulaire, favorisant l'activité des protéines de relâchement de la paroi. (B) Le relâchement des glycanes réticulés, conséquence de la rupture des interactions cellulose-glycane stérique par les expansines, ou par l'action d'une transglycosylase (XET), ou les deux.

4. Le maintien des méristèmes

4.1. Le MAC : structure et fonction

Le **Méristème Apical Caulinaire (MAC)** est responsable de l'élaboration de toute la partie aérienne de la plante, qui comprend les tiges, les feuilles et les fleurs.

Le MAC se compose d'un petit dôme de cellules indifférenciées se caractérisant par un cytoplasme dense, et capables de se diviser.

Les analyses cyto-histologiques des MAC de nombreuses plantes ont montré l'existence de deux structures :

► Structure en zones :

Le MAC est constitué de trois zones (**Fig. 2.4A**). Au centre et au sommet se trouve la **zone centrale (CZ)**, elle contient les cellules souches⁶ se caractérisant par une faible activité mitotique⁷. La Zone périphérique (PZ), dont les cellules proviennent de CZ, mais se comportent très différemment. Elles se divisent très rapidement et donnent lieu à la formation des ébauches "primordia" qui se développent pour former des feuilles. La zone sous-jacente de la zone centrale constitue le méristème médullaire (RM = Rib Meristem) dont les cellules se divisent pour former la moelle de la tige.

⁶ Elles ont la capacité à proliférer ou à se renouveler, pour donner naissance à une variété de types de cellules différenciées, et de régénérer un nouveau méristème s'il est endommagé (Sussex, 1952).

⁷ Si les plantes sont nourries à la thymidine radioactivement marquée, l'incorporation des radiomarqueurs dans l'ADN nouvellement synthétisé peut être utilisée pour déterminer le taux de division cellulaire.

► Structure en couches (Layers)

Typiquement, il y a trois couches chez les dicotylédones⁸, nommées : L1, L2 et L3 (**Fig. 2.4B**). Les cellules des couches L1 et L2 se divisent uniquement de manière *anticline* (les parois des cellules produites sont perpendiculaires à la surface et les cellules sont parallèles à la surface = augmentation de la surface). Ensemble, ces cellules sont appelées “**Tunique ou Tunica**”. En revanche, les cellules de la couche L3 (**Corpus**) se divisent d'une manière plus aléatoire.

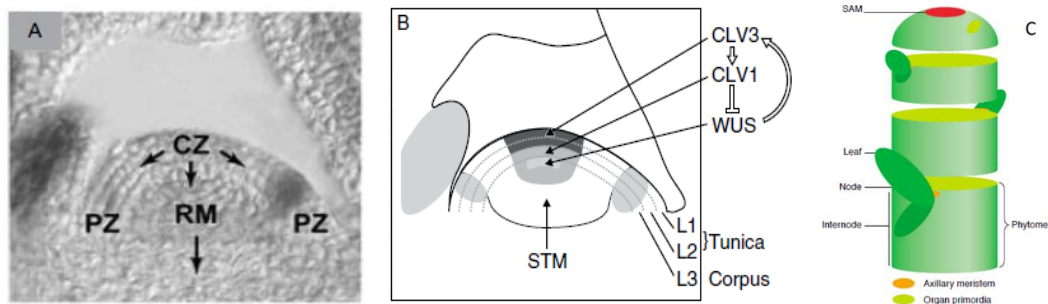


Fig. 2.4 : Structure d'un MAC (Carles & Fletcher, 2003)

4.2. Les Phytomères :

Au cours de son fonctionnement le MAC donne lieu à la formation séquentielle d'unités modulaires appelées, *phytomères*. Chaque phytomère est constitué d'une ou plusieurs feuilles, un nœud et entre-nœud, un ou plusieurs bourgeons axillaires (**Fig. 2.4C**).

► Le maintien du MAC ou l'auto-maintenance du MAC ?

L'étude des mutations induites dans les méristèmes de certaines plantes modèles (*Arabidopsis thaliana*, *Zea mays* et *Petunia hybrida*) (Cf. Annexe 1) a permis d'isoler et d'identifier un nombre assez important de gènes associés au contrôle et au maintien des méristèmes. Cependant, au cœur de cet équilibre (prolifération et auto-maintenance) figure la communication entre les différentes zones du méristème :

- Dans le mutant **clavata1** (*clv1*), le méristème grossit en raison de l'accumulation de cellules indifférenciées.
- Dans le mutant **shootmeristemless1** (*stm1*), les cellules ne sont pas maintenues dans le méristème, du coup le MAC est perdu lors de l'embryogenèse.
- Dans le mutant **wuschel** (*wus*) (allemand - cheveux en bataille) le méristème est perdu après la formation de quelques organes.
- Dans la plante de type sauvage le gène qui a été inactivé chez le mutant *clv1* code pour une protéine (**CLV1**) qui agit pour réduire le nombre de cellules dans le méristème, tandis que les gènes **STM** et **WUS** agissent pour augmenter le nombre des cellules méristématiques.

⁸ les monocotylédones ont seulement 2 assises : L1 et L2.

- Ces gènes interagissent de manière antagoniste et, avec d'autres gènes, maintiennent la taille et la structure du MAC (**Fig. 2.5**).
- L'expression de ces gènes au sein du MAC a été étudiée, tout comme les protéines dont ils codent. CLV1 est principalement exprimé dans la couche **L3** de la **CZ** et code pour un récepteur Leucine-Rich-Repeat (LRR) kinase.
- Un autre gène, CLV3, dont la perte entraîne aussi l'élargissement du méristème, est principalement exprimé dans les couches L1 et L2 de la CZ. La protéine codée par CLV3 est de petite taille, et probablement sécrétée par la cellule. Il est suggéré que CLV3 peut agir comme un **signal courte portée** détecté par CLV1. L'interaction entre CLV3 et CLV1 réprime l'expression du WUS, réduisant ainsi la taille du méristème. Toutefois, puisque WUS est nécessaire pour l'expression de CLV3, une boucle de rétroaction est mise en place, ce qui maintient constante la taille du méristème (**Fig. 2.5**).
- Le gène STM (ou KNOX⁹) est exprimé tout au long du méristème et il est probablement important pour maintenir les cellules méristématiques dans un état de prolifération indéterminée, ainsi que de jouer un rôle dans la régulation de l'expression de CLV3.

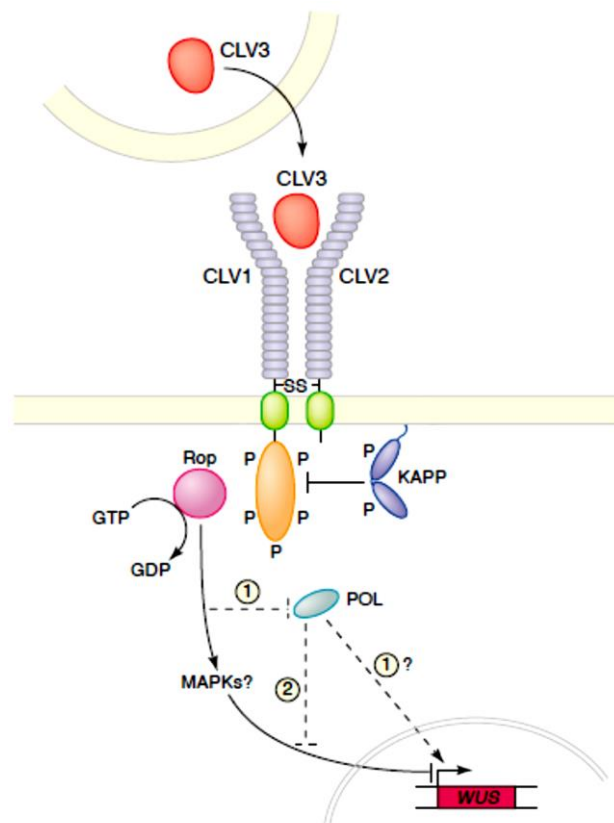


Fig. 2.5 : Coordination des décisions relatives à la prolifération cellulaire et au devenir cellulaire à travers le méristème apical caulin (MAC). D'après (Carles & Fletcher, 2003)

⁹ KNOX = Knotted Like Homebox.

4.3. Le MAR : Structure et Fonction

Un système racinaire typique se compose d'une racine primaire portant un système ramifié de racines latérales. Chaque racine latérale se comporte de la même manière qu'une racine primaire (principale), si bien que la majeure partie des analyses du développement racinaire s'est focalisée sur deux problèmes majeurs, à savoir :

- (1) **Qu'est-ce qu'un méristème racinaire et comment se forme-t-il ?** et,
- (2) **comment produit-il de nouveaux tissus ?**

Dans cette partie, nous nous concentrons sur les progrès récents dans la compréhension de la manière dont les différentes zones du MAR fonctionnent pour produire de nouveaux tissus. Mais avant cela, faisons d'abord un petit rappel sur les racines.

🌱 Fonctions des racines :

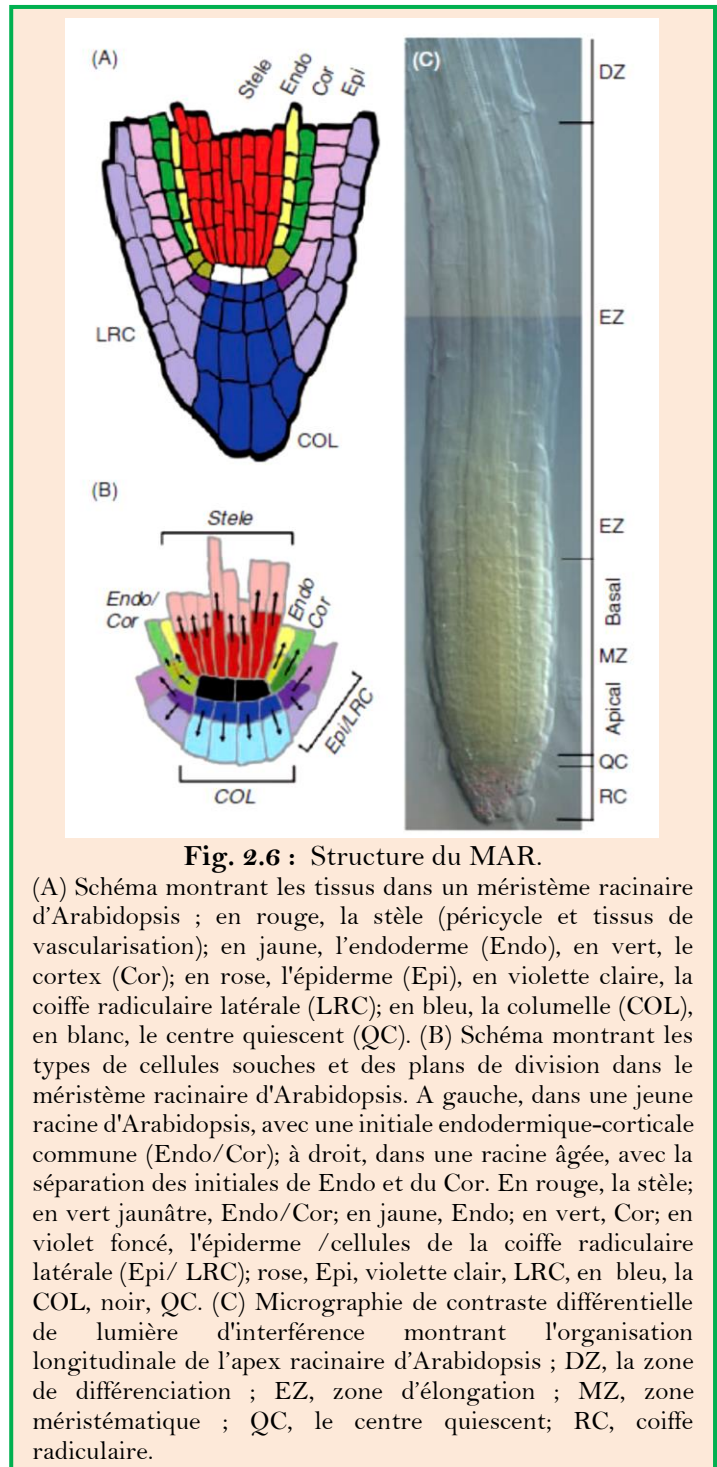
La racine remplit deux types de fonctions essentielles. ❶ Des fonctions principales telles que l'ancrage de la plante dans le sol, et l'absorption de l'eau et les sels minéraux nécessaires à sa

croissance. ❷ Des fonctions secondaires, telles que le stockage des réserves nutritives, la respiration, l'escalade d'un support, etc.

Ces rôles variés témoignent de l'importance de la racine dans l'adaptation et la survie des plantes dans des environnements diversifiés.

🌱 Structure de la racine :

La racine a une structure simple établie lors de l'embryogenèse (**Fig. 2.6**). À l'extrémité distale (apicale) de la racine se trouve la coiffe radicaire (**CR** ou **RC = Root Cap**), composé de



la columelle centrale (**COL**) et la coiffe racinaire latérale (**CRL** ou **LRC = Lateral Root Cap**). Situé juste au-dessus c'est le centre quiescent (**CQ** ou **QC = Quiescent Center**). Le corps principal de la racine se compose de couches de tissus concentriques (Organisation radiale) avec différentes propriétés fonctionnelles ; de l'extérieur vers l'intérieur, ce sont l'épiderme (**Epi**), le cortex (**Cor**), endoderme (**Endo**), péricycle, et enfin la stèle (**Fig. 6A, B**). La stèle contient les cellules cambiales qui concourent à la formation des éléments vasculaires, notamment, les cellules du xylème et du phloème. Chez les jeunes racines d'*Arabidopsis*, chacune des couches externes est faite d'une seule file de cellules, alors que la stèle en contient environ cinq files.

Au-dessus du **CQ**, se situe une zone de cellules qui subissent des divisions mitotiques, souvent appelée la zone de méristème (**ZM** ou **MZ = Meristem Zone**). D'un point de vue fonctionnel, la **ZM** peut être divisée en deux : une zone apicale : composée de cellules en division intense, et une zone basale : dans laquelle les cellules deviennent plus grandes, se divisent moins fréquemment et commencent à acquérir leurs traits distinctifs. La couche des cellules de la **CR**, directement adjacentes au **CQ**, est également mitotiquement active, elles aussi peuvent être considérées comme formant un méristème séparé (conceptuellement et génétiquement, mais pas physiquement). Nous avons donc la distinction entre le méristème de la **CR** (**MCR** ou **MRC = Meristem Root Cap**) et le méristème proximal (**MP** ou **PM = Proximal Meristem**).

Après la mitose, les cellules quittent la **ZM** et commencent une période d'allongement, définissant ainsi la zone d'élongation (**ZE** ou **EZ = Elongation Zone**). Enfin, les cellules cessent de s'allonger et pénètrent dans la zone de différenciation (**ZD** ou **DZ = Differentiation Zone**), qui est généralement reconnue par l'apparition des poils absorbants et les cellules vasculaires avec des parois secondaires visibles (Mylona & Dolan, 2002).

La structure du **MAR** :

Le **Méristème Apical Racinaire (MAR)** est un réservoir de cellules indifférenciées responsables de l'architecture finale des racines. A la pointe du **MAR**, les cellules souches multipotentes entourent un petit groupe de cellules d'organisation, appelé le **centre quiescent (QC)**, qui maintient les cellules souches (initiales) en produisant des signaux à courte-portée et inhibent ainsi leur différenciation cellulaire. Le **QC** et les initiales forment ensemble la **niche des initiales (SCN = Stem Cell Niche)**, tel que déterminé lors de l'embryogenèse (**Fig. 2.7**).

Durant la phase post-embryonnaire, les cellules souches subissent une division cellulaire asymétrique, donnant ainsi lieu à la formation de deux types de cellules, à savoir les cellules **auto-renouvelables** et les **cellules filles**, ces dernières en se divisant plusieurs fois dans la région proximale du méristème (**PM= Proximal Meristem**) génèrent une population de **cellules amplifiant transit** (cellules à amplification transitoire). Une fois les *cellules à amplification transitoire* accèdent à la zone d'élongation/différenciation (**EDZ= Elongation Differentiation**

Zone), elles quittent leur cycle cellulaire et commencent à se différencier pour acquérir les caractéristiques spécifiques de chaque tissu. La frontière entre la zone de division et celle de l'expansion cellulaire est appelée la **zone de transition** (TZ = Transition Zone), où la différenciation cellulaire est initiée (Fig. 2.7). A priori la taille et le maintien du MAR dépend beaucoup du rapport entre le taux de division cellulaire dans le SCN/PM et le taux de différenciation cellulaire dans TZ (Fig. 2.7).

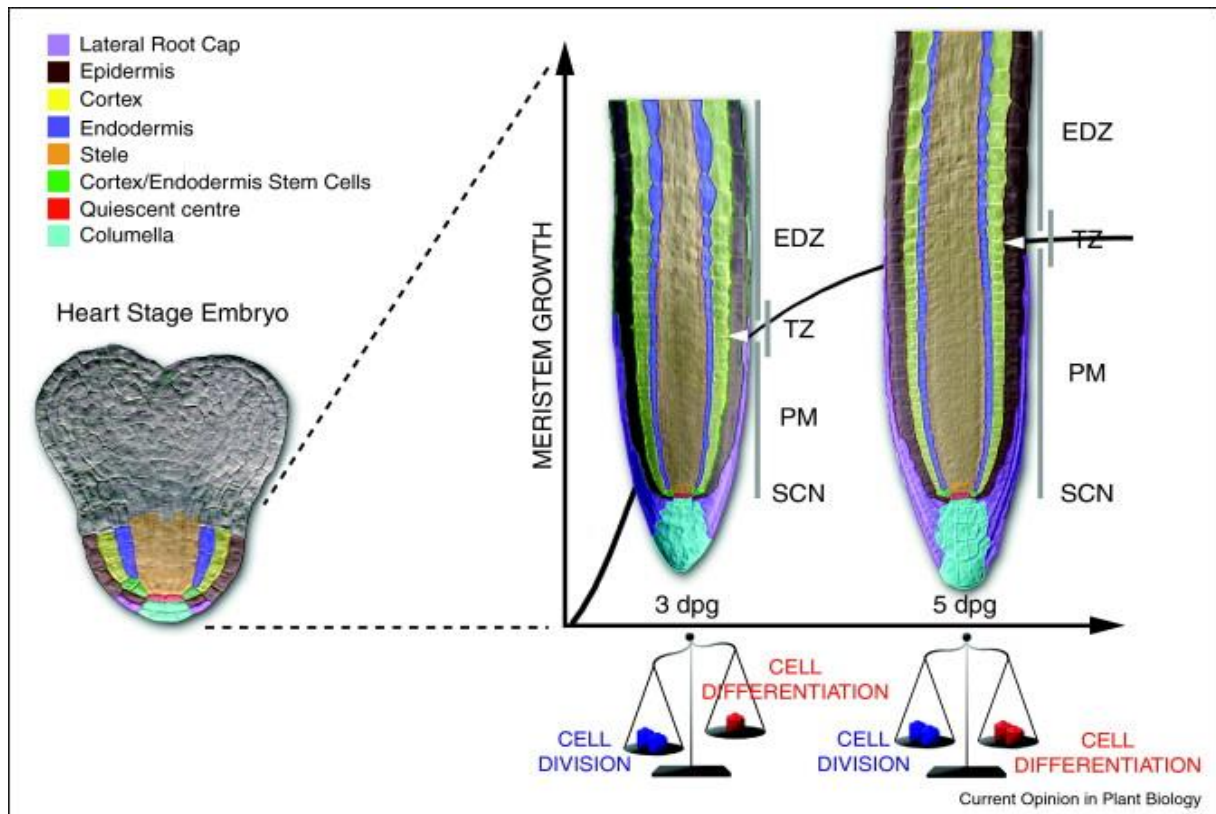


Fig. 2.7 : Développement et croissance du MAR chez l'Arabidopsis. Illustration schématisque montrant l'organisation des tissus dans l'embryon stade cordiforme et de développement du méristème racinaire d'Arabidopsis (Perilli *et al.*, 2012).

L'entretien Post-embryonnaire de la niche des cellules souches (SCN) du MAR

La croissance des racines post-embryonnaire consiste en un élargissement des structures nécessaires pour former la racine primaire. L'activité de la SCN et la formation des racines reposent largement sur la formation d'un **gradient apico-basal de l'auxine**, établi par les facilitateurs **PIN-FORMED**. En plus à l'auxine, l'activité conjuguée des gènes **PLETHORE (PLT)** ainsi que les facteurs de transcription tels que **SCARECROW (SCR¹⁰) - SHORT-ROOT (SHR¹¹)**, est nécessaire pour l'entretien des cellules souches.

SCR est requis dans le QC pour maintenir l'activité des cellules souches, tandis que les gènes **PLT** contrôlent l'expression des **PIN** pour garder un maximum d'auxine et donc l'activité des cellules

¹⁰ Le gène **SCR** contrôle la division périnclive des cellules-filles du cortex-endoderme permettant la séparation de ces deux tissus.

¹¹ Un facteur de transcription putatif exprimé dans la stèle. La protéine **SHR** migre vers l'endoderme où elle déclenche sa différenciation cellulaire.

souches. Un élément supplémentaire nécessaire dans le QC pour maintenir les cellules souches de la columelle est le gène *WUSCHEL-related Homeobox 5 (WOX5)*, qui code pour un facteur de transcription à homéodomaine¹², dont l'expression est maintenue par *SCR* (Fig. 2.8). Dans le QC, *WOX5* agit de manière similaire à son homologue le facteur de transcription *WUSCHEL (WUS)* dans le centre organisateur du MAC. *WUS* contrôle la taille du MAC à travers une boucle de rétroaction négative impliquant le *CLAVATA3 (CLV3)*. Un circuit similaire semble exister dans le méristème racinaire.

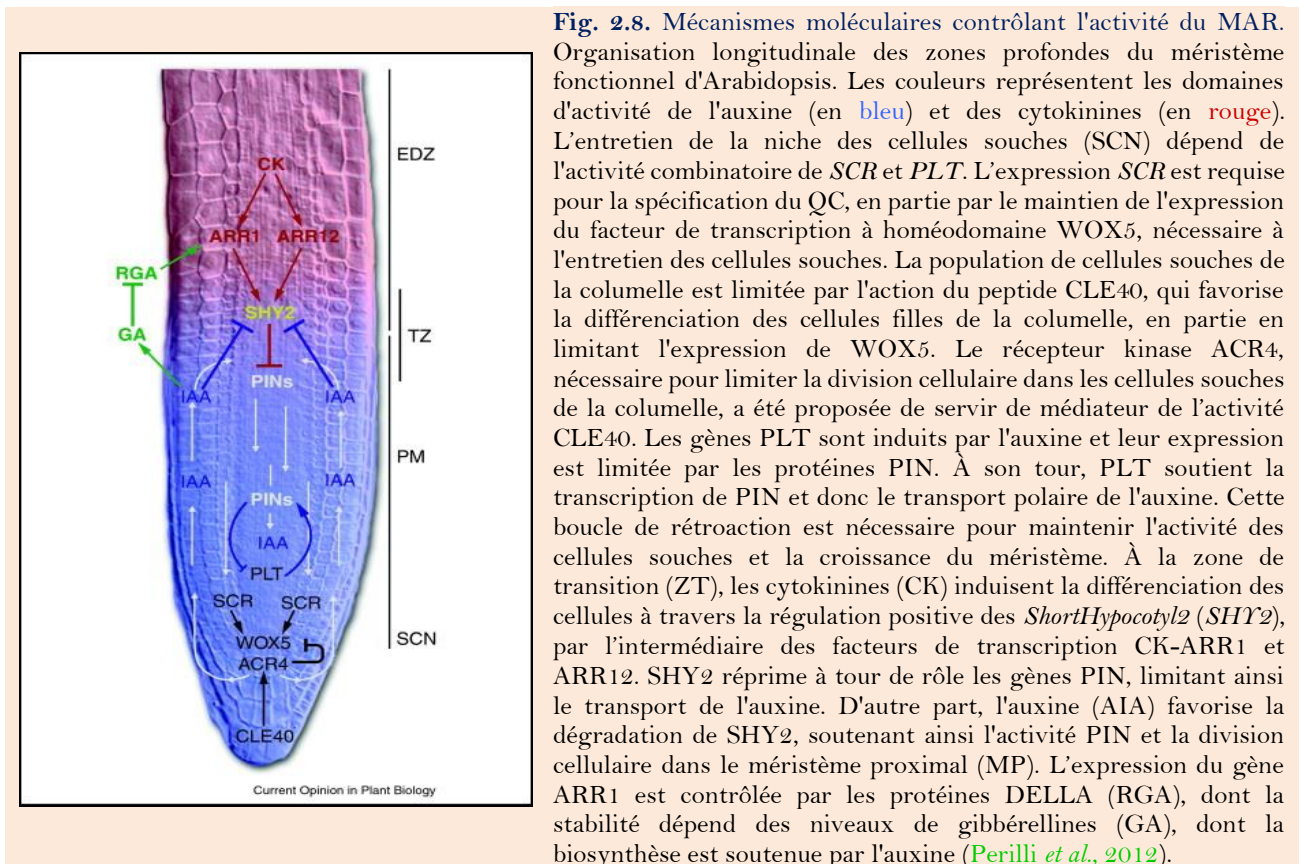


Fig. 2.8. Mécanismes moléculaires contrôlant l'activité du MAR. Organisation longitudinale des zones profondes du méristème fonctionnel d'Arabidopsis. Les couleurs représentent les domaines d'activité de l'auxine (en bleu) et des cytokinines (en rouge). L'entretien de la niche des cellules souches (SCN) dépend de l'activité combinatoire de *SCR* et *PLT*. L'expression *SCR* est requise pour la spécification du QC, en partie par le maintien de l'expression du facteur de transcription à homéodomaine *WOX5*, nécessaire à l'entretien des cellules souches. La population de cellules souches de la columelle est limitée par l'action du peptide *CLE40*, qui favorise la différenciation des cellules filles de la columelle, en partie en limitant l'expression de *WOX5*. Le récepteur kinase *ACR4*, nécessaire pour limiter la division cellulaire dans les cellules souches de la columelle, a été proposée de servir de médiateur de l'activité *CLE40*. Les gènes *PLT* sont induits par l'auxine et leur expression est limitée par les protéines *PIN*. À son tour, *PLT* soutient la transcription de *PIN* et donc le transport polaire de l'auxine. Cette boucle de rétroaction est nécessaire pour maintenir l'activité des cellules souches et la croissance du méristème. À la zone de transition (ZT), les cytokinines (CK) induisent la différenciation des cellules à travers la régulation positive des *ShortHypocotyl2 (SHY2)*, par l'intermédiaire des facteurs de transcription *CK-ARR1* et *ARR12*. *SHY2* réprime à tour de rôle les gènes *PIN*, limitant ainsi le transport de l'auxine. D'autre part, l'auxine (AIA) favorise la dégradation de *SHY2*, soutenant ainsi l'activité *PIN* et la division cellulaire dans le méristème proximal (MP). L'expression du gène *ARR1* est contrôlée par les protéines *DELLA (RGA)*, dont la stabilité dépend des niveaux de gibbérellines (GA), dont la biosynthèse est soutenue par l'auxine (Perilli *et al.*, 2012).

✚ La croissance et le maintien du méristème racinaire

L'acquisition de sa forme et la croissance du méristème racinaire sont des événements gouvernés par l'établissement PIN-médiatisée d'un **gradient apico-basale d'auxine** traversant le méristème racinaire. Dans ces dernières années, l'interaction antagoniste cytokinines/auxine a été montré pour être cruciale dans la détermination de la position de la 'ZT' et à maintenir la taille finale du méristème racinaire (Fig. 2.8).

¹² Définitions :

- ✓ Le gène homéotique se caractérise par une séquence nucléotidique commune à tous les gènes homéotiques : l'homéoboîte. Le gène homéotique code pour une protéine appelée homéoprotéine.
- ✓ L'homéoprotéine est un facteur de transcription codé par un gène homéotique. Elle possède une séquence en acides aminés commune à toutes les homéoprotéines : l'homéodomaine.
- ✓ L'homéoboîte est une séquence de 180 paires de base nucléotidiques qui code pour l'homéodomaine.
- ✓ L'homéodomaine est une séquence de 60 acides aminés dont la conformation tridimensionnelle reconnaît spécifiquement des régions régulatrices de certains gènes.

La régulation positive, par l'intermédiaire des cytokinines, du gène *SHORT-HYPOCOTYL 2 (SHY2)*, un membre de la famille des répresseurs de la signalisation auxinique ou Aux/IAA, a été décrite comme un événement clé de régulation pour induire la différenciation des cellules de la 'ZT'. Les CK activent la transcription de SHY2 dans les tissus vasculaires de la ZT à travers le facteur de transcription **cytokinine-réponse primaire ARR**. Il en résulte l'inhibition de la signalisation à l'auxine et de l'expression des PIN, et la différenciation cellulaire commence alors. En revanche, l'auxine dans la zone 'MP' favorise la dégradation de la protéine SHY2, le maintien de l'activité des gènes PIN, incitant ainsi la division cellulaire (**Fig. 2.8**).

L'achèvement de la croissance du méristème et la réalisation de l'équilibre entre la division et la différenciation cellulaire nécessaire pour maintenir la taille finale du MAR est provoquée par l'activation de l'**ARR1**, qui avec **ARR12** augmentent les niveaux de **SHY2 (Fig. 2.8)**. Les gibbérellines, un régulateur supplémentaire de la croissance des racines, participent également dans le maintien de la taille du MAR en réprimant de manière sélective l'expression de **ARR1** à des stades précoces du développement du méristème, via le répresseur **DELLA GA1-3 (RGA)**.

Résumé :

Ce chapitre explore la croissance des angiospermes, focalisée sur les méristèmes apicaux caulinaires (MAC) et racinaires (MAR). Ces structures, composées de cellules souches, maintiennent un équilibre entre prolifération et différenciation pour générer de nouveaux organes tout au long de la vie des plantes. La régulation du cycle cellulaire est critique pour ce processus, impliquant deux points de contrôle (G1/S et G2/M) modulés par des phytohormones comme l'auxine, les cytokinines et les gibbérellines. L'expansion cellulaire, dépendante de la turgescence et de modifications de la paroi cellulaire, est influencée par l'auxine. La structure et le fonctionnement des MAC et MAR, incluant des zones spécialisées et des mécanismes moléculaires tels que les interactions PIN-auxine, sont détaillés. Ces méristèmes sont maintenus via une régulation génétique complexe impliquant des gènes comme *WUS*, *CLV*, *SCR*, et *WOX*.

Questions de révision :

- Comment les méristèmes apicaux caulinaires et racinaires maintiennent-ils leur activité ?
- Quels mécanismes cellulaires régulent les transitions G1/S et G2/M dans le cycle cellulaire des plantes ?
- En quoi l'auxine influence-t-elle l'expansion et la différenciation cellulaires ?
- Quels gènes et mécanismes moléculaires sont impliqués dans la maintenance des niches de cellules souches (SCN) des MAC et MAR ?

CHAPITRE 3

Aspects fondamentaux du développement reproducteur chez les plantes à fleurs : gamétogenèse, fécondation, embryogenèse.

Les objectifs de ce chapitre :

- Décrire les processus biologiques fondamentaux impliqués dans la reproduction sexuée des plantes à fleurs.
- Identifier les rôles des structures florales dans la gamétogenèse et la fécondation.
- Expliquer les étapes clés et les régulations génétiques de l'embryogenèse végétale.
- Etc.

I. GAMETOGENESE

La gamétogenèse végétale peut être définie comme étant « un processus de développement complexe au cours duquel se forme des gamètes haploïdes matures, essentiels à la reproduction sexuée » (Lambing, 2022).¹

La **fleur**, dont le rôle est d'assurer la reproduction sexuée de la plante, est la structure la plus caractéristique des angiospermes.

1-Structure de la fleur :

Une fleur complète et simple est formée de quatre sortes d'éléments situés sur le **réceptacle floral** qui est l'extrémité renflée du **pédoncule floral**, lequel est inséré sur la tige. Les **sépales (le calice = ensemble des sépales)** forment une enveloppe, souvent verte, autour du bourgeon avant son éclosion. Les **pétales (la corolle = ensemble des pétales)** sont souvent colorés et odoriférants, ce qui attire les insectes pollinisateurs. **Calice** et **corolle** constituent le **péricorolle** : enveloppe florale qui protège les éléments sexuels de la fleur. Ceux-ci sont les **étamines**, groupées en un ou deux rangs circulaires, et le **pistil**, composé de **carpelles**. Les carpelles comportent chacun stigmat, style et ovaire.

Les étamines sont les organes mâles. Elles sont terminées par des **sacs polliniques**, dans lesquels se forme le **pollen**. Les carpelles sont les organes femelles dont la cavité, complètement fermée et appelée **ovaire**, renferme les **ovules**.

¹ **Gamète** : n.m; Cellule reproductrice, mâle ou femelle, dont le noyau ne contient que **n** chromosomes, et qui peut s'unir à un gamète de sexe opposé (fécondation).

Gamétophyte : n.m (gr. *gamos* = mariage); organisme végétal issu de la germination d'une spore et élaborant les gamètes (les cellules d'un gamétophyte sont toutes haploïdes).

Spore : n.f (gr. *spora* = semence) élément unicellulaire produit et disséminé par les végétaux et dont la germination donne une forme préparatoire à la reproduction sexuée (ex. tube pollinique). La spore mâle des plantes à fleurs est le *grain de pollen*.

Sporange : n.m (gr. *aggos* = vase) ; sac ou urne contenant les spores chez les végétaux.

Sporophyte : n.m. Individu végétal issu d'un œuf fécondé (zygote) et qui, à maturité, porte les spores (semences), chez les plantes supérieures, il constitue la plante presque entière.

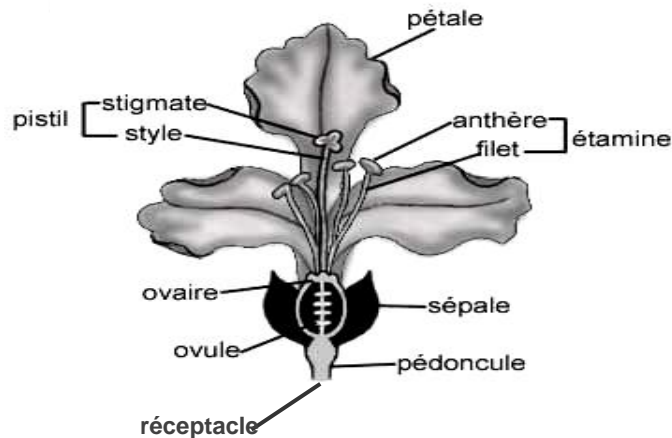


Fig. 3.1 : Structure d'une fleur typique.

2- Gaméophyte male ♂ :

A- Structure d'une étamine :

L'**androcée** est formé de l'ensemble des étamines (organes mâles). Chaque étamine comprend :

- **Le filet** : généralement fin et allongé, contient un faisceau de tissus conducteurs.
- **L'anthère** : partie renflée, elle est plus ou moins divisée en deux par un connectif qui est le prolongement du filet.

L'anthère est le plus souvent constituée de deux **sacs polliniques** (quatre sacs fusionnés deux à deux) contenant le **pollen**, enfermés dans deux loges. La paroi de chaque loge est parcourue par un **sillon** (ligne de déhiscence) qui s'ouvre lorsque l'étamine est mûre permettant ainsi la libération du **pollen**.

En coupe transversale l'anthère comprend :

- **L'épiderme** au rôle protecteur.
- **L'assise mécanique** : formée de cellules dont les parois latérales et profondes sont pourvues d'épaississements lignifiés, les parois externes demeurent entièrement celluloseuses. A maturité, la dessiccation de l'anthère entraîne la rétraction des parois celluloseuses de l'assise mécanique qui s'incurve vers l'extérieur, déchirant ainsi les cellules non lignifiées de la ligne de déhiscence ; le pollen est alors libéré.
- Les restes du **tapis staminal** (assise nourricière), au rôle nourricier s'ajoute le rôle d'élaboration de substances entrant dans la constitution des parois du grain de pollen.
- **Les sacs polliniques** qui contiennent à maturité de nombreux grains de pollen individualisés.
- Un faisceau libéro-ligneux parcourant le filet.

B- Grain de pollen :

Les grains de pollen des plantes à fleurs, sont des éléments sphériques ou ovoïdes, souvent de couleur jaune. Leurs dimensions varient de quelques micromètres à environ 200 μm (courge).

Le grain de pollen est généralement formé de deux cellules de (**n**) chromosomes (**bicellulaire**).

- La cellule **végétative** : la plus grande des deux, elle contient des réserves (amidon) qui serviront à la formation du tube pollinique.

- La cellule **génératrice** ou **reproductrice** : plus petite, allongée, entièrement incluse dans la cellule végétative. Elle est à l'origine des deux gamètes mâles ou **spermatozoïdes**.

La paroi du grain de pollen (**sporoderme**) comprend :

- Une couche interne cellulosique, **l'intine**.
- Une couche externe, **l'exine**, épaisse et formée de **sporopollénine**², substance imperméable. L'exine peut être lisse ou ornementée ; les ornements sont spécifiques et permettent d'identifier la plante qui a fourni le pollen. Dans les cavités de l'ornementation de l'exine, il peut exister un mélange complexe de (protéines, lipides, glucides) constitué le manteau pollinique, qui joue un rôle dans l'acceptation ou le rejet du pollen par le stigmate.

L'exine est amincie au niveau de pores (**apertures**) par où sortira le tube pollinique.

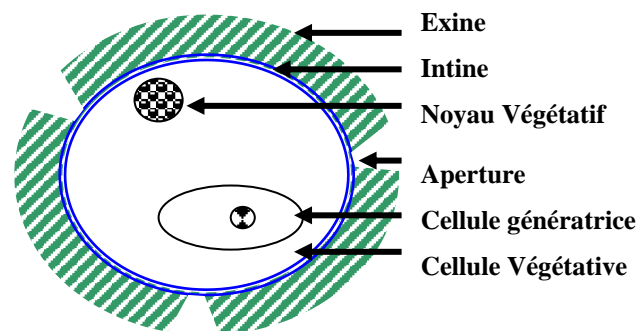
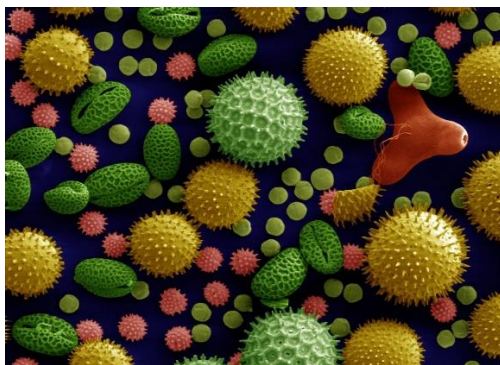


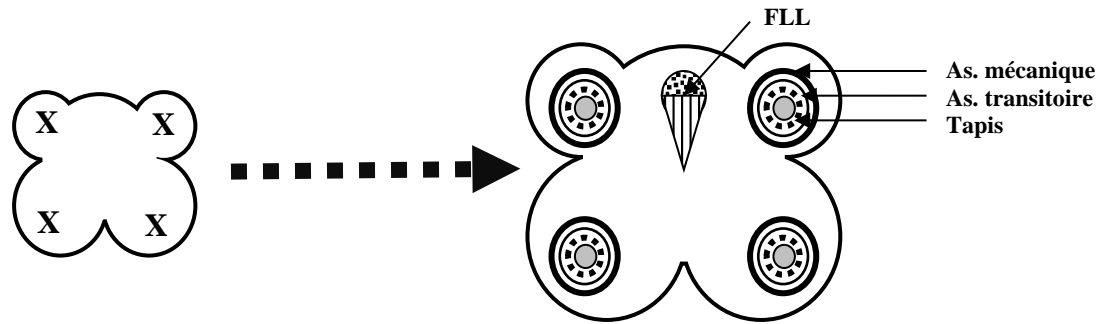
Fig. 3.2 : Forme et structure des grains de pollen

C- Développement des Sacs Polliniques (Microsporangies) :

L'observation de coupes transversales d'anthères très jeunes, puis de plus en plus âgées, permet de suivre la formation des sacs polliniques. A chacun des quatre angles de l'ébauche d'une jeune anthère, des cellules sous-épidermiques se différencient en grandes cellules (cellules archésporiales).

² **Sporopollénines** : substance semblable à la lignine et la cutine, synthétisée par les cellules du tapis, est constituée l'une des substances biologiques les plus résistantes.

Donc c'est à partir de ces 4 bandes de cellules archésporiales, suite à un cloisonnement de façon péricline, qui va se former : le tissu **sporogène** et, la paroi pluristratifiée du sac pollinique.



► Les archéspores sont les cellules à l'origine des sacs polliniques. Il s'agit d'un tissu sporophyte, à 2n.

► Les archéspores prolifèrent et donnent deux types de cellules qui vont construire les sacs polliniques (assise mécanique, transitoire et tapis) et les cellules mères de pollen.

Fig. 3.3 : Formation des sacs polliniques.

D- Développement Du Grain De Pollen (Microgamétogenèse) :

D-1- Formation des microspores :

À l'intérieur des **microsporangies** (sacs polliniques), des cellules diploïdes (2n) appelées cellules-mères de pollen (= méiocytes mâles ou microsporocytes) subissent une **méiose**³.

En fin de méiose chaque cellule sporogène produit quatre cellules haploïdes qui restent groupés en **tétrade** grâce à la formation de la paroi spéciale **callosique**.

Il existe deux modalités principales de formation des tétrades (**Fig. 3.4**) :

- (1)- chez les Dicotylédones: les quatre cloisons se forment de façon centripète, simultanément.
- (2)- chez les Monocotylédones: les cloisons se forment de façon centrifuge successivement.

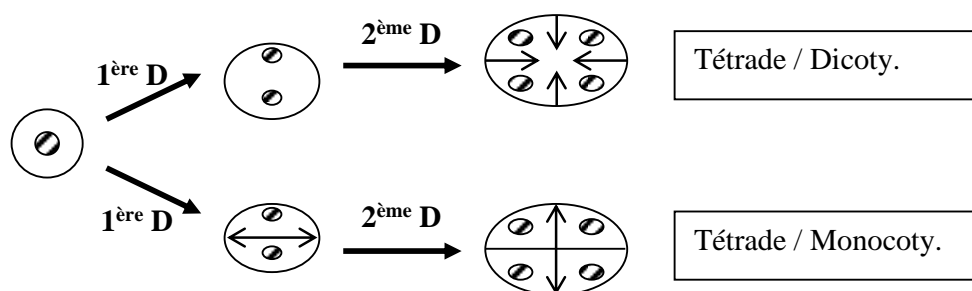


Fig. 3.4 : Formation des tétrades

³ **Méiose** : Cet événement comprend deux divisions du noyau : une première division, dite **réductionnelle**, qui répartit chaque jeu de chromosome en deux lots de chromosomes singuliers (équivalent donc chacun à un 'lot haploïde'). Une deuxième division, dite **équationnelle**, qui elle produit deux autres lots à partir de ceux légués par la première division. Une cellule mère diploïde donne donc naissance par méiose à 4 cellules filles haploïdes.

D-2- Formation des Grains de pollen :

Deux processus caractérisent cette deuxième étape :

(a)- Formation de la paroi pollinique:

Elle débute au moment de la réalisation de la tétrade par la mise en place de la **primexine** (couche cellulosique) ; paroi polysaccharidique qui se charge ensuite en sporopollénine. Le dépôt de la sporopollénine se fait de façon très irrégulière ce qui donne des sculptures spécifiques. Cela donne l'exine stable définitive. En fin de maturation la paroi pollinique s'enrichit d'un manteau pollinique (tryphine ou pollenkit)(Pacini et Hesse, 2005) dont les éléments constitutifs proviennent du tapis. La dernière partie de la paroi mise en place est l'intine (**Fig. 3.5**).

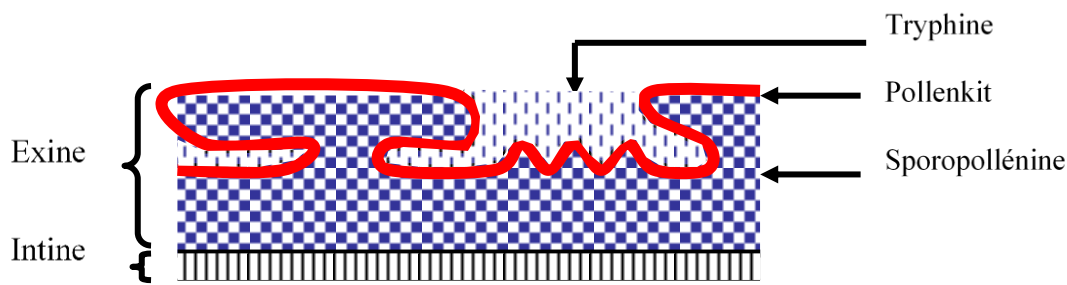


Fig. 3.5 : Structure du sporoderme

(b)- Formation du gamétophyte mâle:

Pendant que se différencie le **sporoderme**, la microspore augmente de volume, se vacuolise et le noyau prend une position excentrée (création de la polarité cellulaire). Cette microspore entre ensuite en **mitose**⁴; il en résulte deux cellules inégales, l'une petite, lenticulaire, appliquée contre l'intine, c'est la cellule génératrice, incluse dans l'autre, la plus grande, qui correspond à la cellule végétative (cellule du tube). Ces deux cellules sont séparées par une paroi incurvée, peu structurée. Ensuite, la cellule génératrice se détache de l'intine et se trouve complètement « **internalisée** ».

Généralement chez la plupart des angiospermes, cet état **bicellulé** (cas exceptionnel des végétaux) sera celui conservé par le grain de pollen "mûr" au moment de sa dissémination [☞ le noyau de la cellule génératrice se trouve bloqué en début de prophase de la deuxième division pollinique=mitose]. Pour le reste (blé, orge), la cellule génératrice accomplit la seconde mitose (F) avant la fin de la maturation du grain de pollen (structure **Tricellulée**). Il s'agit de la mitose **gamétogène** engendrant la formation des deux gamètes mâles ou cellules spermiques « **spermatozoïdes** » (**Planche 1**).

A maturation, les grains de pollen se déshydratent, les couches cellulaires situées sous l'assise mécanique se résorbent : les grains de pollen sont donc libres et prêts à être disséminés.

⁴ **Mitose** : Il s'agit d'une division "conservatrice" qui produit deux cellules filles possédant la même information génétique que la cellule mère.

Les grains de pollen représentent le **gamétophyte mâle**.

NB. On notera que dans le cas des grains de pollen bicellulés, la mitose gamétogène ne se termine que tardivement, après la germination du pollen.

3- Gamétophyte femelle ♀ :

Le **gynécée** ou pistil est formé de l'ensemble des carpelles (organes femelles). Chaque carpelle est généralement formé de trois parties :

- **L'Ovaire** : partie renflée et creuse contenant les **ovules** ;
- **Le style** : prolongement de l'ovaire qui s'épanouit à sa partie terminale en un **stigmate** ;
- **Le stigmate** : surface élargie et papilleuse, voué à capter les grains de pollen véhiculés par le vent ou les insectes.

Le gynécée peut être exceptionnellement monomère (un seul carpelle), mais le plus souvent est constitué de plusieurs carpelles qui peuvent être libre entre eux (**apocarpie = dialycarpie**) ou associés de façon plus ou moins étroite (**syncarpie = gamocarpie**)

Les plantes à fleurs possèdent un **système ovarien clos** (= **Angiospermie**), à l'intérieur duquel se développent les **ovules** lesquels, s'il y a fécondation, évoluent en graines.

i- Ovule:

L'ovule comprend :

- Le **Funicule** ou pédoncule ovulaire, fin cordon qui fixe l'ovule sur le **placenta**.
- Le **hile** étant la zone élargie du funicule où commence l'ovule.
- Deux téguments (interne et externe) qui laissent entre eux une étroite ouverture, le **Micropyle**.
- Le **Nucelle** (**mégasporange**), massif parenchymateux interne.
- Le **Sac Embryonnaire**, formation particulière située à la partie supérieure du nucelle et qui comporte généralement sept cellules.
- Un **faisceau libéro-ligneux** qui se termine dans le nucelle en une région appelée la **Chalaze** (correspond au point de divergence des tissus conducteurs).

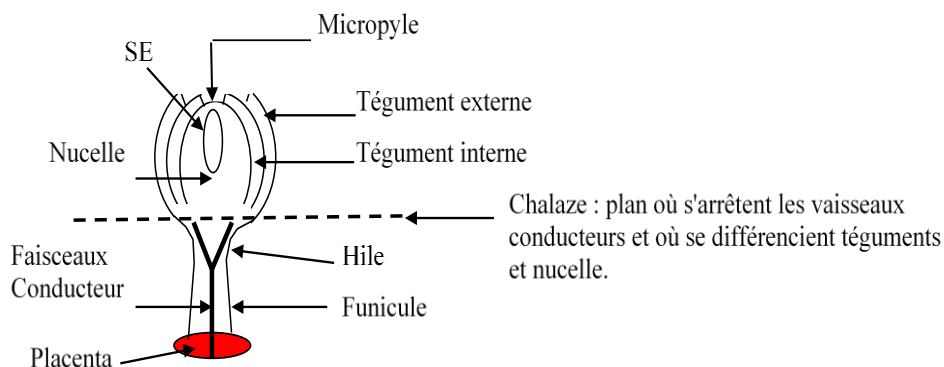


Fig. 3.6 : Structure d'un ovule

On distingue généralement trois types principaux d'ovules :

- 1- Ovule orthotrope (droit). Les axes du funicule et du nucelle sont confondus.
- 2- Ovule campylotrope (courbé). Les axes du funicule et du nucelle sont perpendiculaires.
- 3- Ovule anatrophe (renversé). Les axes funicule/nucelle sont parallèles.

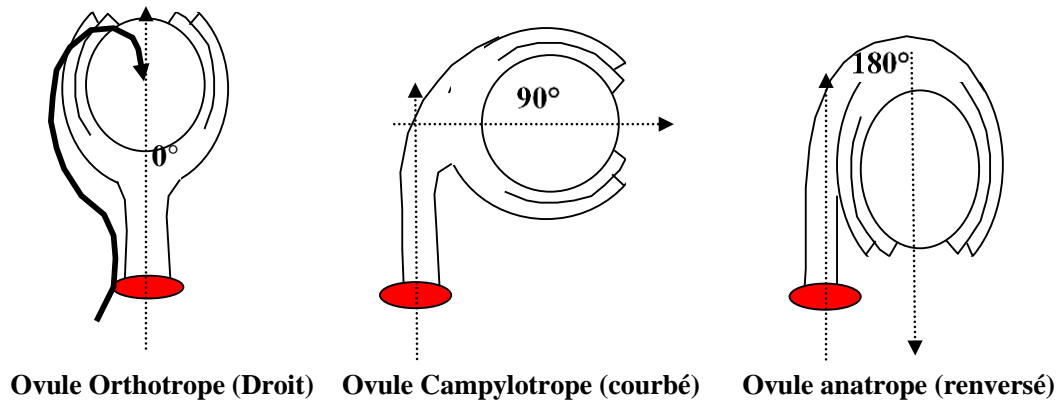


Fig. 3.7 : Types d'ovules.

ii- Sac embryonnaire:

Le sac embryonnaire comprend sept cellules et huit noyaux.

- Au pôle micropylaire, trois cellules, soit deux **Synergides** encadrant l'**Oosphère** (gamète femelle).
- Au pôle chalazien, trois cellules les **Antipodes**.
- Une grande cellule appelée cellule **centrale** à deux noyaux appelés **noyaux polaires**.

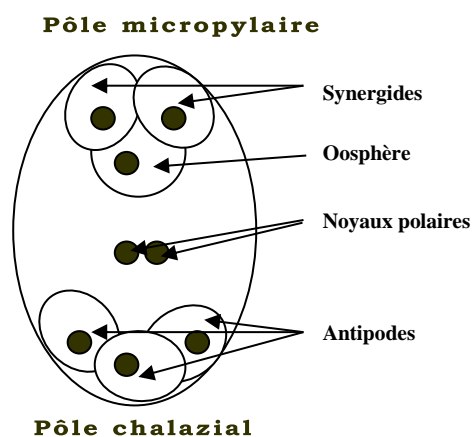
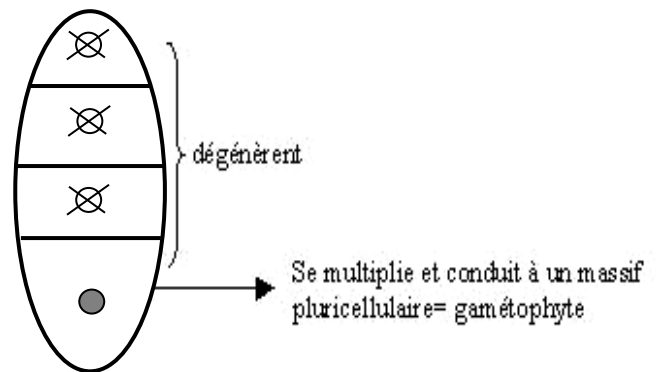


Fig. 3.8 : Structure du Sac Embryonnaire

iii-Développement du Sac Embryonnaire:

1- Formation de la mégaspore :

Une cellule sous-épidermique du nucelle (**mégasporange**) de l'ovule s'agrandit pour former la cellule archésporiale (L'archéspore ne se multiplie pas contrairement à ce qui se passe pendant la formation du grain de pollen.



Au sein du nucelle qui continue à s'accroître. La cellule mère des mégaspores (l'archéspore elle-même) va subir une **méiose** est produit ainsi quatre **mégaspores** (**macrospores**) haploïdes superposées (en file) et organisées en **tétrade**

Généralement trois des quatre mégaspores, les plus proches du micropyle, dégénèrent. La mégaspore la plus interne qui devient alors la **mégaspore fonctionnelle** (fertile), est à l'origine du futur sac embryonnaire.

2- formation du sac embryonnaire (mégagamétogenèse) :

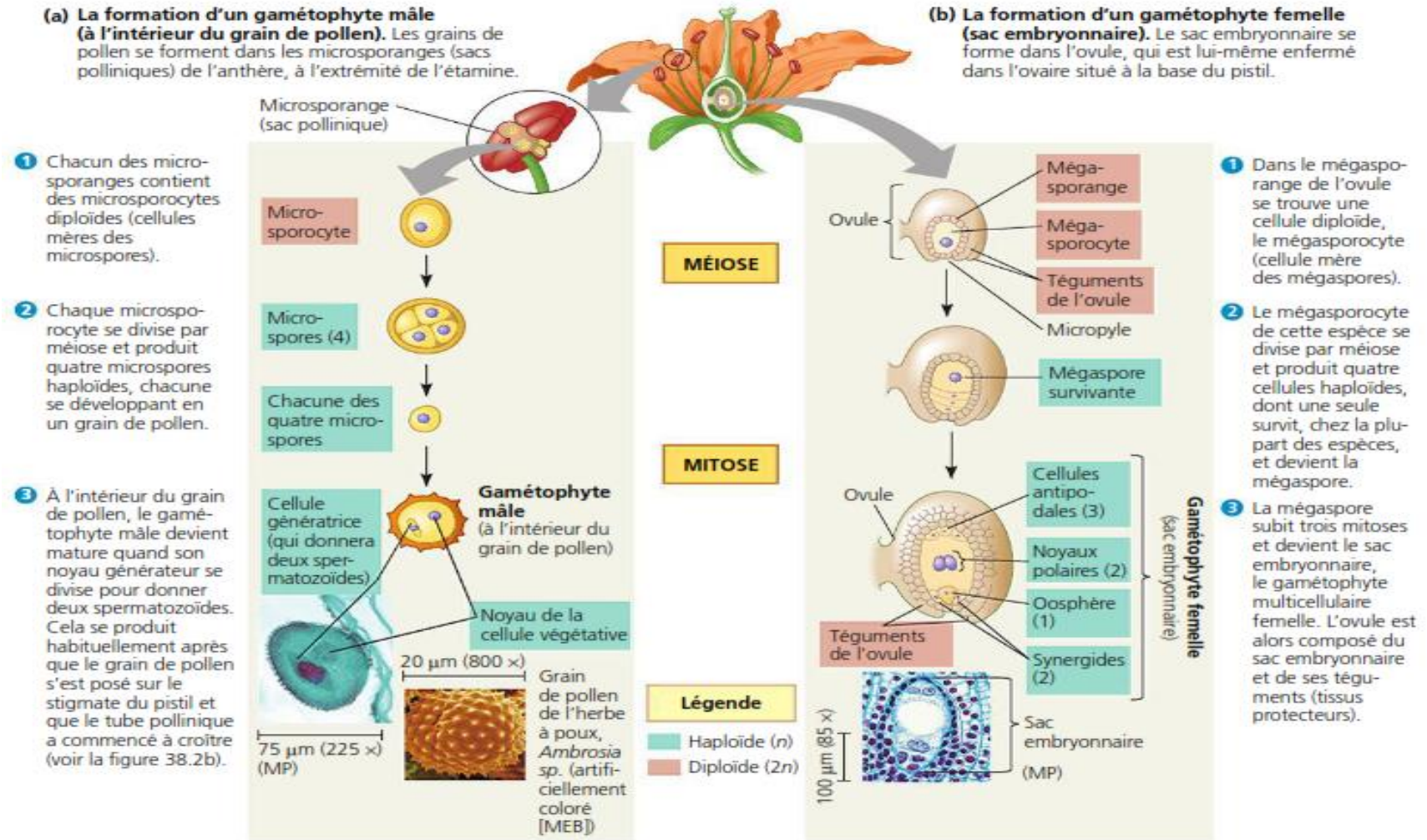
Dans la plupart des cas, la mégaspore fonctionnelle subit trois séries de divisions (mitose) incomplètes, limitées aux **caryocinèses** ≠ **cytodiérèse** (pas de formation de cellules individuelles), aboutissant à la formation d'une structure **coenocytique** (8 noyaux haploïdes au sein du même cytoplasme). Ensuite, les noyaux sont distribués en deux lots de quatre au niveau des deux pôles du sac.

Cette phase coenocytique est suivie par une **cellularisation** qui consiste en un partage en 7 territoires par une paroi très mince.

- Trois des quatre noyaux du pôle micropylaire forment les 2 **synergides** et l'**oosphère**, tandis que le troisième noyau demeurant libre ;
- Au pôle chalazien, trois des quatre noyaux forment les trois **antipodes**, le quatrième restant libre.
- Les deux noyaux restants libres, migrent vers le milieu du sac embryonnaire et forment les deux **noyaux polaires** de la **cellule centrale**. (Planche 1)

Le sac embryonnaire, correspond au **gamétophyte femelle**, avec deux cellules fertiles assimilables à des gamètes femelles : l'**Oosphère** et la **cellule centrale** (Cf. 3^{ème} partie).

PLANCHE 1. Formation des gamétophytes mâles et femelles chez les angiospermes



Source : Campbell et al., 2012.

II. FECONDATION

La **fécondation** peut être définie comme étant la conjugaison ou l'union de deux gamètes mâles et femelle. Pour que l'Oosphère soit fécondée, le gamétophyte mâle (grains de pollen) et le gamétophyte femelle (sac embryonnaire) doivent se rencontrer et unir leurs gamètes. Il faut donc que les grains de pollen soient transportés depuis une étamine jusqu'à un pistil, c'est ce que nous appelons la **pollinisation**.

La Pollinisation, est le transfert du pollen émis par les étamines d'une fleur au stigmate de la même fleur (autogamie) ou d'une autre fleur (allogamie) sur le même pied ou sur un pied différent. Un agent extérieur (pollinisateur) est souvent indispensable (vent, eau, insectes, animaux, etc.) (Cf. annexe 2).

1. Adhérence et Germination du Pollen

A. Adhérence du pollen au stigmate :

Qu'il soit transporté ou non, le pollen doit s'adhérer spécifiquement au stigmate pour qu'il puisse germer.

L'adhérence du pollen est un processus actif assuré par la présence de déterminants et de récepteurs adéquats sur ces deux organes. Exemples : la protéine dite SCR (*small cysteine-rich protein*) sur le pollen, et la glycoprotéine dite SLR (*S-locus-related glycoprotein*) (Takayama *et al.*, 2000).

De ce fait, on peut déduire que la simple adhérence du pollen au stigmate, au moyen des substances gluantes, ne suffit pas pour qu'il puisse germer (processus de reconnaissance).

B. Réhydratation du pollen :

De fait de sa déshydratation, le pollen absorbe rapidement l'eau qui lui y fourni par le stigmate, de façon active et facilitée par la présence de molécules spécifiques telles que des enzymes (lipases, oleosines) et des protéines (aquaporine-like proteins) sur ces deux organes. A cette absorption active s'ajoute une absorption passive, par osmose, dans le cas des stigmates mouillés.

C. Germination du pollen :

Une fois le pollen absorbe l'eau, il se gonfle, l'Intine se distendre est forme des hernies à travers les apertures (pores de germination). Ainsi, il se forme plusieurs tubes polliniques dits primaires, ensuite, l'un d'autre eux porte le pas sur les autres (les prédomine) et forme le tube pollinique proprement dit.

Le nombre et la croissance des tubes polliniques formés sont étroitement liés à la densité des grains de pollen germés ainsi qu'au nombre d'ovules présents dans le pistil. Des études récentes ont révélé que le pistil joue un rôle actif dans le contrôle de la germination des grains de pollen et de la croissance des tubes polliniques. Ce processus est médié par la phytosulfokine, un peptide composé de cinq acides aminés, qui agit comme un régulateur clé. Par exemple, il a été démontré que la phytosulfokine contribue à la communication entre le pollen et les tissus du pistil, favorisant ainsi un développement coordonné (Higashiyama, 2010).

2. Croissance du tube pollinique :

Après sa formation, le tube pollinique s'allonge plus ou moins rapidement selon les espèces (tableau ci-dessous). Le noyau végétatif et la cellule gamétogène passent dans le tube pollinique, le noyau végétatif étant situé à l'extrémité du tube, la cellule spermatogène demeurant légèrement en arrière.

Tableau 1. La durée de croissance du tube pollinique chez quelques espèces

Plante	Durée de croissance du tube pollinique
Noisetier	4 mois
Chêne	2 mois
Tabac	48 heures
Maïs	25 heures
Haricot	8 – 9 heures

Concernant la croissance du tube pollinique il convient de poser les questions suivantes :

A. Comment se déroule la croissance du tube pollinique ?

La croissance du tube pollinique peut être décrite comme un processus actif de formation de la paroi cellulaire, souvent composée de **callose**. Cette croissance se réalise à son extrémité, de manière similaire à la croissance apicale des racines, ce qui en fait une croissance apicale.

On observe qu'il n'y a ni formation ni synthèse de nouveau cytoplasme. Ainsi, le cytoplasme initial du grain de pollen est conservé tout au long de cette croissance. Mais comment cela est-il possible ? Les observations des tubes polliniques en cours de formation ont révélé que le cytoplasme reste concentré près de l'extrémité du tube grâce au dépôt successif de bouchons de callose derrière cette zone. Ces bouchons permettent de maintenir la position du cytoplasme pendant l'allongement.

B. D'où proviennent les éléments nécessaires à l'allongement du tube pollinique ?

Durant sa croissance, le tube pollinique puise les éléments essentiels, tels que l'eau et les sucres, fournis par le pistil.

Cependant, une question se pose : comment ces molécules, souvent de grande taille, parviennent-elles à traverser une paroi cellulaire callosique, réputée rigide ? Les recherches ont

montré que le tube pollinique réalise des endocytoses au niveau de son extrémité, permettant ainsi l'incorporation de ces molécules indispensables à son développement.

C. La croissance du tube pollinique est-elle orientée ? Si oui, comment ?

La réponse est évidemment oui. En effet, comment expliquer autrement que le tube pollinique emprunte systématiquement le chemin le plus court pour atteindre l'ovule ? De plus, avant même de se développer, comment "sait-il" où se trouve l'ovule ? Ces observations suggèrent une orientation précise. Récemment, plusieurs découvertes scientifiques ont renforcé cette hypothèse.

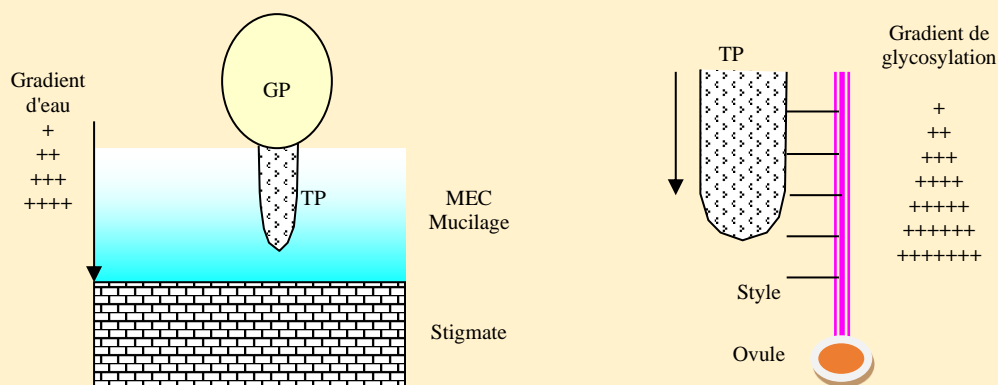
Ainsi, la croissance du tube pollinique est guidée par deux types de mécanismes.

- **Chimiotropiques (chimiques)** : dans ce cas, il a été proposé que la croissance du tube pollinique est guidée vers l'ovule grâce à l'excrétion de substances qui attirent le tube pollinique et lui indiquent l'emplacement de l'ovule.
- **Haptotactique ou physiques** : dans le cas des styles solides, la présence d'un tissu gélifié a laissé penser que ce tissu joue le rôle d'un tissu conducteur (transduction) qui guide le tube pollinique vers sa destination ou l'ovule.

Cependant, le guidage du T-Pollinique doit être considéré aux différentes parties du pistil.

Quelques exemples de mécanismes d'attraction et de guidage du Tube Pollinique (TP):

- Dans le cas de stigmate mouillé, le TP traverse d'abord une MEC (matrice extracellulaire) ou le mucilage excrété par les papilles. Il a été mis en évidence que chez certaines plantes, le stigmate établit une sorte de gradient d'eau de l'extérieur vers l'intérieur, et le TP il n'a pas suivi le gradient afin qu'il puisse pénétrer dans le style. ☞ Mécanisme chimique.
- Dans le cas de style creux. Il a été mis en évidence chez certaines plantes que le style établit une sorte de gradient de glycosylation de protéines fixées sur l'étendu transmettant ou TTE (trac transmit epidermis) pour le diriger vers l'ovule. Ainsi le TP n'a pas suivi ce gradient, de sorte que chaque fois qu'il avance il trouve de plus en plus de sucres, lesquelles va les utiliser pour la synthèse de sa paroi. ☞ Mécanisme chimique et haptotactique au même temps.



3. Trajet du tube pollinique dans le Pistil :

Le tube pollinique s'insinuer entre les cellules papilleuses du stigmate, puis pénètre dans le style. Lorsqu'il s'agit d'un style ouvert, le tube pollinique suit le *canal* du style, qui est tapissé de cellules papilleuses couvertes de mucilage (étendu transmettant). Dans le cas d'un style *solide*, le tube passe entre les cellules du tissu de conduction.

Il arrive finalement à l'ovule qu'il aborde le plus souvent par le micropyle (**acrogamie**) ou, exceptionnellement, par la Chalaze (**chalazogamie**).

* Formation des spermatozoïdes :

Chez la plupart des angiospermes, c'est au cours de la traversée du style que la cellule génératrice se divise (la mitose gamétogène) et engendre les deux gamètes mâles ou cellules spermatiques « **spermatozoïdes** ».

4. Double Fécondation proprement dite

En arrivant au niveau de l'ovule, le tube pollinique s'insinuer entre les cellules du placenta et aborde le sac embryonnaire par sa partie supérieure (pôle micropylaire), là où se trouvent les synergides et l'Oosphère.

Un liquide sécrété par l'une des deux synergides (la synergide réceptrice, dégénérée) soulève la membrane embryonnaire au-dessus des synergides. Cette membrane est finalement rompue lorsque le tube pollinique aborde le sac embryonnaire.

Ensuite le tube pollinique (dont le noyau végétatif dégénère) s'ouvre et déverse son contenu, en particulier les deux spermatozoïdes, dans cette synergide. Une fois à l'intérieur, l'un des deux spermatozoïdes migre vers l'oosphère et l'autre vers les noyaux polaires (souvent on voit qu'un seul noyau après leur fusionnement) probablement grâce aux microfilaments de *F-actine* formés par la synergide réceptrice. Ainsi, les noyaux spermatiques (ou leur chromosome seulement) seront transmis à ces cellules pour la caryogamie (fusionnement des noyaux).

* Double Fécondation :

L'un des noyaux spermatiques pénètre dans l'Oosphère et s'unit à son noyau. Un premier **zygote, l'œuf principal - diploïde** ($2n$), est ainsi formé.

Le second noyau s'unit ensuite à son tour au noyau polaire (diploïde), dont on sait qu'il résulte de la fusion plus ou moins précoce de 2 noyaux polaires haploïdes. Un second zygote, l'œuf accessoire - **triploïde** ($3n$), est ainsi produit.

Les deux noyaux spermatiques apportés par le tube pollinique sont donc impliqués dans la fécondation qui aboutit à la formation de 2 zygotes. Il y a donc une **double fécondation** qui est caractéristique des seules Angiospermes.

Les deux zygotes issus de la double fécondation se développent mais de façon différente :

- Le zygote principal produira l'**embryon** de la graine puis, s'il y a germination, la nouvelle plante. C'est ce zygote qui assure donc la continuité du cycle de développement de la plante ; il constitue la première étape de la phase **sporophytique**.
- Le zygote accessoire donne un tissu plus ou moins développé, l'albumen de la graine (ou **endosperme**) indispensable au développement de l'embryon (rôle nourricier).

III. EMBRYOGENESE

1. Introduction

L'embryogenèse est une phase cruciale du développement des plantes au cours de laquelle l'embryon établit les principales structures qui formeront la future plante et synthétise et accumule des réserves définissant le rendement et la qualité nutritionnelle des graines (Ben, 2006).

L'embryogenèse, consiste à la formation de l'embryon en vue de l'établissement du plan de la future plante. Elle décrit les phases durant lesquelles le zygote subit une série de changements morphologiques et physiologiques, aboutissant à la formation d'un embryon mature formé *d'un axe embryonnaire avec deux pôles (caulinaire et racinaire) et un ou deux cotylédons*.

L'embryogenèse chez les plantes supérieures est constituée de trois phases chevauchantes.

- La première phase** : est la phase *morphogénèse*, ou phase d'établissement du corps ou le patron de l'embryon (axe et cotylédons) qui résulte de la superposition d'un axe apico-basal correspondant à la mise en place des différents organes (3 domaines) et d'un axe radial reflétant la formation des différents tissus (3 tissus primaires) (voir plus loin).
- La deuxième phase** : est une phase de *croissance* et de *maturation*, laquelle est caractérisée par l'accumulation des substances de réserve dans les cotylédons, l'hypocotyle et/ou l'albumen. Ces substances seront utilisées par la jeune plantule lors de la germination. Cette étape se traduit également par la croissance des différents organes de l'embryon.
- La troisième phase** : est la phase de *dormance* et de *dessiccation*, durant laquelle la teneur en eau des tissus chute de **90%**, prépare ainsi l'embryon à la phase de **dissémination**. Cette **déshydratation**, qui met en jeu le métabolisme de l'acide abscissique (**ABA**), s'accompagne d'un fort ralentissement de l'activité physiologique de la graine qui entre en dormance. Elle présente ainsi une capacité de résistance exceptionnelle aux facteurs physico-chimiques de l'environnement et peut se maintenir plusieurs années dans cet état. La graine, pourvue des réserves qui lui permettront de reprendre sa croissance en présence d'eau et d'oxygène, germe lorsque les conditions intérieures (levée de dormance) et extérieures sont favorables.

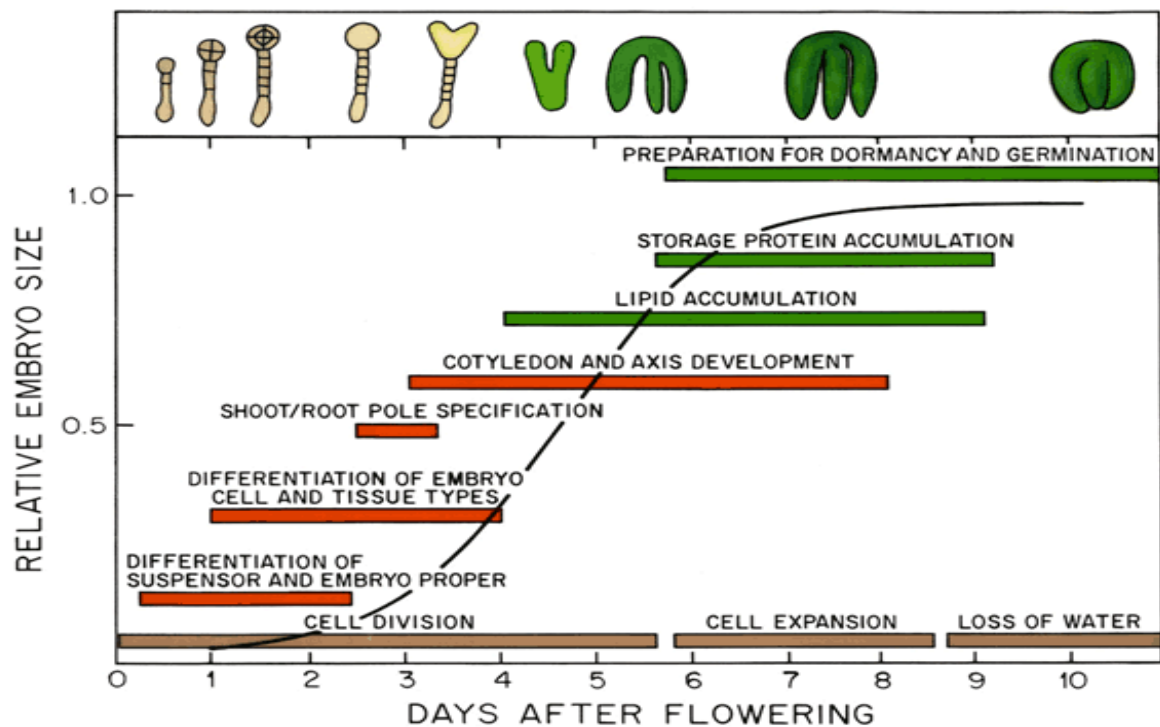


Fig. 3.9 : Différentes phases du développement embryonnaire d'*Arabidopsis thaliana*.

A = embryon une cellule ; B = Stade octant ; C = Stade dermatogène ; D = Stade globulaire ; E = Stade cordiforme ; F = Stade torpille ; G-I = Stade cotylédonaire.

2. Mise en place des axes 'apico-basal' et 'radial' de l'embryon.

Le patron de l'embryon s'organise autour de **deux axes**, l'axe apico-basal et l'axe radial (Fig. 2), qui sont mis en place au cours de l'embryogenèse précoce (Jürgens, 2001). L'axe apico-basal est composé de différentes structures, **véritables ébauches des organes de la future plante**, qui sont, du haut vers le bas, le **méristème caulinaire**, les **cotylédons**, l'**hypocotyle**, la **radicule** et le **méristème racinaire**. L'axe radial correspond à l'édification des différents types de tissus, organisés en couches concentriques autour de l'axe apico-basal, avec de la périphérie vers le centre, l'**épiderme**, le **cortex**, l'**endoderme**, le **péricycle** et les **tissus vasculaires**.

2.1. Première division asymétrique traduit la polarisation du zygote.

Au cours du cycle biologique des organismes multicellulaires tels que les végétaux supérieurs, une cellule unique, le **zygote**, est à l'origine d'un individu constitué de nombreux types cellulaires différenciés et spécialisés. Les divisions asymétriques qui génèrent des cellules dont les contenus cytoplasmiques sont différents et qui résultent d'une **polarisation de la cellule mère** peuvent constituer l'un des mécanismes menant à de telles différenciations cellulaires.

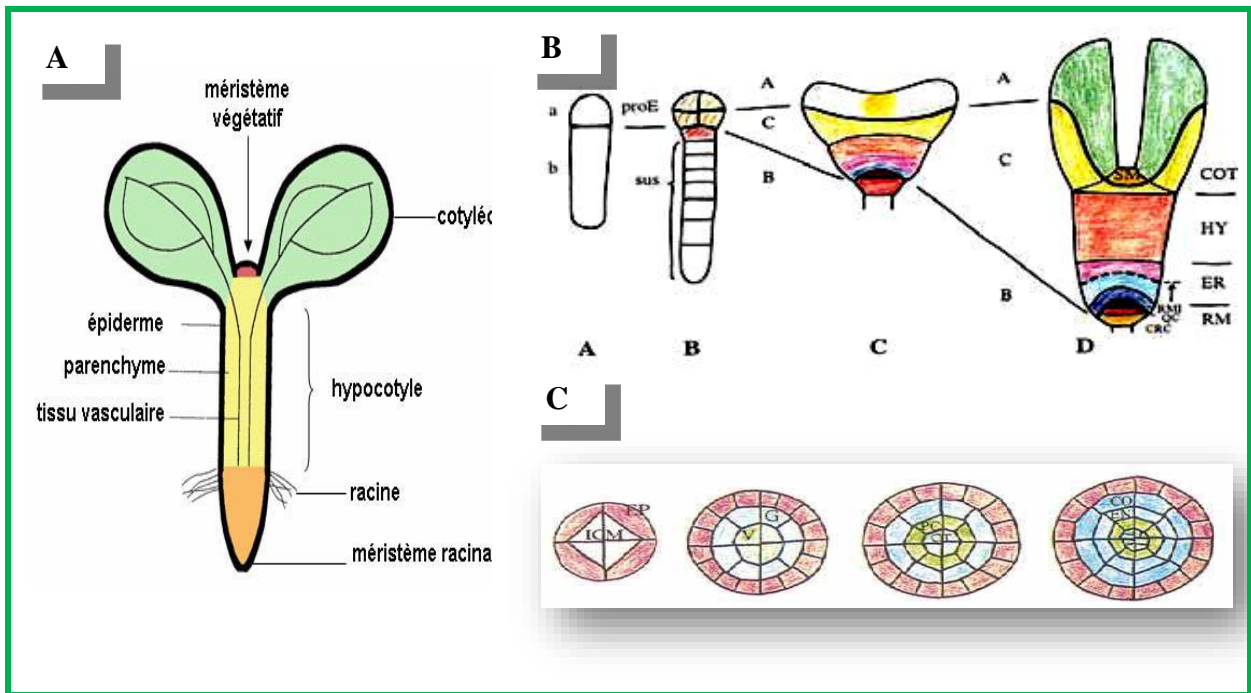


Fig. 3.10 : A- Représentation schématique du plan d'organisation de la plantule. B- Mise en place de l'axe apico-basal. C- Formation de l'axe radial.

2.1.1. Déroulement de la première division du zygote.

Chez *Arabidopsis thaliana*, à la suite de la fécondation, **le zygote unicellulaire s'allonge selon l'axe apico-basal**. Cette étape d'élongation du zygote semble être un événement très important de l'embryogenèse. En effet, l'analyse phénotypique des mutants *yoda* a montré qu'un allongement trop important ou trop faible mène à des perturbations du développement de l'embryon ou du suspenseur. Ensuite, le réseau de microtubules corticaux du zygote, jusqu'alors disposé en un maillage inorganisé, s'oriente en faisceaux parallèles perpendiculairement à cet axe. Le noyau, à l'origine situé en position centrale dans la cellule zygotique, migre vers la partie apicale alors qu'une large vacuole se développe dans la région basale. En **pré-prophase**, les microtubules se resserrent pour former un anneau autour du noyau. Cet anneau, appelé bande **pré-prophasique**, indique la position du futur plan de division du zygote. Le réarrangement des constituants cytoplasmiques reflète une polarisation du zygote qui aboutit à une division cellulaire asymétrique.

Le zygote se sépare transversalement en deux cellules de taille et de devenir très différents :

- ✚ une petite **cellule apicale** riche en cytoplasme qui sera à l'origine de la majeure partie de **l'embryon** (le vrai) proprement dit,
- ✚ et une grande **cellule basale** très vacuolisée qui formera principalement un **suspenseur** filamenteux de 6 à 9 cellules, qui jouerait le rôle du '**cordon ombilical**' acheminant les nutriments et les facteurs de croissance puisés dans les tissus maternels et nécessaires au développement normal de l'embryon. Au cours du développement embryonnaire, le

suspenseur dégénère à l'exception de la cellule apicale (**hypophyse**) qui génèrera une partie de la racine de l'embryon (voire plus loin et Cf. Chapitre 2).

2.2. De l'embryon deux cellules jusqu'à l'embryon globulaire : mise en place des axes apico-basal et radial.

Chez *Arabidopsis thaliana*, la petite **cellule apicale** issue de la première division asymétrique du zygote suit un patron de divisions orientées très conservé chez les plantes (**Figure 3-9**). La première série de divisions, comprenant **deux premières segmentations longitudinales** suivies d'une **troisième transversale**, aboutit à la formation du stade **octant (8 cellules)** caractérisé par l'organisation des cellules en deux rangées (étages) séparées par la **frontière O'** : la rangée supérieure, qui est destinée à former les cotylédons et l'apex végétatif apical, est à l'origine du **domaine apical** de l'embryon alors que la rangée inférieure, qui génère l'hypocotyle et les cellules initiales de la racine, formera le **domaine central**. Le **domaine basal** de l'embryon qui correspond au reste de la radicule est représenté par **l'hypophyse (cellule apicale du suspenseur)**.

La vague suivante de division, orientée de manière **péricline** (parallèle à la surface de l'embryon) et menant au stade 16 cellules ou **dermatogène**, initie l'établissement de l'axe radial en faisant apparaître le premier tissu de l'embryon, le **protoderme**, qui est le précurseur de l'épiderme.

Chaque cellule donne en se divisant une cellule externe à l'origine du protoderme et une cellule interne qui produit, par divisions périclines, les **cellules précurseurs du tissu vasculaire** (ou **procambium**) au centre et entourées par un tissu parenchymateux qui constitue un territoire méristématique et qui subit des divisions anticlines (perpendiculaires à la surface de l'embryon).

L'embryon est alors au stade **globulaire** : les trois couches tissulaires primordiales sont différenciées (**protoderme, tissu du méristème fondamental et procambium**) et organisées spatialement en **trois couches concentriques** conduisant à la mise en place de la symétrie radiale de l'embryon.

Parallèlement, le suspenseur, issu d'une série de divisions transverses de la cellule basale, est **entièrement formé dès le stade globulaire précoce** et compte alors entre 7 à 9 cellules vacuolisées.

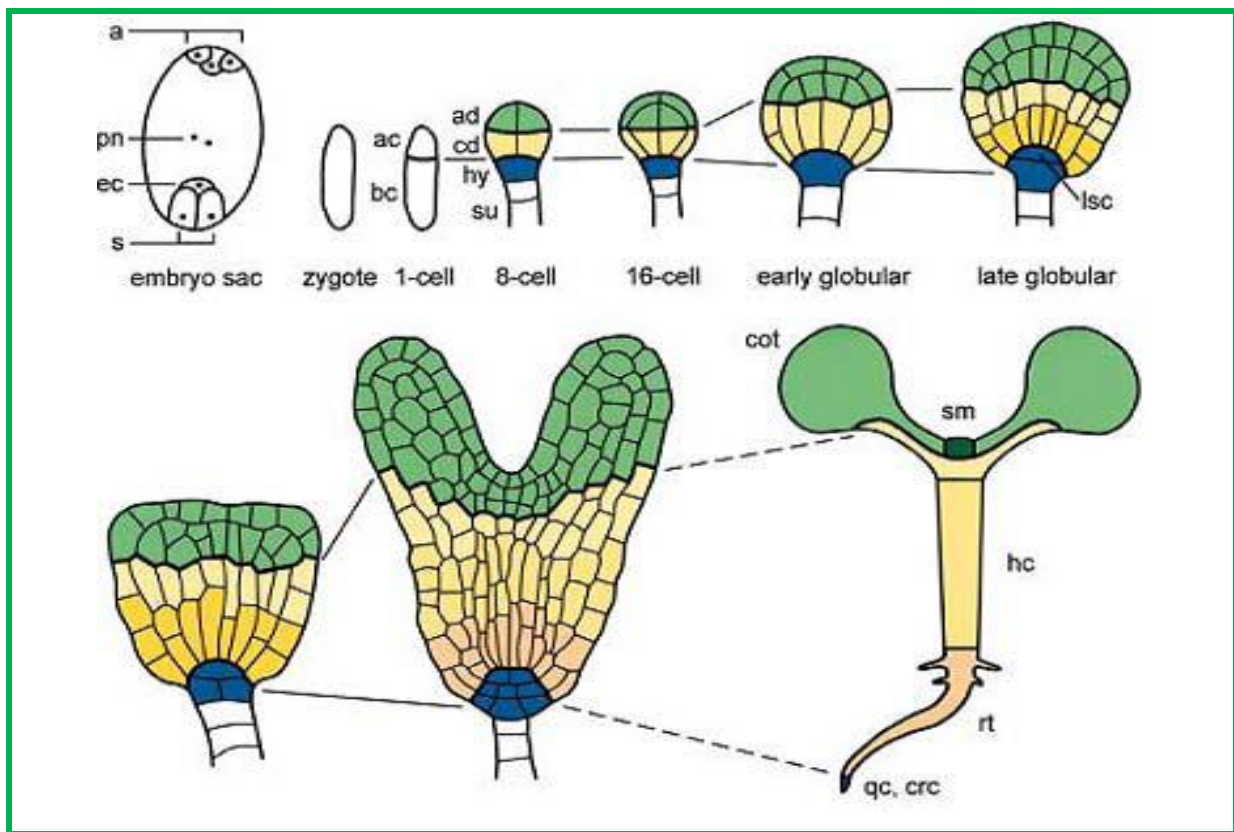


Fig. 3.10: Développement de l'embryon d'*Arabidopsis thaliana*. a, antipodes; ac, apical daughter cell; ad, apical embryo domain; bc, basal daughter cell; cd, central embryo domain; cot, cotylédons; crc, central root cap; ec, egg cell; hc, hypocotyl; hy, hypophysis; lsc, lens-shaped cell; pn, polar nuclei; qc, quiescent center; rt, root; s, synergids; sm, shoot meristem; su, suspensor. (D'après Laux *et al.*, 2004).

2.3. Transition globulaire-cœur : acquisition de la symétrie bilatérale et organisation définitive de la plante.

La transition entre les stades globulaire et cœur se traduit par le passage d'une **symétrie radiale** à une **symétrie bilatérale**, établie suite à l'apparition de 2 structures embryonnaires majeures : l'**axe délimité par les méristèmes végétatif et racinaire** et les **cotylédons** qui se développent de part et d'autre du méristème apical caulinaire.

Les méristèmes végétatif et racinaire, formés au cours du développement embryonnaire, sont ultérieurement responsables de la croissance et de l'architecture post-embryonnaire de la plante.

A partir du stade cœur, atteint 3 à 4 jours après la fécondation, le plan d'organisation et les principaux tissus de l'embryon mature sont établis. Ainsi, l'embryon possède les 3 tissus (protoderme, précurseurs du parenchyme et procambium) et les 4 structures (cotylédons, hypocotyle, méristèmes végétatif et racinaire) qui composent la plantule. Toutefois, l'embryon a encore relativement peu grossi.

2.4. Stade cotylédonaire : croissance et accumulation des réserves.

Le stade cotylédonaire, ultime étape du développement embryonnaire, constitue une phase active de division et élongation cellulaire au cours de laquelle les cotylédons croissent rapidement, l'axe embryonnaire s'allonge et les tissus parenchymateux et vasculaires envahissent peu à peu ces structures. Les cellules du **cortex et de l'endoderme** se différencient à partir des cellules **méristématiques du parenchyme** et vont accumuler des protéines et des lipides de réserves. Le **protoderme** externe se différencie en un **épiderme**.

3. Principales différences entre embryogenèse végétale et animale.

Tandis que les végétaux présentent de nombreux avantages pour l'étude de l'embryogenèse (facilité de contrôler la fécondation, descendants obtenus en très grand nombre, etc.), l'embryogenèse animale reste toutefois mieux connue. Plusieurs caractéristiques différencient l'embryogenèse des végétaux supérieurs de celles des animaux :

- + Une particularité des végétaux supérieurs est l'existence d'une double fécondation qui conduit à la formation de l'embryon d'une part et de l'albumen d'autre part. Une seule fécondation a lieu chez les animaux.
- + Dans le cas des végétaux, polarité structurale et différenciation des tissus au sein de l'embryon se mettent en place en l'absence de tout mouvement cellulaire.
- + Chez les végétaux supérieurs, les cellules reproductrices dérivent du méristème végétatif alors que les animaux ont une lignée germinale distincte séparée des cellules somatiques très tôt lors de l'embryogenèse.
- + La structure de l'embryon végétal, qui ne comprend qu'un nombre limité de types cellulaires et d'organes, est relativement simple comparée à celle des animaux.
- + La différenciation des organes végétatifs et floraux se produit de manière continue dans les méristèmes, ce qui conduit à l'obtention d'une plante adulte très différente de l'embryon ou de la plantule. Chez les animaux, les décisions concernant le développement sont prises lors de l'embryogenèse précoce.

4. L'élaboration du plan d'organisation de l'embryon végétal implique une régulation génétique très fine.

4.1. Gènes impliqués dans la mise en place de l'axe apico-basal.

L'axe apico-basal, qui constitue l'axe principal de croissance des racines et des pousses végétatives après la germination, est établi le plus précocement, les premiers signes de polarité selon cet axe étant observables dès la première division du zygote.

4.1.1. Suspenseur vs embryon : acquisition de devenirs cellulaires distincts dès la première division asymétrique.

Des études d'expression génique ont montré que des programmes spécifiques de transcription étaient initiés très précocement lors du développement embryonnaire. Dès la première division asymétrique, les deux cellules filles donnant respectivement l'embryon et le suspenseur **ont un devenir différent et expriment des programmes génétiques distincts**. En effet, alors que l'oosphère et le zygote expriment un mélange des ARNm codant pour les facteurs de transcription **WUSCHEL HOMEODOMAIN 2 et 8 (WOX2 et WOX8)**, ces transcrits sont séparés au cours de la première division zygotique, **WOX2** étant désormais exprimé spécifiquement dans les cellules issues de la petite cellule apicale alors que l'expression de **WOX8** est caractéristique du développement précoce de la cellule basale de l'embryon. De même, à la suite de la première division asymétrique, seule la cellule apicale exprime le gène **ATML1** (*Arabidopsis thaliana* Meristem Layer 1), codant pour une protéine à homéodomaine alors que l'expression de **PIN7** (**PINFORMED7**) codant pour l'un des membres de la famille PIN intervenant dans les processus **d'efflux auxinique** est réduite à la **cellule basale**. Ainsi, la première division asymétrique du zygote, en ségrégant de manière différentielle les transcrits de certains gènes, crée deux cellules d'identité différente à l'origine de la polarité apico-basale.

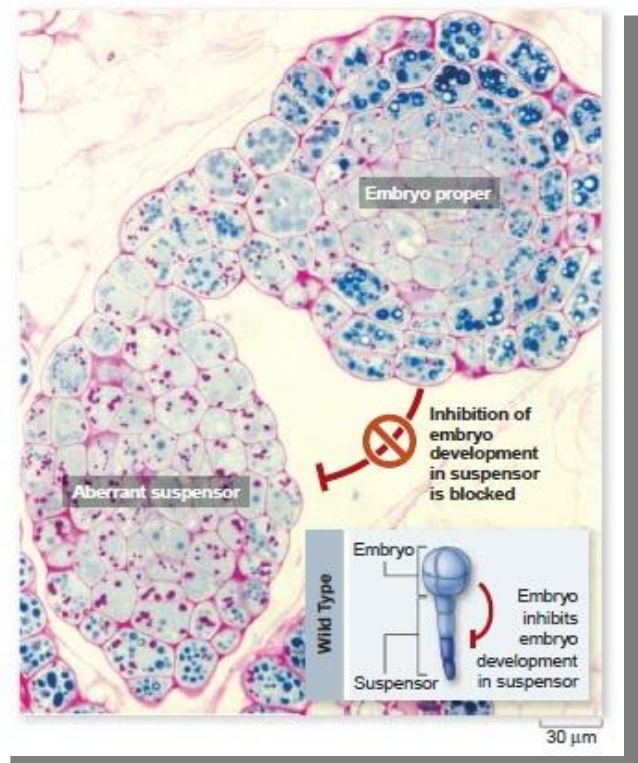


Fig. 3.11 : mutant *twin*

Cependant, étant donné que la cellule la plus apicale du suspenseur, l'hypophyse, participe à la formation du méristème racinaire de l'embryon, il semblerait que la cellule basale exprime, au moins en partie, le programme **embryogène**. Cette hypothèse semble être confirmée par l'observation de certains mutants comme *suspensor*, *raspberry 1* et *2* ou *twin* dont le suspenseur commence une série de divisions anormales prenant des caractéristiques embryonnaires après l'arrêt du développement de l'embryon. Ainsi, chez les mutants *suspensor*, des corps protéiques et lipidiques et des grains d'amidon s'amassent au niveau du suspenseur, alors que ceux-ci se limitent normalement à l'embryon. Chez les mutants *raspberry 1* et *2* le gène **AtLTP**, codant pour une protéine de transport lipidique exprimée normalement seulement dans le protoderme de l'embryon, est transcrit à la fois dans l'embryon et le suspenseur. Enfin, le suspenseur des mutants *twin* se redifférencie pour donner un embryon secondaire suite ou non à l'arrêt du premier (**Fig. 3.11**).

Ainsi, suspenseur et proembryon interagiraient : l'embryon signalerait au suspenseur de conserver son état différencié ; lors de l'arrêt du développement de l'embryon, comme pour les mutants *suspensor*, *raspberry*, et *twin*, cette signalisation est stoppée et le suspenseur adopte le programme génétique embryonnaire.

Alternativement, un équilibre de facteurs de croissance pourrait maintenir simultanément les devenir développementaux de l'embryon et du suspenseur.

4.1.2. Mise en place du méristème racinaire.

Le méristème racinaire (*Cf. Chapitre 2*), constitué d'un ensemble de cellules souches organisées en files, se forme à partir de 2 types cellulaires distincts : l'étage supérieur des cellules souches provient des cellules basales du proembryon, alors que l'étage inférieur dérive de l'hypophyse (cellule apicale du suspenseur) dont le développement serait induit par un signal provenant du proembryon probablement de nature auxinique (**AIA** et **TMO7**). L'hypophyse subit une division asymétrique générant une petite cellule apicale qui sera à l'origine du centre du méristème racinaire, dit centre quiescent, et une grande cellule basale qui formera la columelle dont la fonction est de protéger le méristème et de percevoir les stimuli gravitropiques (**Encadré 3.3**).

Le CQ, qui est composé de **4 cellules non cyclantes** encadrées par deux files de cellules souches, a pour rôle de maintenir l'état indifférencié des cellules souches adjacentes par le biais d'interactions locales méditées par un signal de nature inconnue (non autonome). Les cellules filles issues de l'étage supérieur des cellules souches contribuent à prolonger les files cellulaires de la racine.

La spécification correcte du groupe de cellules issues de l'hypophyse est indispensable à l'établissement du méristème racinaire comme l'indique l'absence d'apex racinaire dans les

mutants du ‘**groupe hypophysaire**’ tels que le mutant *hobbit*. Le gène **HOBBIT**, qui code pour une protéine semblable à la sous-unité **CDC27** du **complexe promoteur de l’anaphase**, pourrait être impliqué dans le processus de dégradation protéique. Les altérations dues à la mutation du gène **HOBBIT** pourraient être dues au fait que l’hypophyse ne répond pas correctement aux signaux potentiellement émis par le **proembryon**.

4.1.3. Mise en place du méristème apical caulinaire.

A un stade plus avancé du développement, à l’opposé du méristème racinaire, un ensemble de cellules se différencie pour donner le méristème apical caulinaire, lieu de production des organes aériens post-embryonnaires (**Fig. 3.10**). Ce méristème s’organise en 3 zones (**Fig. 3.12**) :

- ✚ la **zone centrale** composée en son sommet de cellules à division lente et à sa base d’un centre organisateur, véritable réservoir de cellules souches,
- ✚ la **zone périphérique** entourant la zone centrale et constituant le site d’initiation des primordia au niveau duquel les cellules filles provenant du centre organisateur se divisent rapidement,
- ✚ la **zone médullaire** constituée de cellules à division rapide qui contribuent aux tissus internes de la tige.

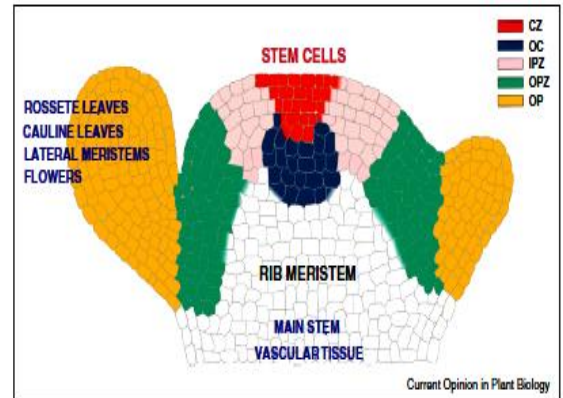


Fig. 3.12 : Structure du MAC

La formation du méristème apical est soumise à un système de régulation complexe, où le centre organisateur qui synthétise des signaux contrôlant la taille et le maintien du méristème, joue un rôle central (*Cf. Fig. 2.5 Chapitre 2*). Ainsi, l’expression du gène **WUSCHEL (WUS)** au sein de ces cellules permet de garder les cellules souches sus-jacentes dans un état indifférencié. En réponse, ces dernières expriment **CLAVATA3 (CLV3)**, qui diffuse vers les cellules avoisinantes jouant le rôle de ligand interagissant avec des récepteurs. **CLAVATA1 (CLV1)**, un récepteur à activité kinase, constituerait l’un de ces récepteurs putatifs qui, en induisant l’inhibition de **WUS** par rétrocontrôle négatif, limite l’expansion du centre organisateur.

D’autre part, le gène **STM** s’exprime au tout début de la formation du MAC. La protéine **STM**, qui fait partie de la première classe des facteurs de transcription **KNOTTED LIKE HOMEODOMAIN (KNOX)**, fonctionne indépendamment du **WUS** pour la spécification et le maintien de la taille du MAC, en inhibant l’expression des facteurs **MYB =ASYMMETRIC LEAVES 1 (AS1)** (Facteurs qui se forment dans les cellules des primordia des organes latéraux).

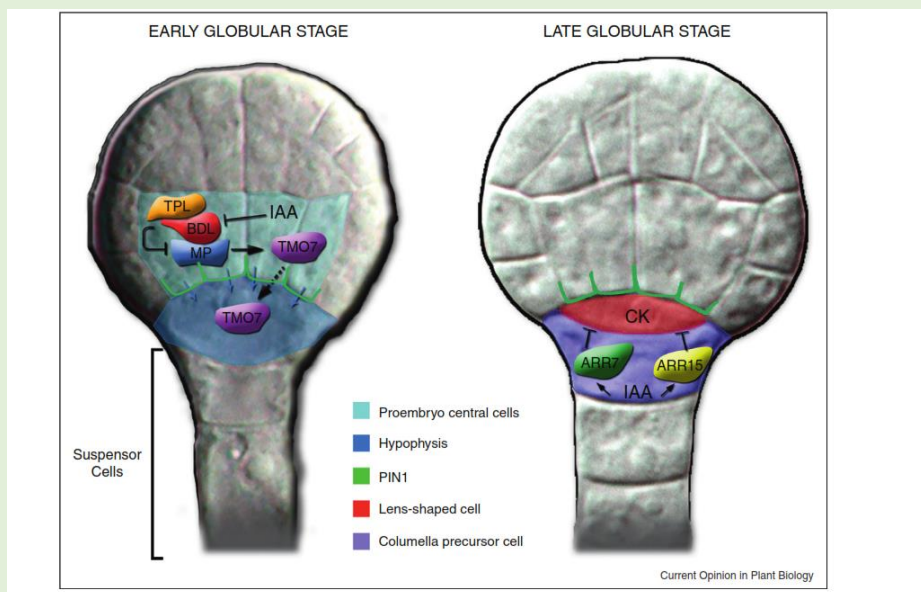
Encadré 3.1

Recrutement de l'hypophyse

Un point critique dans le développement embryonnaire de la racine chez *Arabidopsis* est le recrutement de la cellule supérieure du suspenseur, l'hypophyse, dans l'embryon proprement dit, où elle donnera naissance au QC et la COL de la racine. La formation d'un QC peut être considérée comme un point de départ pour la formation d'une racine fonctionnelle. **Les mutants qui ne parviennent pas à recruter l'hypophyse forme des plantules déracinées.** Un ensemble considérable de travaux a indiqué l'implication fort probable de l'**auxine** (principalement sous la forme de l'**acide indole-3-acétique, AIA**) dans le recrutement de l'hypophyse*.

Avant l'événement de recrutement, l'auxine est transportée depuis la région apicale vers le pôle basale de l'embryon, où elle cible le facteur de transcription des protéines Aux/IAA **BODENLOS (BDL)**, pour favoriser sa dégradation par les protéasomes. Les protéines Aux/IAA bloquent l'activité transcriptionnelle des protéines ARF (ARF = auxine response factor), et la dégradation de BDL permet donc à l'activateur transcriptionnel **ARF5/MONOPTEROS** d'activer les voies de transcription menant au recrutement de l'hypophyse. Cependant, puisque les gènes MP et BDL sont exprimés dans toutes les cellules sous-épidermiques et non pas dans l'hypophyse lui-même, cela veut dire que la spécification hypophysaire survient de manière « **non autonome** ». L'un des composants de ce mécanisme qui est le facteur de transcription **TARGET OF MONOPTEROS7 (TMO7)** migre depuis l'embryon proprement dit vers l'hypophyse.

Une fois défini, l'hypophyse subit une division péricle pour générer deux cellules ; la cellule supérieure, lentiforme, forme le **QC**, tandis que la cellule basale forme la **columelle** (Figure A). L'interaction entre les hormones végétales **auxine** et **cytokinines** contrôle la spécification de ces deux cellules. Il a été démontré que l'auxine supprime la signalisation-cytokinine dans la cellule fille basale via l'activation des **ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR type-A** (gènes ARR7 et ARR15), des régulateurs négatifs de signalisation-cytokinines (Figure 3).



Chez l'*Arabidopsis* le MAR se spécifie dès les stades précoces de l'embryogenèse.

(À gauche) au stade globulaire précoce, au milieu de l'embryon, l'auxine (AIA) dirige la dégradation par l'intermédiaire des protéasomes des **BODENLOS (BDL)**, facteurs de transcription des protéines Aux/IAA. En conséquence, le **MONOPTEROS (MP)** serait libéré de l'action inhibitrice du BDL et ses corépresseurs de transcription tels **TOPLESS (TPL)**, et active la transcription du **TARGET OF MONOPTEROS7 (TMO7)**. Le TMO7 se déplace (flèche noire pointillée) à partir de son site de synthèse vers la cellule supérieure du suspenseur où, avec l'auxine transportée par l'une des protéines **facilitateur de l'efflux d'auxine** ou **PIN-FORMED (PIN1)** (flèches bleues), il déclenche le recrutement hypophysaire (bleu).

(À droite) au stade globulaire tardif, après une division péricle de l'hypophyse, la cellule **lentiforme (rouge)** commencerait à se spécifier par la signalisation des cytokinines (CK) et donnerait lieu à la formation d'un QC. Inversement, dans la cellule fille basale (précurseur de la **columelle**, en **bleu-violet**) l'activité des cytokinines serait limitée par l'auxine (AIA) à travers l'activation de deux types de régulateurs de réponse A7 (**ARR7**) et A15 (**ARR15**), des répresseurs de signalisation des cytokinines.

*Boyer, F., Simon, R. (2015). [Asymmetric cell divisions constructing Arabidopsis stem cell niches: the emerging role of protein phosphatases](https://doi.org/10.1111/plb.12352). *Plant Biology*, 17: 935–945. doi: 10.1111/plb.12352

D'autre part, les gènes **CUC⁵**, **2** et **3** qui codent pour les facteurs des transcriptions de type **NAC** sont responsables de la formation des frontières qui séparent les cotylédons du MAC.

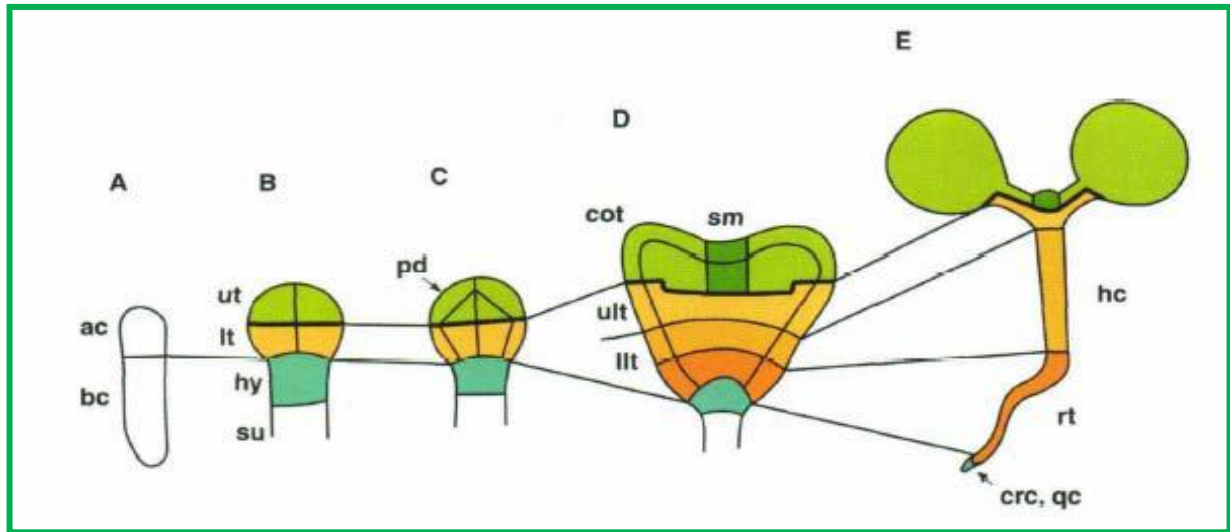


Fig. 3.13 : Mise en place du méristème apical caulinaire (Laux & Jurgens, 1997).

4.1.4. Gènes intervenant dans la mise en place de l'axe radial.

Le patron radial de l'embryon est composé de 3 tissus de base : le protoderme (précurseur de l'épiderme), le parenchyme et le tissu vasculaire. La délétion⁶ d'un tissu primaire pouvant être une cause de mortalité et les mutants affectés dans l'élaboration des tissus étant difficiles à identifier, seulement un très faible nombre de mutants présentant des défauts dans le patron radial a pu être isolé.

4.1.5. Gènes impliqués dans la spécification et le maintien du protoderme.

Au cours de la mise en place de l'axe radial, des programmes transcriptionnels distincts au sein des différentes couches tissulaires périclinales sont identifiables dès l'apparition des deux premières couches de cellules au stade dermatogène (16 cellules).

Les gènes **ATML1** et **PDF2** (Protodermal Factor 2), qui sont spécifiquement exprimés au niveau du protoderme dès le stade 16 cellules (**Fig. 3.14**), sont indispensables à la spécification et au maintien de l'identité de la couche externe dans la région apicale de l'embryon dont l'intégrité semble essentielle pour l'organisation des cellules sous-jacentes. Les transcrits de ces deux gènes sont répartis de manière homogène au sein de l'embryon jusqu'au stade octant ; étant donné la présence sur leur promoteur des sites de liaison aux protéines à homéodomaine de type **WUSCHEL**, leur confinement au sein des cellules protodermiques pourrait être lié à une inhibition de leur expression au sein des cellules internes au stade dermatogène par ces facteurs de

⁵ CUP-SHAPED COTYLEDON (*CUC*).

⁶ La délétion est la perte d'un fragment de chromosome.

transcription. De plus, en se liant à des éléments régulateurs de type L1-box des promoteurs de certains gènes, les protéines ATML1 et PDF2 contrôleraient l'expression d'autres transcrits présents plus tardivement au sein du protoderme tels que PDF1 (Protodermal Factor 1), LTP1 (Lipid Transfer Protein 1).

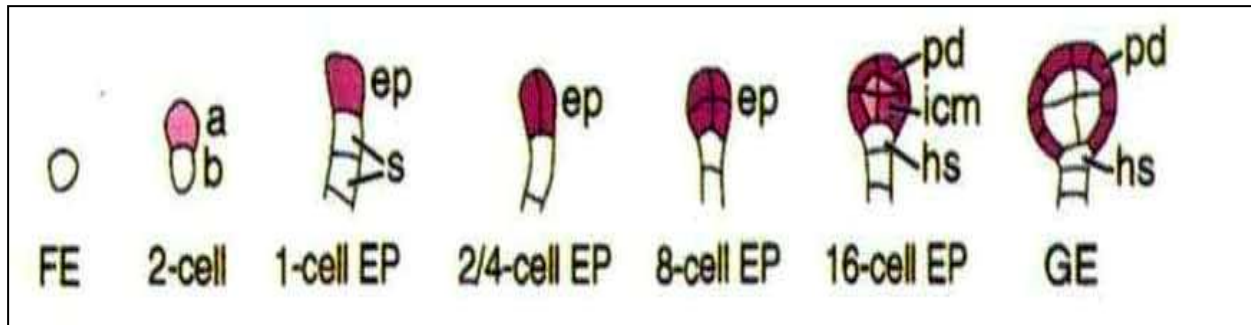


Fig. 3.14 : Stades précoces de l'embryogénèse montrant la formation de l'épiderme

Les gènes *KEULE* et *KNOLLE* d'*Arabidopsis thaliana* constituent deux autres gènes dont la mutation perturbe la différenciation tissulaire lors de l'établissement du protoderme. Les produits de ces deux gènes qui sont respectivement une protéine SEC1 et une SYNTAXINE, interagissent entre eux et sont indispensables à la séquestration, au transport et à la fusion des vésicules golgiennes lors de la cytokinèse.

4.1.6. Gènes impliqués dans la différenciation des tissus internes.

Chez les mutants *scarecrow* (*scr*), *short root* (*shr*) et *pinocchio* (*pic*), la division asymétrique du tissu parenchymateux générant le **cortex** et l'**endoderme** n'a pas lieu (Scheres *et al.*, 1995). Ces mutants ne présentent donc qu'une seule couche de cellules exprimant, selon les cas, **uniquement des caractéristiques du cortex** comme pour *shr* ou de **l'endoderme** pour *pic* ou les **propriétés des deux tissus** comme chez *scr* où les deux devenir cellulaires ont été établis mais ne se séparent pas, car les cellules du parenchyme ne se divisent pas. Contrairement au gène **SHR** qui semble réellement impliqué dans les processus de spécification du devenir cellulaire au sein de l'axe radial de l'embryon, les défauts observés chez le mutant *scr* seraient uniquement dus à la réduction du nombre de cellules, ces altérations pouvant être éliminées par une mutation *fass* à l'origine d'une augmentation du nombre de couches cellulaires. **SHR**, initialement exprimé au sein des cellules provasculaires, migre dans les cellules adjacentes du tissu parenchymateux où il induit **SCR** qui, suite à la division asymétrique de ce tissu, restera confiné dans l'endoderme.

4.1.7. Gènes intervenant dans l'établissement de la symétrie bilatérale : Mise en place des organes latéraux.

Au sein du méristème, les cellules filles générées par les divisions perpétuelles sont intégrées dans les *primordia* d'organes situés en périphérie. Alors que les gènes STM, WUS et CLV contrôlent le maintien de la zone méristématique, un autre pool de gènes régule la distribution des cellules au niveau des organes latéraux.

Différents gènes sont impliqués dans le recensement d'un groupe de cellules du méristème pour former un primordium. **SHOOT MERISTEMLESS (STM)** d'*Arabidopsis thaliana* (**KNOTTED1 (KNT1)** chez le maïs) en inhibant le facteur de transcription de type **MYB ASYMETRIC LEAVES 1 (AS1)** d'*Arabidopsis thaliana* (ou **ROUGH SHEATH (RS2)** chez le maïs), empêche la formation d'organes latéraux en maintenant les cellules dans un état méristématique. **L'inactivation du gène STM semble donc indispensable à la formation des primordia foliaires.** Cependant, les mécanismes de régulation menant à l'inhibition de ce gène n'ont pas encore été élucidés.

Un autre réseau de gènes incluant **CUP-SHAPED COTYLEDON⁷ 1, 2 et 3 (CUC1, 2 et 3)**, codant pour des facteurs de transcription de type **NAC**, permet de définir les limites des primordia et de mener à la formation d'organes distincts. Chez les dicotylédones, l'action de ces gènes, exprimés au niveau du point d'ancrage des futurs cotylédons de part et d'autre du méristème apical et inhibant la croissance au centre du domaine apical, permet de passer de la symétrie radiale de l'embryon globulaire à la symétrie bilatérale de l'embryon cœur. Ils interagissent également avec les gènes STM, PIN1 et MP selon des voies de régulation fines et complexes.

Résumé :

Le présent chapitre porte sur le développement reproducteur des plantes à fleurs, abordant successivement la gamétogenèse, la fécondation et l'embryogenèse. La gamétogenèse détaille la formation des gamétophytes mâles et femelles, avec une description précise des structures florales et des mécanismes impliqués dans la production des grains de pollen et des sacs embryonnaires. La fécondation, spécifique aux angiospermes, comprend la double fécondation aboutissant à la formation de l'embryon et de l'albumen. L'embryogenèse est décrite en trois phases : la morphogenèse établit les axes apico-basal et radial ; la phase de croissance accumule les réserves dans les cotylédons et l'albumen ; et la phase de dormance prépare la graine à la dissémination. Des mécanismes moléculaires et génétiques, incluant des gènes spécifiques comme *WOX*, *ATML1* ou *PIN1*, sont soulignés, reflétant la complexité et la régulation fine de ces processus.

⁷ Cotylédon en forme de coupe.

Questions de révision :

- Définissez la gaméto-genèse végétale et son importance dans la reproduction sexuée des angiospermes.
- Quels sont les rôles respectifs des sépales, pétales, étamines et carpelles dans une fleur ?
- Décrivez la structure et la composition d'un grain de pollen.
- Expliquez le processus de formation des grains de pollen (microsporogenèse et microgaméto-genèse).
- Quels sont les types principaux d'ovules et leurs différences structurelles ?
- Décrivez la structure et les étapes de développement du sac embryonnaire.
- Comparez les gamétophytes mâle et femelle des angiospermes en termes de structure et de fonctions.
- Quel est le rôle de l'exine et de l'intine dans les grains de pollen ?
- Quels mécanismes assurent la formation d'une tétrade dans les sacs polliniques ?
- Comment se forment les cellules fertiles dans le sac embryonnaire et quelles sont leurs fonctions respectives ?
- Qu'est-ce que la fécondation chez les plantes à fleurs, et quelles sont ses étapes principales ?
- Expliquez le processus de pollinisation et les différences entre autogamie et allogamie.
- Quels rôles jouent les protéines SCR et SLR dans l'adhérence du pollen au stigmate ?
- Décrivez les mécanismes de réhydratation et de germination du pollen.
- Comment le tube pollinique se développe-t-il après la germination du pollen ?
- Quels facteurs influencent la direction et la croissance du tube pollinique dans le pistil ?
- Expliquez les mécanismes chimiques et physiques qui guident le tube pollinique vers l'ovule.
- Quelles sont les différences entre acrogamie et chalazogamie ?
- Que se passe-t-il lorsque le tube pollinique atteint l'ovule ?
- Décrivez le processus de double fécondation chez les angiospermes.
- Quels sont les rôles des deux zygotes formés à la suite de la double fécondation ?
- Comment le pistil influence-t-il la germination du pollen et la croissance du tube pollinique ?
- Quel est le rôle de la phytosulfokine dans la communication entre le pollen et les tissus du pistil ?
- Pourquoi la double fécondation est-elle considérée comme une caractéristique unique des angiospermes ?
- Qu'est-ce que l'embryogenèse végétale, et quelles sont ses phases principales ?
- Expliquez les étapes de mise en place de l'axe apico-basal dans l'embryogenèse végétale.
- Quelle est l'importance de la première division asymétrique du zygote dans l'organisation de l'embryon ?
- Décrivez les structures et rôles des axes apico-basal et radial dans l'embryogenèse.
- Quels sont les événements clés du passage du stade globulaire au stade cœur chez *Arabidopsis thaliana* ?
- Comment se forment les méristèmes racinaire et caulinaire au cours de l'embryogenèse ?
- Expliquez le rôle du suspenseur dans le développement embryonnaire des plantes supérieures.
- Quels gènes sont impliqués dans la mise en place des axes apico-basal et radial, et quelle est leur fonction ?

- Quelle est la spécificité de l'embryogenèse végétale par rapport à l'embryogenèse animale ?
- Quels mécanismes contrôlent la formation des cotylédons et leur séparation dans l'embryon cœur ?
- Quelles sont les trois phases de l'embryogenèse et leurs caractéristiques principales ?
- Comment l'accumulation de réserves dans les cotylédons se produit-elle au cours du développement embryonnaire ?
- Quels sont les mutants étudiés pour comprendre les processus génétiques de l'embryogenèse (twin, raspberry, etc.), et que révèlent-ils ?
- Quel est le rôle de l'auxine dans la spécification du méristème racinaire chez *Arabidopsis thaliana* ?
- Comment et à quel stade la symétrie bilatérale de l'embryon est-elle établie à partir de la symétrie radiale ?
- Comment les axes apico-basal et radial sont-ils établis durant l'embryogenèse ?
- Quels gènes jouent un rôle clé dans la différenciation des tissus embryonnaires et le maintien des méristèmes ?

CHAPITRE 4

Contrôle physiologique (hormonal) du développement végétal

Les objectifs de ce chapitre :

- Définir la notion de phytohormones
- Présenter les principales classes de phytohormones
- Expliquer le rôle de chaque phytohormone dans la régulation du développement des plantes
- Décrire les modes d'action de chaque classe de phytohormones
- Illustrer par des exemples l'utilisation pratique de chaque phytohormone
- Etc.

1. Introduction

Le développement d'une plante ne se fait pas au hasard ni de façon anarchique. Il existe un système de régulation que l'on soupçonnait déjà complexe dans la seconde moitié du 20^{ème} siècle et qui se révèle de jour en jour encore plus complexe tout en commençant à livrer ses secrets. Ce développement harmonieux et reproductible est rendu possible grâce à des messagers chimiques internes à la plante qu'on appelle hormones végétales ou *phytohormones* (Encadré 4.1).

Encadré 4.1

Hormone végétale vs. Hormone animale

Les Phytohormones se distinguent des hormones animales en plusieurs points :

- Ce ne sont pas des protéines, et elles peuvent également se présenter sous forme de substances gazeuses comme l'éthylène.
- Leur production n'est pas assurée par des organes spécifiques de la plante (tout juste existe-t-il des zones de synthèse privilégiées).
- Leur effet varie en fonction de leur concentration (ex : à faible concentration 10⁻¹⁰ g/mL, l'auxine a un effet positif sur la croissance racinaire. À de fortes concentrations, 10⁻⁸ g/mL, elle inhibe l'élongation et induit la rhizogénèse).
- Elles agissent rarement seules : leurs effets résultent bien souvent d'une action coordonnée de plusieurs hormones (ex : stimulation de la division cellulaire grâce à l'action conjuguée de l'auxine et des cytokinines) ou d'effets antagonistes comme la levée de la dormance par l'équilibre acide abscissique et l'acide gibbérellique...

Etc.

I. AUXINE

1- Introduction

L'auxine est une hormone indispensable à la croissance et au développement des plantes. Initialement, elle faisait référence à l'acide indole-3-acétique (IAA). Par la suite, le terme a été élargi pour englober un ensemble de substances possédant des propriétés physiologiques similaires et une structure chimique apparentée, ainsi que des hormones de synthèse (Fig. 4.1)

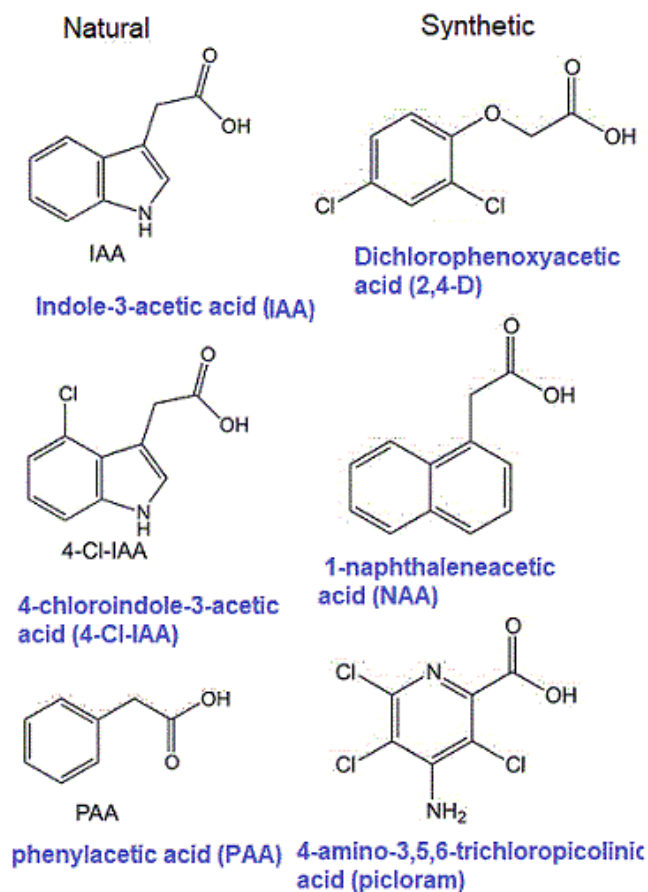


Fig. 4.1 : Des auxines naturelles et de synthèse

2- Biosynthèse et transport :

L'auxine est synthétisée dans les apex des tiges, les zones méristématiques, les jeunes feuilles des bourgeons terminaux et les graines en développement.

La biosynthèse de l'auxine (IAA) se fait souvent à partir de l'acide aminé Tryptophane suivant, au moins, deux voies : la voie de tryptamine (TAM) (3-(2-aminoéthyl)-indole) et la voie de l'acide indole-3-pyruvique (IPA) ([Santner et al., 2009](#)).

Produite préférentiellement dans les apex et les entre-nœuds des tiges/rameaux, l'auxine doit être distribuée dans l'ensemble des organes de la plante, y compris les racines où elle s'accumule. Se **transport polarisé acropète** via le phloème est assuré par une panoplie de transporteurs notamment les protéines PIN-formed, ATP-binding cassette (ABC) or PGP, AUXIN1/LIKE-AUX1(AUX/LAX).

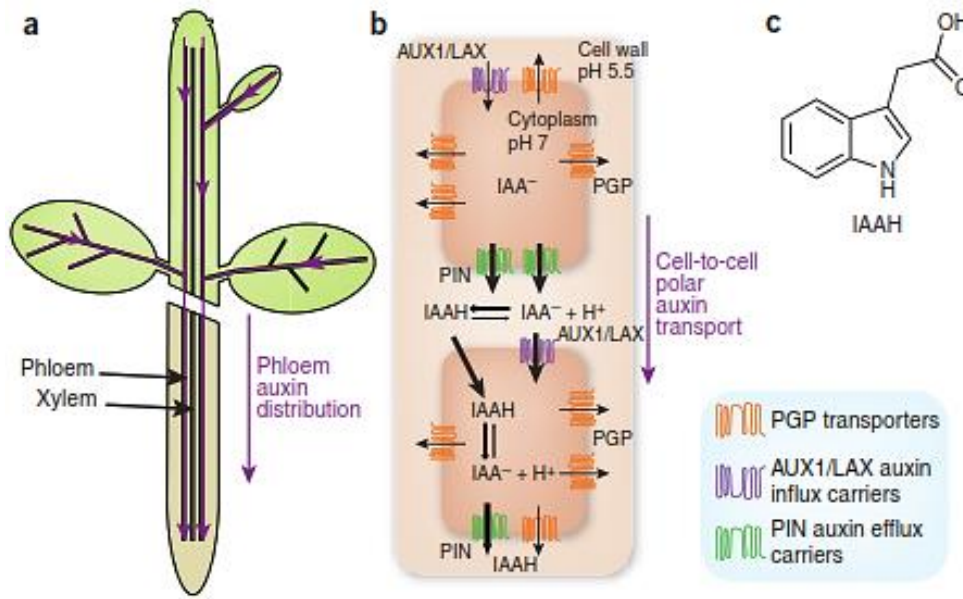


Fig. 4.2 : Un modèle pour le transport de l’auxine polaire (IAA) impliquant des transporteurs d’efflux d’auxine localisés dans la base (Robert & Friml, 2009).

Ce mode de transport (formation d’un gradient et un maxima d’auxine) semble avoir des conséquences sur l’organogenèse et intervient dans les phénomènes de tropisme propres aux plantes (Santner *et al.*, 2009). A titre d’exemple, l’initiation des feuilles sur le flanc du méristème apical caulinaire nécessite une accumulation localisée d’auxine au niveau du site de formation du primordium foliaire.

Le transport unidirectionnel de l’auxine, et aussi la position où se crée un maxima d’auxine, sont influencés par la répartition asymétrique des protéines de transport de l’auxine dans les cellules. Cette localisation est hautement dynamique et dépend à la fois des contraintes développementales et conditions environnementales (Santner *et al.*, 2009).

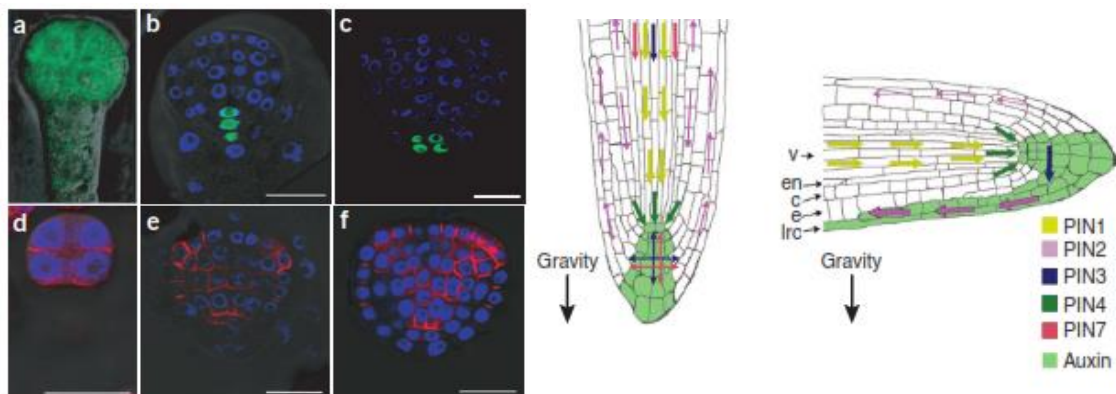


Fig. 4.3 : Localisation polaire dynamique des PIN pendant le développement de l’embryon et des racines (Robert & Friml, 2009).

3- Fonctions :

L'auxine joue un rôle clé dans le développement des plantes. A l'échelle cellulaire, l'IAA intervient dans la division, l'élongation et la différenciation des cellules. Tandis qu'au niveau des tissus elle est impliquée dans l'élongation des racines et la sénescence des organes (retarde la chute des feuilles).

Les auxines sont à l'origine de nombreux autres effets sur la plante dont les principaux concernent :

❶ la dominance apicale, ❷ la réponse tropique, ❸ la différenciation des tissus conducteurs, ❹ la promotion de l'activité cambiale, ❺ l'induction des racines adventives, ❻ l'inhibition de l'abscission des feuilles et des fruits, ❼ la stimulation de la synthèse d'éthylène, ❽ l'inhibition ou la promotion de la floraison et ❾ la stimulation du développement des fruits.

Il est à noter que l'action de l'IAA dépend très fortement à la fois de sa concentration et du tissu cible. Par exemple, une même concentration peut inhiber le développement d'un bourgeon alors qu'elle favorise l'élongation d'une tige. Selon les plantes, une même concentration appliquée sur le même organe peut avoir des conséquences différentes. Par exemple, l'auxine stimule la croissance du limbe chez les monocotylédones alors qu'elle inhibe sa croissance chez les dicotylédones.

Encadré 4.2

Histoire de la découverte de l'auxine

Les premiers travaux de recherches conduits sur l'auxine remontent à 1880 environ, lorsque Francis Darwin et son père Charles ont publié leur livre «The power of movement in plants» dans lequel ils ont présenté leurs travaux sur la courbure des coléoptiles d'avoine (*Avena sativa* L) induite par la lumière unilatérale (phénomène appelé plus tard phototropisme) (Fig. A). Couper le bout du coléoptile ou le recouvrir par un capuchon opaque empêchait toute courbure. Trente ans plus tard, Boysen-Jensen sépara l'apex du coléoptile de la tige par un bloc de gélose (Fig. B). Le coléoptile se courbant toujours vers la lumière, il en déduit que la substance induisant la courbure a migré à travers le bloc. En 1919 Paal puis en 1923 Soding réalisent des expériences complémentaires. Ils reprennent l'idée de Boysen-Jensen en remplaçant le bloc de gélose par des blocs de mica et de platine puis par du beurre de cacao. La plante ne se courbant pas vers la lumière, ils en déduisent que le signal n'est ni électrique ni liposoluble mais hydrosoluble.

La molécule d'auxine naturelle fut finalement découverte en 1926 par Went. Il dépose des bouts de coléoptiles sur des blocs de gélose afin que l'auxine migre dans ceux-ci (Fig. C). Il s'assure de la migration en déposant ces blocs sur l'un des côtés du bout de tiges qu'il a préalablement décapitées. Malgré une obscurité totale, ces tiges se courbent par une croissance du côté où le bloc a été déposé. Enfin la structure chimique de l'auxine est définitivement identifiée en 1931-34 par Kogl et Haagen-smit.



Fig. A

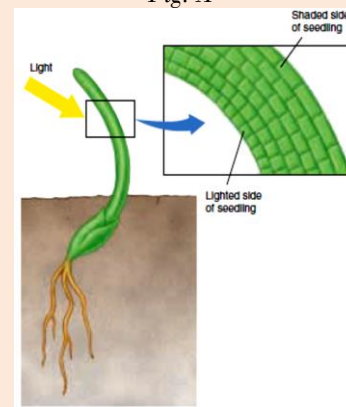


Fig. B

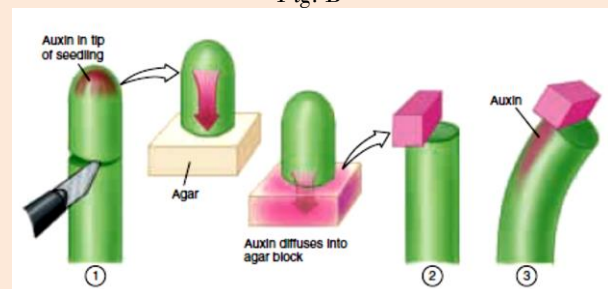


Fig. C

▪ Élongation cellulaire :

L'auxine favorise la croissance en longueur en agissant sur l'élongation cellulaire ou **auxèse**. Ce mode d'action de l'auxine est relativement bien connu. Incapable de pénétrer dans les cellules (sous sa forme déprotonée IAA^-), l'auxine est perçue par un récepteur **ABP1**, et agit probablement via une **protéine G** qui par l'intermédiaire de l'**adénylate cyclase** fait augmenter la concentration intracellulaire en ions Ca^{2+} et en AMPc ce qui active une cascade de réactions (notamment celle des **MAP**, Mitogen Activating Protein) stimulant la division cellulaire mais aussi l'activation et la production de **pompes à protons (PM H^+ -ATPases)**. Ces pompes expulsent des protons dans le milieu extracellulaire ce qui fait diminuer le pH dans la paroi et augmenter le potentiel de la membrane (la tension entre les deux côtés de la membrane devient est plus forte). Il s'agit de l'hypothèse de «*la croissance acido-dépendante*». L'acidification de la paroi a pour conséquence d'activer les expansines (enzymes) qui coupent les liaisons hydrogène entre les microfibrilles de cellulose et d'autres composants de la paroi cellulaire (hémicelluloses). L'armature de cellulose se relâche et les polysaccharides de connexion sont séparés, grâce aux enzymes de la paroi cellulaire qui peuvent y accéder plus facilement. La paroi devient plus extensible. L'efflux des protons favorise aussi l'entrée d'ions potassium qui vont, par un mécanisme d'osmose, induire l'entrée d'eau dans la cellule, d'où une augmentation de la pression de turgescence qui s'applique sur la totalité de la paroi par l'intermédiaire du cytoplasme. La cellule peut alors « s'étirer ». Tous ces facteurs concourent à l'allongement cellulaire lorsque la pression de la turgescence dépasse l'élasticité de la paroi végétale (**Fig. 4.4**).

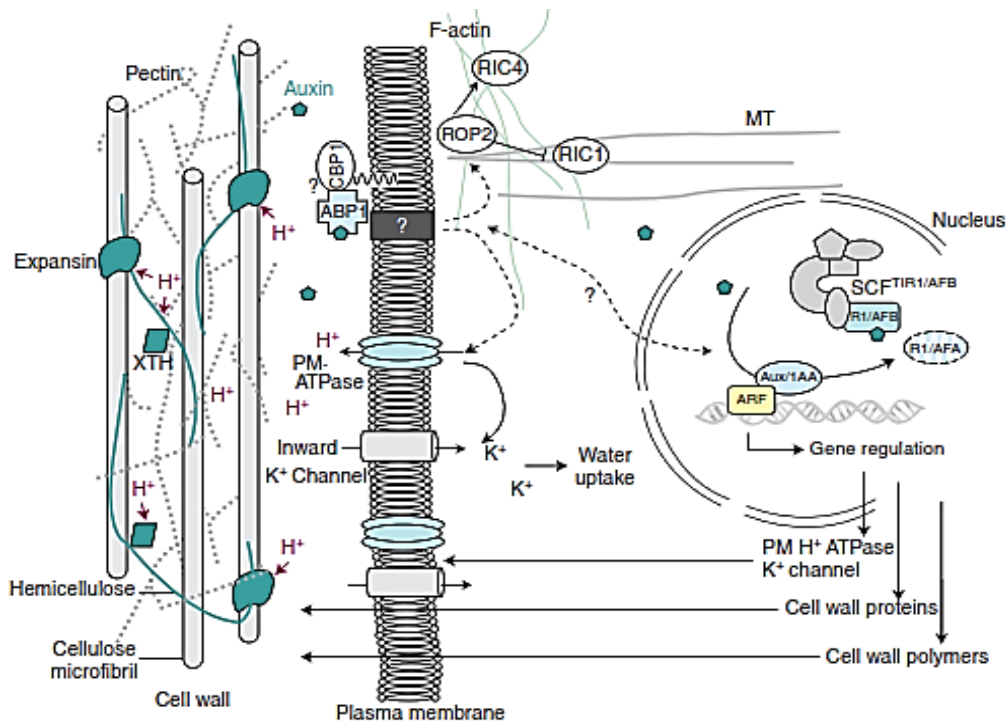


Fig. 4.4 : L'expansion de la paroi cellulaire provoquée par l'auxine (Perrot-Rechenmann, 2010).

▪ **Contrôle de la dominance apicale :**

En synergie avec les cytokinines, auxine participe à la néoformation des bourgeons. En revanche, elle s'oppose à leur débourrement : c'est le principe de la **dominance apicale**. Le bourgeon apical profite de sa position haute pour dominer les bourgeons latéraux. Il synthétise de l'auxine (apex) qu'il évacue via le phloème. Les bourgeons sous-jacents subissent alors des concentrations en auxine trop fortes qui sont inhibitrices.

4- Mode d'action de l'auxine (à l'échelle moléculaire) :

Dans tous ces processus l'auxine agit à travers la modulation de l'expression de gènes cibles. On a identifié chez les gènes de réponse à l'auxine des séquences *cis* régulatrices appelées "**Auxin Response Elements**" (**AuxRE**) qui se caractérisent par la présence d'un motif conservé **TGTCTC**. Les protéines qui se lient à ces domaines régulateurs appartiennent à la famille multigénique de facteurs de transcription de type "**Auxin Response Factor**" (**ARF**). Toutes les protéines ARF ont un domaine N-terminal conservé de liaison à l'ADN et un domaine C-terminal de **dimérisation**, excepté ARF3 qui contient seulement le domaine de dimérisation.

Il a été démontré que les ARF régulent l'activité transcriptionnelle des gènes de réponse précoce à l'auxine (Saur, GH3 et Aux/IAA) en se liant aux éléments *cis*-régulateurs de type **AuxRE** présents au niveau des promoteurs de ces gènes cibles.

Une deuxième famille de gènes de réponse à l'auxine code pour les **protéines nucléaires de type Aux/IAA** qui se caractérisent par une demi-vie courte et une réponse très rapide à l'auxine. Les protéines Aux/IAA présentent 4 domaines conservés caractéristiques de cette famille. Les Aux/IAA sont homologues dans leur partie C-terminale au domaine de dimérisation des ARF mais elles sont dépourvues de domaine de liaison à l'ADN. En effet il a été montré que ces protéines peuvent former des hétérodimères avec les ARFs¹, ce qui entraîne l'inhibition de ces dernières et confère de ce fait aux Aux/IAA un rôle répresseur de la réponse à l'auxine.

Le domaine I des Aux/IAA contient un motif fonctionnel répresseur alors que le domaine II permet l'interaction avec le complexe de dégradation ubiquitine2-protéasome qui constitue le mécanisme central de fonctionnement de la signalisation auxinique. La découverte récente que **TIR1**³, une protéine de type **F-box**, est un récepteur fonctionnel de l'auxine qui se lie aux Aux/IAA

¹ ARFs directly bind DNA and either activate or inhibit transcription depending on the type of ARF. The Aux/IAA proteins bind to the ARFs and repress auxin-regulated transcription by recruiting a co-repressor called TOPLESS (TPL).

² L'ubiquitination est un processus biochimique essentiel qui se produit dans toutes les cellules et se traduit par l'ajout d'une petite protéine appelée ubiquitine à diverses protéines cellulaires. C'est en fait un processus d'« étiquetage ». Les protéines ainsi « étiquetées » sont identifiées comme n'étant plus nécessaires, ce qui mène à leur destruction.

³ The ubiquitin-proteasome pathway, and an SCF (Skp, Cullin, F-box containing complex) in particular, was initially implicated in auxin response with the isolation and characterization of an auxin-resistant mutant in Arabidopsis called transport inhibitor response 1 (*tir1*). The *TIR1* gene encodes an F-box protein that interacts directly with Aux/IAA proteins.

en présence d’auxine constitue un progrès considérable dans la compréhension du mode d’action de cette hormone. (Fig. 4.5 & 4.6).

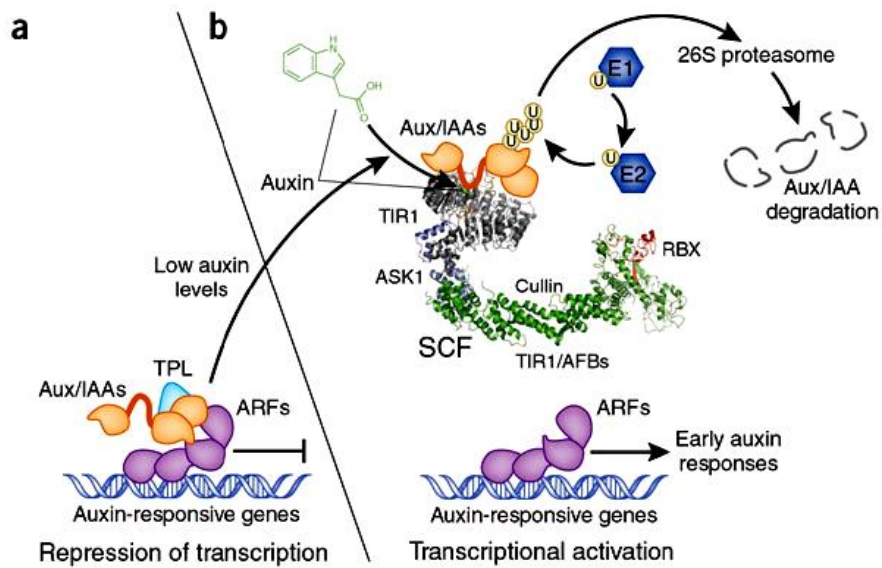


Fig. 4.5 : Modèle de signalisation auxinique. SCFTIR1 et les complexes SCF associés se lient à l’auxine et ciblent les protéines Aux/IAA pour la dégradation. (a) À de faibles niveaux cellulaires d’auxine, la transcription des gènes de réponse auxine est réprimée par les Aux/IAA. (b) Lorsque les niveaux cellulaires d’auxine augmentent, l’auxine se lie à TIR1, augmente son affinité pour les Aux/IAA et favorise leur ubiquitination (Encadré) et leur dégradation ultérieure, permettant ainsi aux protéines ARF de déclencher la transcription (Santner et al., 2009).

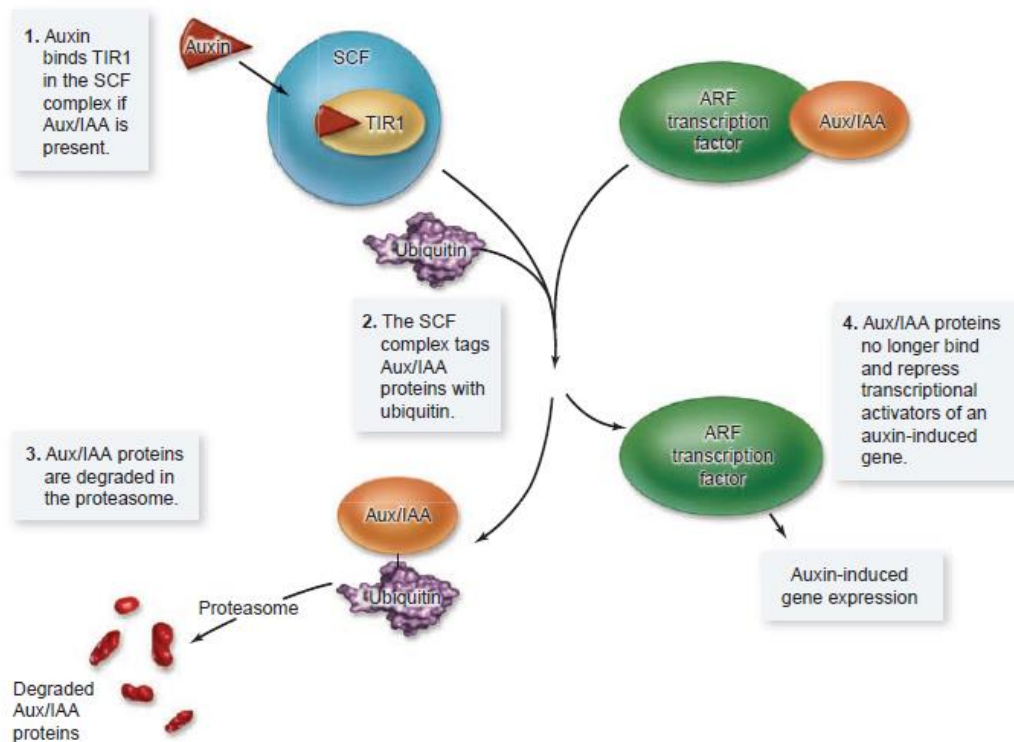


Fig. 4.6 : Schéma récapitulatif de la régulation de l’expression des gènes par l’auxine.

II. CYTOKININES

1- Introduction

Les cytokinines sont des composés phényl-urée dérivés de la N-Adénine, originellement découvertes dans les années 1955 par *Carlos Miller et ses collaborateurs.*, suite à leur effet promoteur sur la division cellulaire. La zéatine (Z), la dihydrozéatine (DHZ) et l'isopentényl-Adénine (IP) sont les cytokinines les plus communes chez les plantes. La zéatine a été la première cytokinine naturelle extraite à partir des grains de maïs non mûrs par Miller et Letham en 1963, et peut exister en configuration *cis* ou *trans* (Fig. 4.7). Ces formes peuvent être interconverties par une enzyme connue sous le nom de zéatine isomérase. La forme *trans* est biologiquement plus active, bien que la forme *cis* ait été trouvée à des niveaux élevés chez un certain nombre d'espèces végétales. Les cytokinines peuvent être présentes dans les plantes sous forme de ribosides (dans lesquels le sucre ribose est attaché à l'azote 9 du cycle purique), de ribotides (dans lesquels la fraction sucre ribose contient un groupe phosphate) ou de glycosides (dans lesquels une molécule de sucre est attachée à l'azote 3, 7 ou 9 du cycle purique).

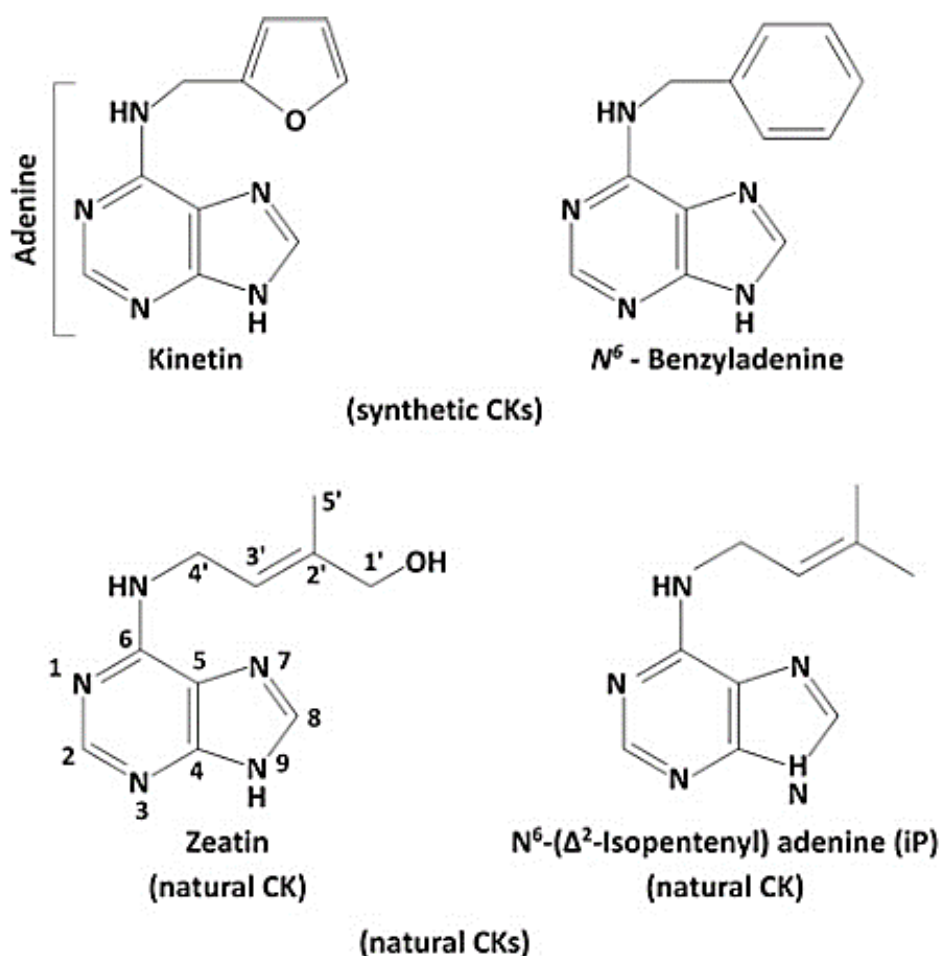


Fig. 4.7 : Structures de quelques cytokinines naturelles et synthétiques (CK) (Kalra & Bhatla, 2018)

Encadré 4.4

Histoire de la découverte

*La première cytokinine a été découverte à partir de l'ADN du spermatozoïde de hareng (un poisson gras du genre *Clupea*) par Miller et al. en 1955.*

Dans les années 1940 et 1950, Skoog et ses co-chercheurs ont testé de nombreuses substances pour leur capacité à initier et à maintenir la prolifération des tissus de moelle de tabac cultivés. Ils ont observé une stimulation de la division cellulaire lorsque le tissu de moelle cultivé était traité avec de l'ADN de spermatozoïde de hareng autoclave. Cela a indiqué que le produit de dégradation de l'ADN provoquait une stimulation de la division cellulaire dans la culture de moelle de tabac. Ce composé a été identifié comme étant de la kinétine car il provoquait une cytokinèse.



Carlos Miller (left) at the University of Wisconsin with members of the Skoog lab.

2- Biosynthèse et transport des cytokinines :

Deux voies ont été proposées pour la biosynthèse des CK. La voie directe implique la formation de N6-isopentyladenosine monophosphate (iPMP) à partir de 5'-AMP et de pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP), suivie d'une hydroxylation de la chaîne latérale pour former des composés de type zéatine. La synthèse des CKs est contrôlée de manière assez compliquée et inclut l'intervention des autres hormones comme l'auxine et l'ABA.

Le méristème apical racinaire semble être le site majeur de biosynthèse des CKs chez les plantes, d'où les cytokinines sont transportées par le xylème vers les tiges et les feuilles (Kalra & Bhatla, 2018).

3- Fonctions :

Les cytokinines sont impliquées dans différents processus physiologiques et de développement comme : la division cellulaire, la germination, le fonctionnement des méristèmes apicaux (MAC et MAR), la régulation de la croissance des racines et des boutons floraux, la formation des bourgeons latéraux, retarder la sénescence des feuilles et la réponse aux stress et aux pathogènes.

L'application exogène des cytokinines retarde la sénescence des feuilles et peut libérer les bourgeons latéraux de la dominance apicale.

D'autre part les cytokinines sont impliquées dans la formation des nodules racinaires de fixation de l'azote ainsi que dans d'autres interactions plantes-microorganismes.

4- Mode d'action :

La signalisation des cytokinines est similaire à la signalisation dite à **deux-composés** qui est largement fréquente chez les bactéries. Dans le système deux-composés, la fixation du ligand initié une phosphorylation dirigée par les deux **enzymes histidine et aspartate kinases** (**Fig. 4.8**).

La cytokinine est perçue par un complexe de kinases. L'histidine kinase CRE1/AHK4 a été le premier récepteur de cytokinines qui soit identifié. Les HKs (AHKs) sont des protéines de transmission du signal connues comme "*Arabidopsis histidine phosphotransfer proteins*" (**AHP**). La kinase réceptrice se localise dans la membrane avec un domaine extra cellulaire de reconnaissance ou *senseur*. Ce senseur se dimérise quand le ligand est présent puis s'autophosphoryle en une **histidine du domaine cytoplasmique**, qui est le domaine *transmetteur*. Les protéines AHP transmettent le signal du récepteur aux régulateurs de réponse **ARR** (**Fig. 4.8**). Les ARR existent sous deux formes A et B. Les gènes du type A sont rapidement induits en présence de cytokinines. L'expression du type B n'est pas influencée par les cytokinines et le type B se trouve en amont du type A dans la voie de signalisation. Une fois le signal des cytokinines détecté, certains ARR sont localisés spécifiquement et transitoirement dans le noyau, ce qui suggère qu'il s'agit de protéines cytoplasme-noyau fonctionnant comme des navettes ou "**shuttles**". Il existe dans le génome d'*Arabidopsis* 22 gènes ARR. Les ARRs de type A régulent l'expression des gènes en réponse au signal cytokinique.

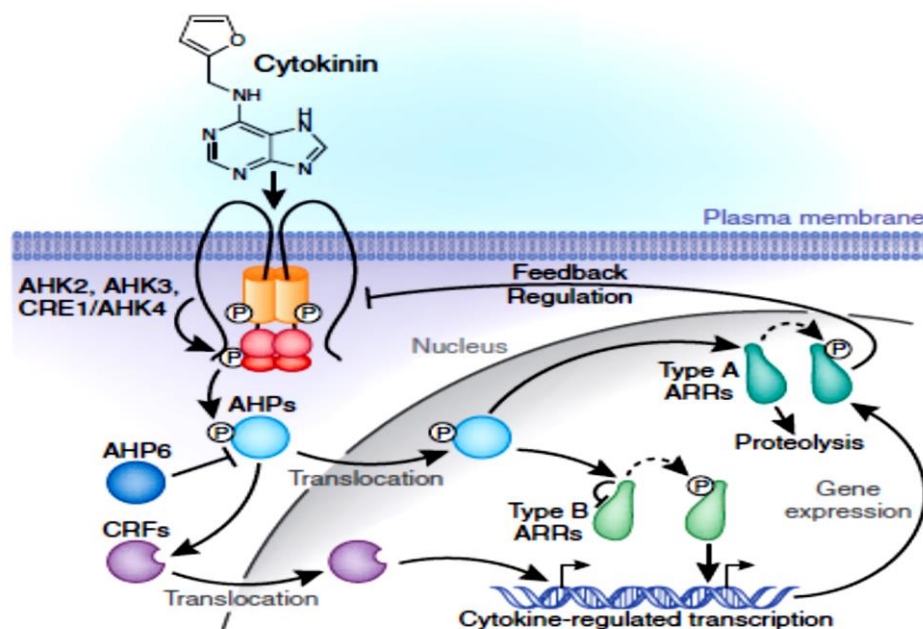


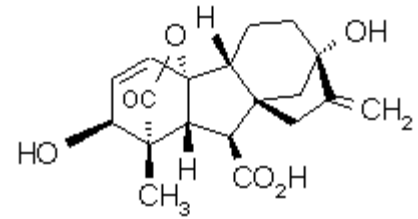
Fig. 4.8 : Modèle de transduction du signal des cytokinines.

La cytokinine est d'abord perçue par les récepteurs du plasmalemme AHK. Le signal de cytokinine est amplifié par les événements à partir de phosphorylation des AHK, qui conduisent à l'activation et la translocation nucléaire des protéines AHP. Protéines AHP transfèrent le groupe phosphorylé sur les protéines ARR de type A ou de type B. Les premiers jouent le rôle de répresseurs de la signalisation aux cytokinines, tandis que les derniers fonctionnent en tant que régulateurs positifs de la transcription des gènes induits par les cytokinines, y compris ceux des ARRs de type A. Protéines CRF sont également activées par les cytokinines, et après translocation vers le noyau elles agissent comme des activateurs des gènes régulés par les cytokinines (*Santner et al., 2009*).

III. GIBBERELLINES

1- Introduction :

Les gibbérellines (GA) sont des composants diterpénoïdes tétracycliques (le noyau gibbérellane ou gibbane) et forment une grande famille de régulateurs de croissance chez les plantes. Au total, près de 126 gibbérellines différentes ont été identifiées jusqu'à présent chez les plantes supérieures, les bactéries et les champignons.



Les GA furent mis en évidence pour la première fois par le phytopathologiste *Eiichi Kurosawa* en 1926, puis isolées en 1938 par les chimistes japonais (*Yabuta & Sumiki*) à partir d'un champignon pathogène qui parasite le riz appelé : *Gibberella fujikuroi*. Toutes les GA sont des acides faibles et généralement abrégées par GA (pour l'acide gibbérellique), avec un indice différent (GA1, GA2, et ainsi de suite) pour distinguer chacune d'entre elles.

2- Lieu de synthèse et fonctions :

Les gibbérellines sont synthétisées dans les **jeunes tissus de la tige et les graines en développement**. Elles sont associées à différents processus de développement des plantes comme la germination, l'élongation des tiges, la floraison, le développement des fruits et la régulation de l'expression génique dans la couche d'aleurone des céréales.

- Des études récentes chez le riz ont montré que les GA synthétisées par les anthères et dans les embryons en développement sont transportées pour contrôler la croissance d'autres organes floraux et des fruits.
- De façon similaire, les GA produites dans l'embryon pendant la germination sont transmises aux cellules de l'aleurone ou elles induisent l'expression des enzymes hydrolytiques (ex., α -amylase)(Cf. TP/TD N°4).
- Les GA sont des antagonistes de la fonction de l'ABA dans les graines. Des analyses du transcriptome de la germination d'*Arabidopsis* suggèrent que les GA diminuent l'expression des **ABRE**⁴ et par conséquent, induisent la germination (*Ogawa et al., 2003*).
- Chez la tomate, les GA induisent la sortie de la radicule à travers la graine et induisent aussi l'expression des expansines et des gènes de modification de la paroi cellulaire.
- L'application de certaines gibbérellines à des mutants nains est connue pour rétablir la croissance et le développement normal dans de nombreuses plantes (**Fig. 4.9**). Certains mutants nains sont incapables de produire des quantités suffisantes de gibbérellines, d'autres n'ont pas la capacité de répondre à l'action des gibbérellines.

⁴ ABA responsive binding elements

- La synthèse de l'ADN ne semble pas se produire au cours des premiers stades de la germination des graines, mais elle devient importante lorsque la radicule a grandi à travers les téguments.
- Dans certains cas, les GAs promouvaient la germination des graines, apparemment en substituant aux effets de besoins en froid ou en lumière. Gibbérellines sont utilisées commercialement pour augmenter l'espace entre les fleurs de raisin en étendant la longueur des entre-nœuds, de sorte que les fruits auront plus d'espace pour s'accroître. Le résultat est une plus grande grappe de raisin contenant des fruits plus gros (**Fig. 4.10**).



Fig. 4.9 : Effets des gibbérellines sur un mutant nain.



Fig. 4.10 : L'application des gibbérellines augmente l'espace entre les raisins.

3- Biosynthèse :

Les GAs sont synthétisées à partir de l'acide mévalonique (l'HMG-CoA⁵ réductase) ou plus exactement de geranylgeranyl diphosphate (GGPP). La synthèse aura lieu en trois étapes dans trois compartiments cellulaires :

- Dans les plastes il se forme le GGPP à partir du GA3P. Le GGPP subit alors des processus de cyclisation conduisant à la formation de **l'ent-kaurène** qui sort dans le cytosol.

⁵ HMG : hydroxy-méthyl-glutarate, synthèse des stérols (cholestérol)

- Après quelques réactions d'oxydation dans le réticulum endoplasmique. Des réactions sont menées par des enzymes monooxygénases dépendantes du cytochrome P450 associé à la membrane du réticulum. Le **kaurène** forme la **GA12**, première gibbérelline de la voie, précurseur de toutes les autres.
- Synthèse de toutes les autres gibbérellines dans le cytosol, ce fait grâce à des dioxygénases solubles. S'opèrent des changements chimiques d'hydroxylation et d'oxydation. **La GA1 est la première gibbérelline active.**

4- Mode d'action :

La transmission du signal des GA vers le noyau dépend directement de la présence ou de l'absence de protéines appelées DELLA, lesquelles sont considérées comme des “switch” moléculaires de la signalisation des GA.

Les protéines DELLA sont des régulateurs transcriptionnels localisées dans le noyau où elles suppriment la continuation du signal GA et sont rapidement dégradées en présence de ce signal. Les protéines DELLA semblent ne pas avoir des domaines d'interaction avec l'ADN mais il semblerait qu'elles fonctionnent comme des transactivateurs, ce qui implique qu'il doit sûrement exister d'autres facteurs qui interagissent avec ces protéines et qui contiennent un motif de liaison à l'ADN (**Fig. 4.11**).

Le récepteur des GA dans le riz vient d'être mis en évidence ([Ueguchi-Tanaka et al., 2005](#)). Le **GID1** (Gibberellin Insensitive Dwarf 1), est localisé dans le noyau et fixe les gibbérellines bioactives. L'interaction entre l'hormone et son récepteur mène au marquage par ubiquitine des répresseurs DELLA, ce qui promouvoir la transcription de gènes associés aux gibbérellines. **GID1** est un membre de la famille des lipases sensibles aux hormones (HSL, hormone-sensitive lipase).

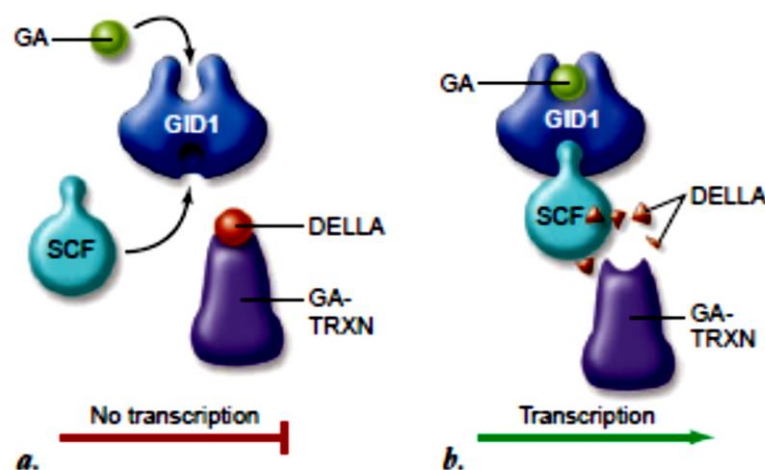


Fig. 4.11 : Les gibbérellines activent les facteurs de transcription gibbérelline-dépendant (GA-TRXN). A. un GA-TRXN ne peut pas se lier à un promoteur quand il est lié aux protéines DELLA. B. GA active un complexe protéique qui dégrade les protéines DELLA, libérant GA-TRXN. En se liant à un promoteur, GA-TRXN induit la transcription des gènes.

IV. ACIDE ABSCISSIQUE

1. Introduction :

L'acide abscissique (ABA)⁶ ou l'hormone de stress, appartient à la grande famille des **isoprénoïdes (sesquiterpènes = C15)**. Comme son nom l'indique, ABA est un composé impliqué dans l'abscission, c'est-à-dire la chute des feuilles et des fruits. En dehors de cette propriété qui a été à l'origine de sa découverte dans le cas des fruits du Cotonnier, l'ABA est surtout un inhibiteur de la croissance végétale. Il s'oppose en particulier aux effets des GA en freinant par exemple la croissance des entre-nœuds et en maintenant la dormance des bourgeons et des semences.

2. Lieu de synthèse

L'ABA est synthétisée dans les racines (coiffe) et les **feuilles adultes** (dans les plastes), particulièrement en réponse à un stress hydrique. L'ABA est transporté par le phloème depuis les feuilles.

3. Biosynthèse :

Comme les GA, l'ABA est un dérivé terpénique (sesquiterpène)⁷. Acide faible qui a pour origine la polymérisation de deux précurseurs à cinq atomes de carbone : **l'isopentényl phosphate (IPP)** et son isomère, le **diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP)**. Ainsi l'IPP est une molécule centrale du métabolisme. Elle est le précurseur de nombreux composés comme les caroténoïdes, les quinones, les chaînes de chlorophylles, les GA, les stérols ou les cytokinines (**Cunningham & Gantt, 1998**).

4. Fonctions

L'ABA fonctionne dans de nombreux processus de développement, y compris :

- Inhibition de la croissance cellulaire.
- Régulation de l'abscission des feuilles, des fleurs et des fruits ;
- Régulation du transport des produits de la photosynthèse des feuilles vers les graines en développement ;
- Induction de la synthèse des protéines de réserve dans les graines ;
- Régulation de la dormance des bourgeons et des graines de certaines espèces.
- Inhibition de la germination des graines (dormance, *Cf.* Annexe 3)
- Régulation du fonctionnement des stomates en situation de stress.

⁶ Mis en évidence par Addicot et al., 1963

⁷ ABA est capable de franchir les systèmes membranaires cellulaires en fonction de son état d'ionisation. Par conséquent, aucun système de transport ne lui est spécifique.

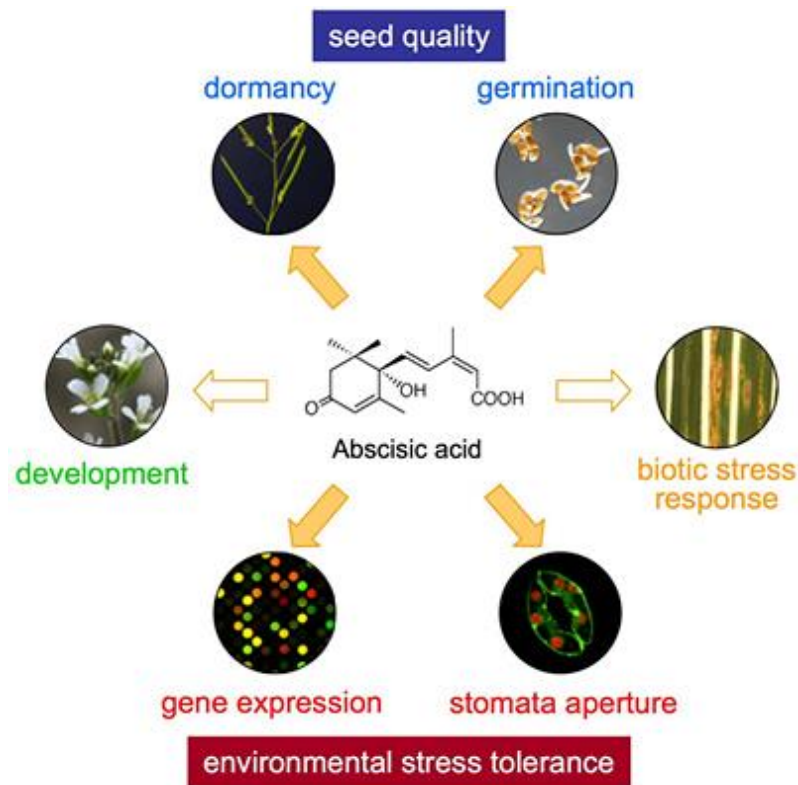


Fig. 4.12 : Principaux effets de l'ABA.

Autres fonctions de l'ABA :

- a. L'ABA joue un rôle important dans le contrôle de la dormance des bourgeons.
- b. Il est impliqué dans la dormance des semences. La figure ci-dessous montre la germination des graines de maïs sur l'épi en développement dans un mutant *vivipare* (voir l'Encadré 4.5)
- c. L'ABA est impliqué également dans le contrôle de l'ouverture et la fermeture des stomates notamment en conditions de stress hydrique.

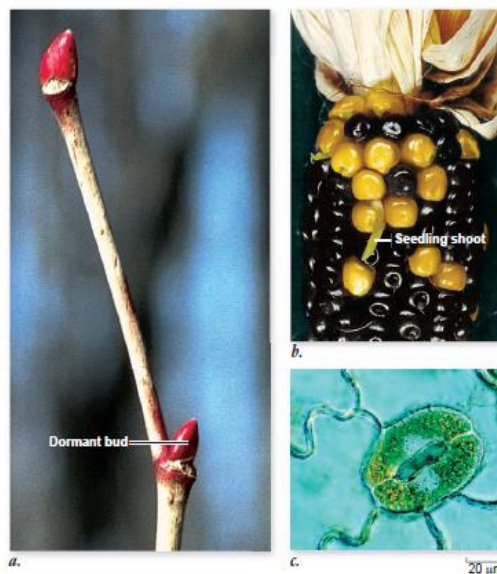


Fig. 4.13 : Autres fonctions de l'ABA

5. Mode d'action :

Les plantes soumises à des conditions de sécheresse et de stress osmotique produisent de l'ABA comme un signal endogène de réponse adaptative au stress (Zhu, 2002). Une analyse de l'expression des gènes qui répondent à un stress osmotique montre que ces gènes sont activés par des voies dépendantes et indépendantes de l'ABA. L'ABA est détecté par un récepteur spécifique (**PYR/PYL/RCAR**)⁸ qui transmet le signal aux canaux de Ca²⁺ présents dans la membrane plasmique via une protéine kinase associée à la membrane (**Fig. 4.14**). L'ABA induit aussi un signal redox par l'activation du *NADPH oxydase* et la *nitrate réductase* (NR) en produisant respectivement du H₂O₂ et du NO⁹. Par exemple, une augmentation de la concentration de H₂O₂ et de NO se produit dans les cellules de garde avant la fermeture des stomates induite par ABA. Les gènes induits par l'ABA sont régulés par des protéines **bZIP**¹⁰ et des facteurs de transcription de la famille d'**APETALA2 (AP2)**. Les protéines bZIP interagissent avec les éléments de réponse à l'ABA (**ABRE**¹¹) et les AP2 dans le promoteur.

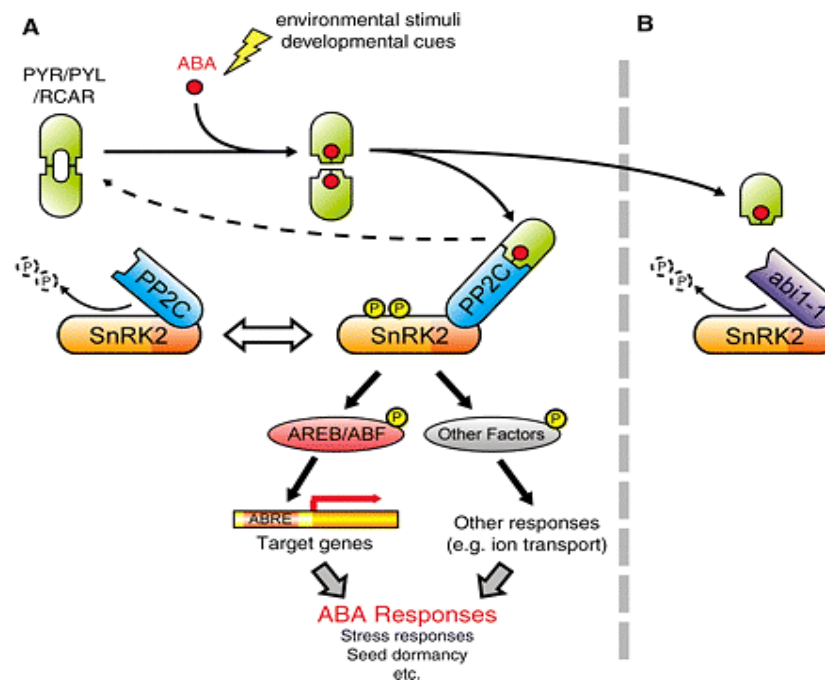


Fig. 4.14 : Mode d'action de l'ABA sur l'expression des gènes

⁸ McCourt, P., & Creelman, R. (2008). The ABA receptors—we report you decide. *Current opinion in plant biology*, 11(5), 474–478.

⁹ Oxyde nitrique

¹⁰ bZIP : Basic leucine zipper.

¹¹ ABRE : ABA responsive elements, / AREB: ABA responsive element binding proteins

Encadré 4.5

ABA vs. Gibbérellines : Dormance vs. Germination

La dormance des graines

La dormance des graines augmente la probabilité que la germination des graines n'ait lieu que dans des conditions optimales de luminosité, de température et d'humidité pour la survie des plantules.

Qu'est-ce qui empêche une graine tombée à l'automne de germer immédiatement pour ensuite ne pas survivre à l'hiver ? Quels mécanismes font en sorte que cette graine ne germe qu'au printemps ? Qu'est-ce qui empêche une graine de germer dans l'intérieur obscur et humide du fruit ?

La réponse à toutes ces questions se trouve dans l'ABA. La concentration d'acide abscissique peut augmenter de **100 fois** durant la maturation des graines. Cette concentration élevée dans les graines en développement inhibe la germination et entraîne la production de protéines qui aident les graines à supporter l'extrême déshydratation qui accompagne la maturation.

De nombreux types de graines en dormance germeront si on en retire l'acide abscissique (graines du palétuvier) ou qu'on l'inactive (mutants vivipares du maïs). Les graines de certaines plantes du désert sortent de leur dormance uniquement quand des pluies abondantes en lessivent l'acide abscissique. D'autres graines ont besoin d'une exposition à la lumière ou d'une longue exposition au froid pour inactiver l'acide abscissique. Le rapport entre la concentration de cette hormone et celle des gibbérellines détermine souvent si la graine restera en dormance ou germera. L'ajout d'acide abscissique dans des graines qui ont commencé à germer les-fait reprendre leur dormance. De l'acide abscissique inactivé ou en concentrations faibles peut causer une germination précoce (hâtive) (Figure ci-contre). Ainsi, un plant de maïs mutant dont les grains germent quand ils sont encore sur l'épi se caractérise par l'absence d'un facteur de transcription fonctionnel nécessaire au déclenchement, par l'acide abscissique, de l'expression de certains gènes. La germination précoce des graines du palétuvier rouge, causée par de faibles concentrations d'acide abscissique, est en fait une adaptation qui aide les jeunes plantules à se fixer comme des dards dans la boue molle sous l'arbre parent.

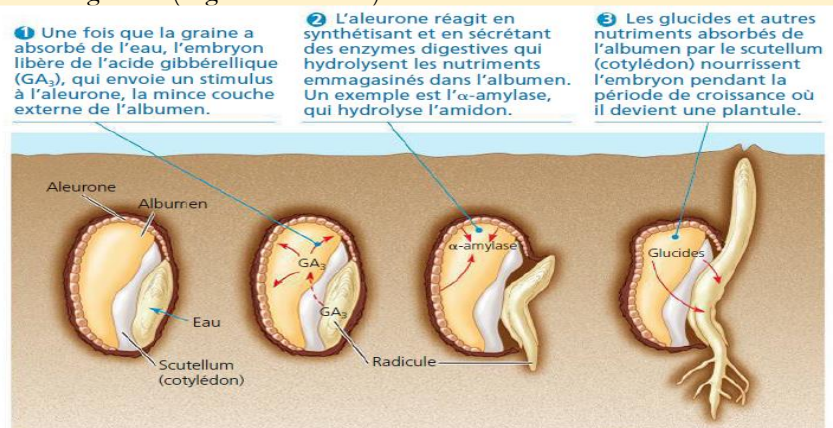


Les graines du palétuvier rouge (*Rhizophora mangle*) ne produisent que de faibles concentrations d'acide abscissique, et elles germent alors qu'elles sont encore sur l'arbre. Dans ce cas, une germination hâtive représente une adaptation utile. Une fois sortie de la graine, la radicule de la plantule semblable à un dard s'enfonce profondément dans les vasières où poussent les palétuviers.

La germination précoce sur ce plant de maïs mutant est causée par l'absence d'un facteur de transcription fonctionnel pour l'action de l'acide abscissique.

La germination

L'embryon contenu dans la graine est une importante source de **gibbérellines**. Après l'imbibition d'eau, il libère des gibbérellines qui font sortir la graine de sa dormance et provoquent la germination. Certaines graines qui ont besoin pour germer de conditions spéciales, telles que l'exposition à la lumière ou au froid, quittent leur dormance si on les traite aux gibbérellines. Les gibbérellines assurent la croissance des plantules des céréales en déclenchant la synthèse d'enzymes digestives comme l'**α-amylase**, qui mobilise les nutriments emmagasinés (Figure ci-dessous).



1 Une fois que la graine a absorbé de l'eau, l'embryon libère de l'acide gibbérellique (GA₃), qui envoie un stimulus à l'aleurone, la mince couche externe de l'albumen.

2 L'aleurone réagit en synthétisant et en sécrétant des enzymes digestives qui hydrolysent les nutriments emmagasinés dans l'albumen. Un exemple est l'α-amylase, qui hydrolyse l'amidon.

3 Les glucides et autres nutriments absorbés de l'albumen par le scutellum (cotylédon) nourrissent l'embryon pendant la période de croissance où il devient une plantule.

La mobilisation des nutriments par les gibbérellines pendant la germination des graines de céréales comme l'orge (*Hordeum vulgare*)

Source : Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Reece, J. B., & Campbell, N. A. (2020). *Campbell Biologie*. Pearson ERPI.

6. ETHYLENE

1. Introduction :

L'éthylène est un gaz¹² synthétisé à partir de la **méthionine**, il est capable de se déplacer par diffusion à partir de son site de synthèse. La production d'éthylène est induite dans la plupart des tissus durant plusieurs stades du développement, tels que la maturation des fruits, la germination, la sénescence et l'abscission. Il est aussi induit en réponse aux stress comme les blessures, l'anaérobiose, l'infection virale, le traitement par l'auxine, le froid, la sécheresse, et par la présence d'ions comme le Cd^{2+} et le Li^+ .

2. Biosynthèse :

La voie de biosynthèse de l'éthylène est bien connue. Elle débute par la transformation de la méthionine, qui réagit avec l'ATP pour produire la S-adenosine-méthionine (SAM) qui est ensuite scindée par l'ACC synthase en deux molécules différentes, dont l'une est le 1-aminocyclopropane-1-acide carboxylique (ACC). Cette réaction est considérée comme la partie limitante de la biosynthèse de l'éthylène (Fig. 1). La dernière réaction est l'oxydation de l'ACC en éthylène par l'ACC oxydase, en libérant de l'HCN et du CO_2 (**Fig. 4.15**) (Bleecker & Kende, 2000).

L'ACC synthase (ACS) est codé par une famille multigénique. Il a été montré chez la tomate que la production d'éthylène au cours du développement du fruit met en jeu quatre ACS régulés différemment.

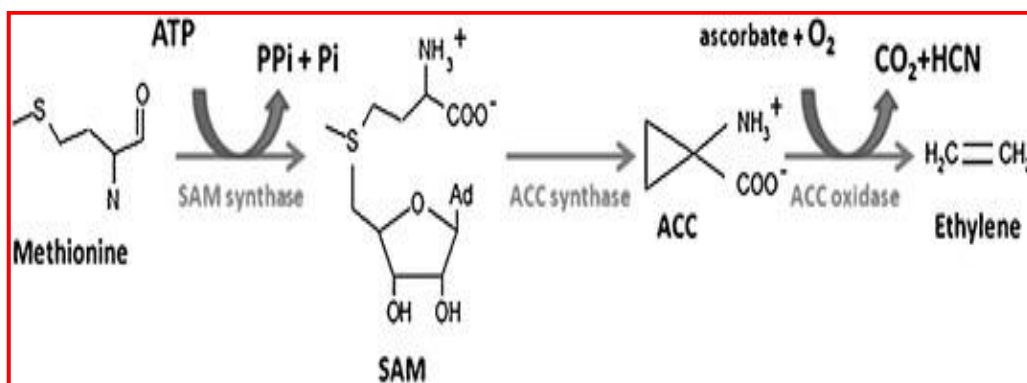


Fig. 4.15 : Les enzymes clés de la voie de biosynthèse de l'éthylène. ACC : acide 1-amino-cyclopropane-1-carboxylique, ATP : adénosine triphosphate, HCN : cyanure d'hydrogène, SAM : S-adenosylméthionine (Yang et Hoffman, 1984).

3. Fonctions :

La fonction de l'éthylène la plus décrite est **l'induction de la maturation des fruits** et en particulier chez les fruits climactériques (pomme, poire, etc.)¹³ d'où l'appellation de « **l'hormone**

¹² Un gaz incolore et sans odeur.

¹³ Un fruit est dit climactérique si sa maturation est dépendante de l'éthylène.

de maturation ». D'autres effets incluent la sénescence des feuilles et des fleurs ; l'abscission des feuilles et des fruits ; l'inhibition de la croissance ; l'épinastie¹⁴; l'accélération de l'activité respiratoire ; la nodulation des racines ; la modification de la pigmentation des feuilles et des fruits ; la germination. Par ailleurs, la production d'éthylène est notoirement augmentée dans toutes les formes d'agression et de stress, il en va ainsi pour l'apoptose¹⁵ et l'attaque par les pathogènes.

4. Ethylène en pratique :

L'une des premières observations qui ont conduit à la découverte de l'éthylène comme une hormone végétale était la maturation précoce des bananes produite par les gaz provenant des oranges. Ces relations ont mené à de grandes utilisations commerciales de l'éthylène. Par exemple, des tomates vertes sont cueillies et artificiellement mûris plus tard par l'application de l'éthylène. L'éthylène est aussi largement utilisé pour accélérer la maturation des citrons et des oranges. Le dioxyde de carbone (CO₂) a l'effet inverse d'arrêter la maturation, les fruits sont souvent expédiés (transportés) dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone.

En outre, une solution biotechnologique a été développée selon laquelle l'un des gènes nécessaires à la biosynthèse de l'éthylène sera cloné, et sa copie antisens sera inséré dans le génome de la tomate (**Fig. 4.16**). La copie du gène antisens est une séquence nucléotidique qui est complémentaire de la copie sens du gène. Dans cette plante transgénique, à la fois les séquences sens et antisens du gène pour la biosynthèse d'éthylène seront transcrites.

Les séquences ARNm sens et antisens s'appariées les unes avec les autres et la traduction sera bloquée ; par conséquent, l'éthylène n'est plus synthétisé, et les tomates transgéniques ne mûrissent pas. De cette façon, les tomates vertes et solides peuvent être transportées sans maturation ni pourrissement. Exposer plus tard ces tomates à l'éthylène induit leur maturation.

D'autre part, des études ont montré que l'éthylène joue un rôle écologique important. La production d'éthylène par les plantes attaquées par des herbivores ou infectés par des pathogènes (**Fig. 4.17**) peut être un signal pour activer les mécanismes de défense des plantes et peuvent inclure la production de molécules toxiques pour les organismes nuisibles.

¹⁴ L'épinastie est le phénomène de courbure des feuilles d'une plante vers le bas dû à une croissance différentielle des cellules entre la face supérieure et la face inférieure.

¹⁵ On nomme apoptose (ou mort cellulaire programmée) le processus par lequel des cellules déclenchent leur auto-destruction en réponse à un signal.

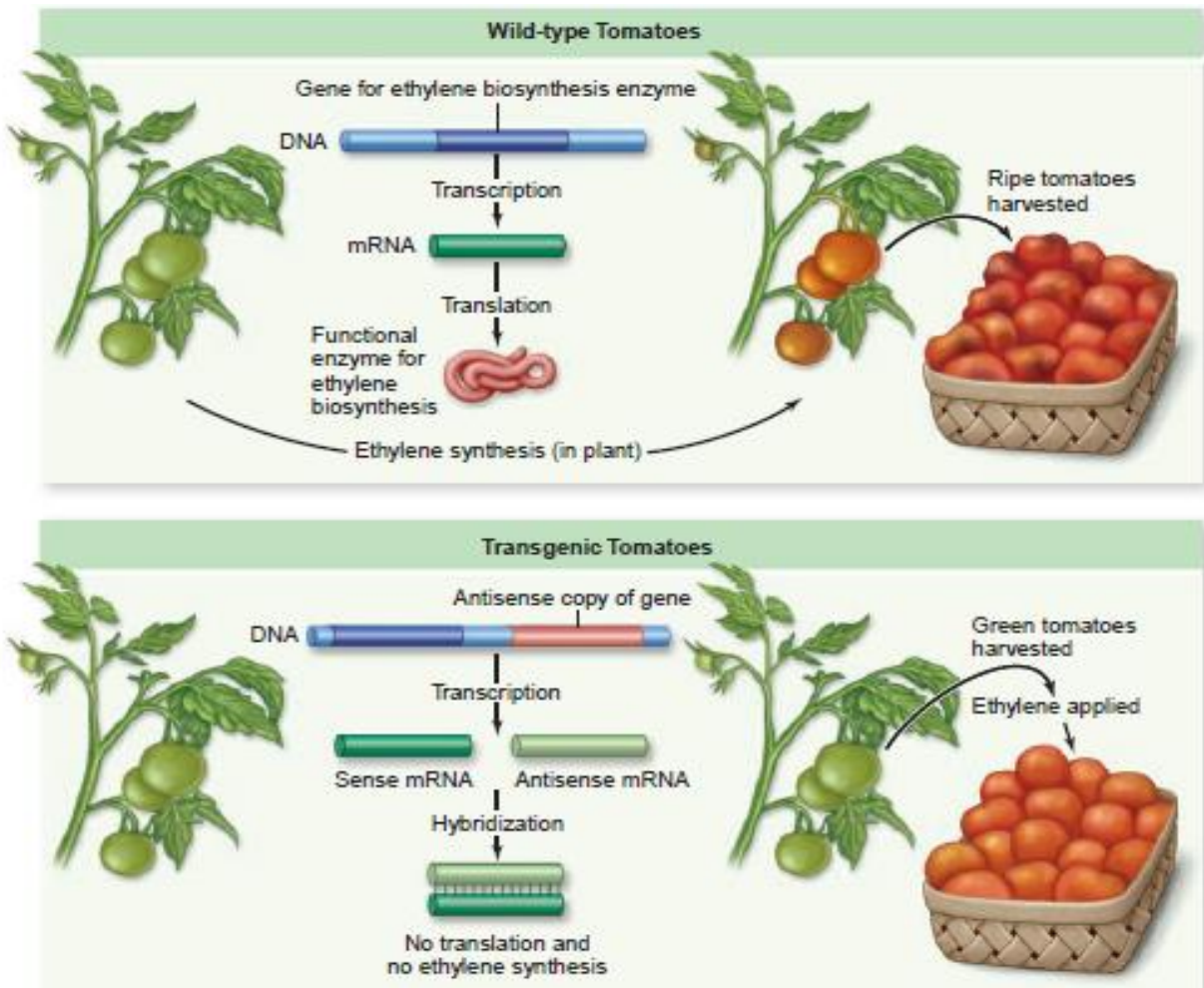


Fig. 4.16 : Une copie antisens du gène de biosynthèse de l'éthylène empêche la formation de l'éthylène et la maturation subséquente des fruits transgéniques.

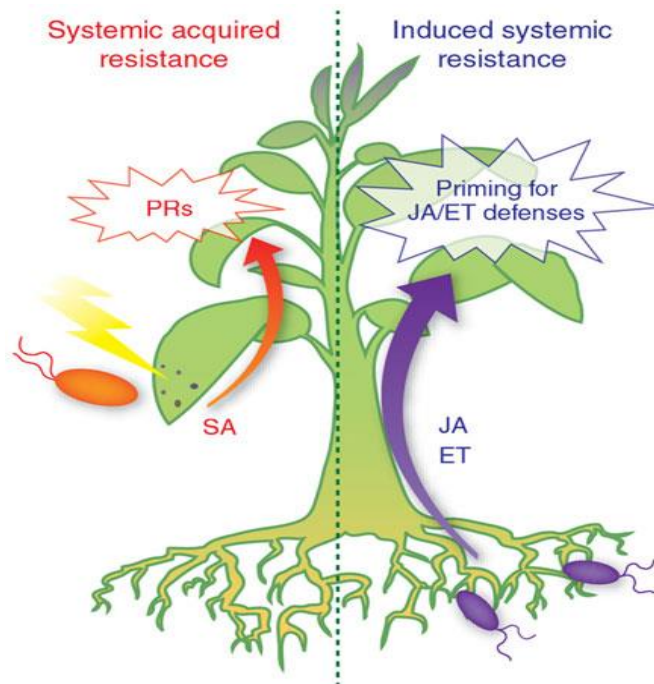


Fig. 4.17 : Résistance systémique induite par l'Ethylène.

Résumé :

Le chapitre aborde le contrôle hormonal du développement végétal, en se concentrant sur les phytohormones qui régulent divers processus de croissance et de développement des plantes. Ces hormones incluent l'auxine, qui influence la dominance apicale, l'élongation cellulaire et la différenciation des tissus ; les cytokinines, qui stimulent la division cellulaire et retardent la sénescence ; les gibbérellines, impliquées dans l'élongation des tiges, la germination et le développement des fruits ; l'acide abscissique, qui joue un rôle dans la dormance et la réponse au stress hydrique ; et l'éthylène, qui contrôle la maturation des fruits, la sénescence et l'abscission. Chaque hormone agit par des mécanismes spécifiques, comme le transport polaire, la signalisation par phosphorylation ou l'interaction avec des récepteurs. Le document souligne également les applications pratiques, comme l'utilisation commerciale des gibbérellines et l'éthylène pour, respectivement, accroître la taille et accélérer la maturation des fruits.

Questions de révision :

- Qu'est-ce qu'une phytohormone et en quoi diffère-t-elle des hormones animales ?
- Quels sont les principaux rôles des phytohormones dans le développement végétal ?
- Décrivez les mécanismes de biosynthèse et de transport de l'auxine.
- Quels sont les rôles physiologiques des cytokinines, et comment agissent-elles sur les bourgeons latéraux ?
- Quelles sont les étapes de la biosynthèse des gibbérellines, et comment influencent-elles la germination des graines ?
- Quels effets l'acide abscissique exerce-t-il en réponse au stress hydrique ?
- Expliquez la voie de biosynthèse de l'éthylène et son rôle dans la maturation des fruits.
- Comment l'auxine influence-t-elle l'élongation cellulaire au niveau moléculaire ?
- Expliquez le mécanisme de signalisation des cytokinines et le rôle des protéines ARR.
- Comment les gibbérellines interagissent-elles avec les protéines DELLA pour réguler l'expression génique ?
- Comment l'éthylène est-il utilisé commercialement pour gérer la maturation des fruits ?
- Donnez un exemple d'application biotechnologique impliquant la régulation de la biosynthèse de l'éthylène.
- Quels sont les rôles antagonistes de l'acide abscissique et des gibbérellines dans la germination ?
- Comment les interactions entre plusieurs phytohormones influencent-elles les réponses de la plante aux stress environnementaux ?

CHAPITRE 5

Contrôle génétique de la floraison et la mise en place des pièces florales : Le modèle ABC

Les objectifs de ce chapitre :

- Décrire les étapes du développement floral, de la transition florale à la formation des organes.
- Illustrer le rôle des gènes homéotiques A, B et C dans l'identité des organes floraux.
- Analyser les transformations homéotiques observées chez les mutants des classes A, B et C.
- Présenter les techniques d'étude des gènes homéotiques (hybridation *in situ*, gènes rapporteurs, immunolocalisation).
- Comprendre l'évolution du modèle ABC vers le modèle ABCDE, intégrant des fonctions supplémentaires dans le développement floral.

1. Introduction

Au cours de leur développement, les plantes se retrouvent confrontées à deux étapes critiques : **quand doivent-elles germer** ? et **quand doivent-elles fleurir** ?

Dans les deux situations les mécanismes génétiques mis en jeu doivent être suffisamment élaborés pour assurer la meilleure adaptation de la plante à son environnement et ainsi garantir sa survie.

Ici nous n'aborderons que le cas de la transition florale, transition au cours de laquelle le méristème apical passe d'un stade végétatif à un stade d'inflorescence (ou de reproduction).

Le développement des fleurs est le résultat d'un processus qui peut être divisé en trois phases successives :

A. Transition florale :

Cette phase marque le passage du méristème apical de l'état végétatif (production de feuilles) à l'état reproducteur (production de fleurs). Elle est contrôlée par des gènes dits « **de temps de floraison** », qui intègrent les signaux environnementaux (photopériode, vernalisation, intensité lumineuse, température) et internes (âge, niveaux hormonaux).

B. Formation des méristèmes floraux

Le méristème d'inflorescence initie des méristèmes floraux latéraux, chacun se différenciant en une structure destinée à devenir une fleur. Cette étape dépend des gènes « **d'identité méristématique florale** ».

C. Développement des organes floraux

Les organes floraux se forment de manière concentrique à partir des verticilles. *Arabidopsis thaliana*, par exemple, produit quatre verticilles :

- Verticille 1 : Sépales (organe protecteur).
- Verticille 2 : Pétales (organe attractif).
- Verticille 3 : Étamines (organe reproducteur mâle).
- Verticille 4 : Carpelles ou pistil (organe reproducteur femelle).

Les gènes « **d'identité des organes floraux** » agissent selon le modèle ABC.

Dans ce chapitre, nous décrirons uniquement les gènes homéotiques impliqués dans la détermination de l'identité des organes floraux, en l'occurrence le modèle (ABC).

2. Plan d'organisation de la fleur sauvage *d'Arabidopsis thaliana*

Comme pour la plupart des Angiospermes, la fleur *d'Arabidopsis thaliana* est formée de quatre verticilles. Elle est constituée, de l'extérieur vers l'intérieur, de quatre sépales qui forment le premier verticille, de quatre pétales qui forment le deuxième verticille, de six étamines qui forment le troisième verticille et de deux carpelles soudés qui forment le quatrième verticille (Fig. 5.1).



Fleur sauvage vue de dessus



Fleur sauvage vue de côté

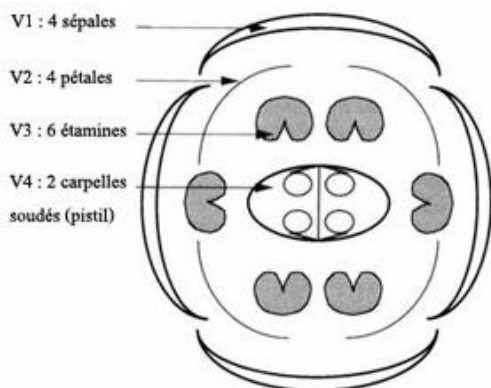


Diagramme floral d'*Arabidopsis thaliana*

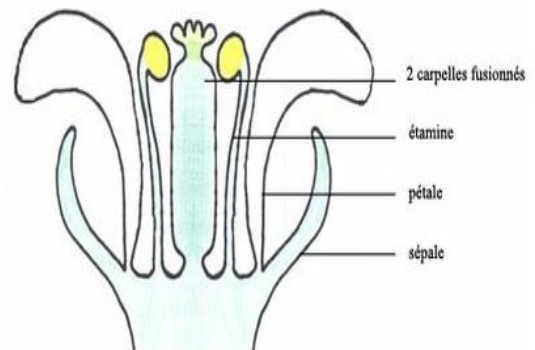


Schéma d'une coupe longitudinale de fleur d'*Arabidopsis thaliana*

Fig. 5.1 : Organisation de la fleur *d'Arabidopsis thaliana* à l'état sauvage (© Plateforme ACCES)

3. Les principaux stades du développement de la fleur *d'Arabidopsis thaliana*

La fleur *d'Arabidopsis thaliana* se met en place à partir d'un méristème floral. Différents stades de développement ont été définis. Au stade 1, le méristème floral se différencie du méristème d'inflorescence. Jusqu'à la fin du stade 2, aucun primordium d'organe floral n'est visible. Au stade 3, les primordia de sépales sont mis en place. Au stade 6, les primordia de sépales, de pétales et d'étamines sont observés.

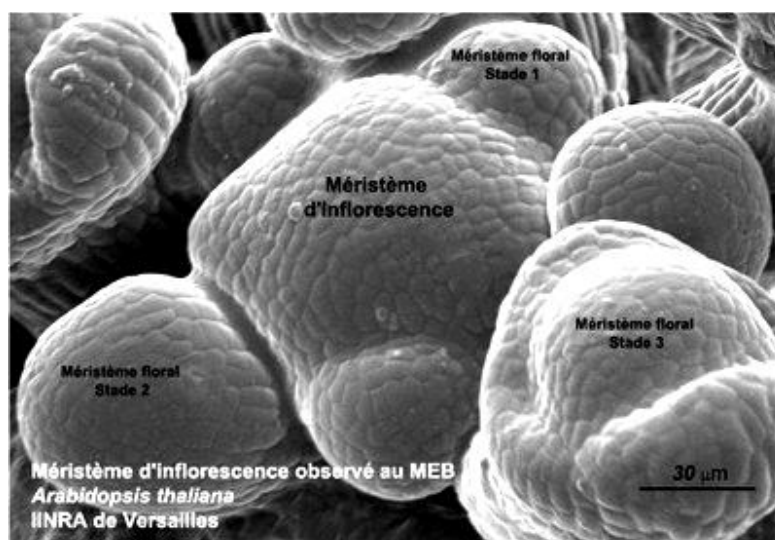
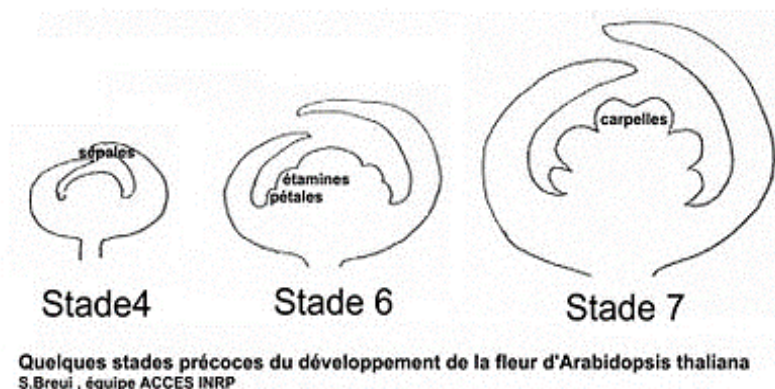


Fig. 5.2 : Photographie en microscopie électronique à balayage permet d'observer la mise en place des méristèmes floraux par le méristème d'inflorescence. Seuls les stades de développement très précoces du méristème floral sont visibles.

Le schéma ci-dessous, de coupes longitudinales dans les méristèmes floraux à différents stades de développement, permettent de mieux appréhender les étapes du développement floral.



4. Description des mutants de classe A, B et C et établissement du modèle ABC

L'étude de mutants floraux a permis d'identifier trois classes de mutants homéotiques (A, B et C) affectés dans l'identité des organes de deux verticilles adjacents.

❖ Les mutants de classe A

Les mutants de **classe A** présentent une fleur de morphologie anormale (Fig. 5.3). Les sépalés ont des caractéristiques carpellaires (présence de stigmates à l'apex, présence éventuelle d'ovules sur les bords). Les pétales sont également anormaux et présentent des caractéristiques d'étamines (filet à la base et parfois des anthères au sommet). Cette mutation correspond donc à une transformation homéotique des sépalés en carpelles et des pétales en étamines. Deux types de mutants présentent des phénotypes identiques, les mutants pour le gène *apetala1* et les mutants pour le gène *apetala2*.



Fig. 5.3 : Fleur du mutant *apetala2-1*, A- vu de dessus, B- vue de côté (© Plateforme ACCES)

❖ Les mutants de classe B

Les mutants de classe B présentent une fleur de morphologie anormale (Fig. 5.4). Les pétales sont remplacés par des sépales. Les étamines sont remplacées par des carpelles. De ce fait, le centre de la fleur est constitué de deux verticilles de carpelles mal fusionnés du fait de la gêne stérique. Le "pistil" est ainsi de grande taille et de forme irrégulière. Cette mutation correspond donc à une transformation homéotique des pétales en sépales et des étamines en carpelles. Deux types de mutants présentent des phénotypes identiques, les mutants pour le gène *apetala3* et les mutants pour le gène *pistillata*.



Fig. 5.4 : Fleur du mutant *pistillata-1*, A- vue de dessus, B- vue de côté (© Plateforme ACCES)

❖ Les mutants de classe C

Les mutants de classe C présentent une fleur de morphologie anormale (Fig. 5.5). Il s'agit d'une fleur produisant un nombre très important d'organes. Le premier verticille est constitué de sépales, le second de pétales. Au niveau du troisième verticille, on observe des pétales à la place des étamines et au niveau du quatrième verticille on observe des sépales à la place des carpelles. Par ailleurs, au centre de la fleur, de nouveaux verticilles continuent à se mettre en place indéfiniment dans un ordre toujours identique (sépales/pétales/pétales). Le phénotype des mutants

de classe C est donc double. La mutation correspond à une transformation homéotique des étamines en pétales et des carpelles en sépales. Un seul type de mutants présente ce double phénotype, il s'agit des mutants pour le gène *agamous*.

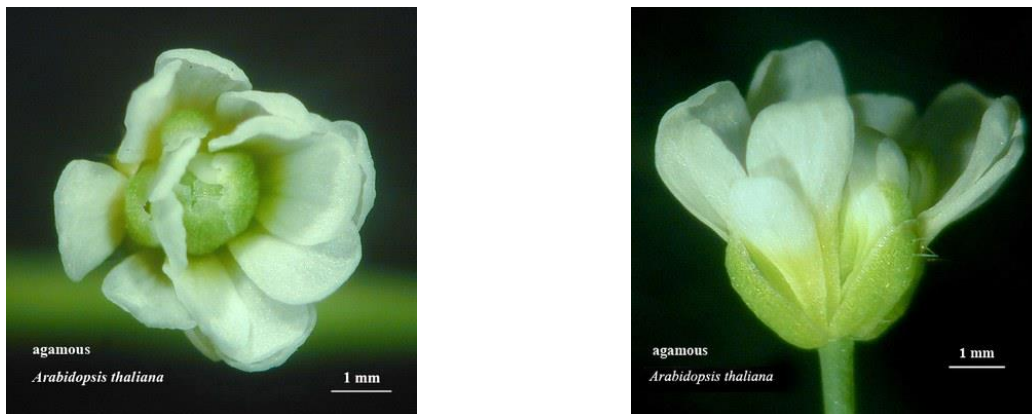


Fig. 5.5 : Fleur du mutant *agamous-1* , A- vue de dessus, B- vue de côté (© Plateforme ACCES)

❖ L'établissement du modèle ABC

Les gènes A, B et C sont donc des gènes homéotiques. Pour chacun des mutants, deux verticilles adjacents sont affectés. On peut alors conclure que la mise en place de pétales nécessite la présence d'allèles fonctionnels des gènes de classe A, la mise en place des pétales nécessite la présence d'allèles fonctionnels des gènes de classe A et B, la mise en place des étamines nécessite la présence d'allèles fonctionnels des gènes de classe B et C et la mise en place des carpelles nécessite la présence d'un allèle fonctionnel du gène de classe C. La caractérisation des mutants ABC a permis d'établir un modèle expliquant le mécanisme de détermination de l'identité des différents organes floraux, le modèle ABC (Fig. 5.6).

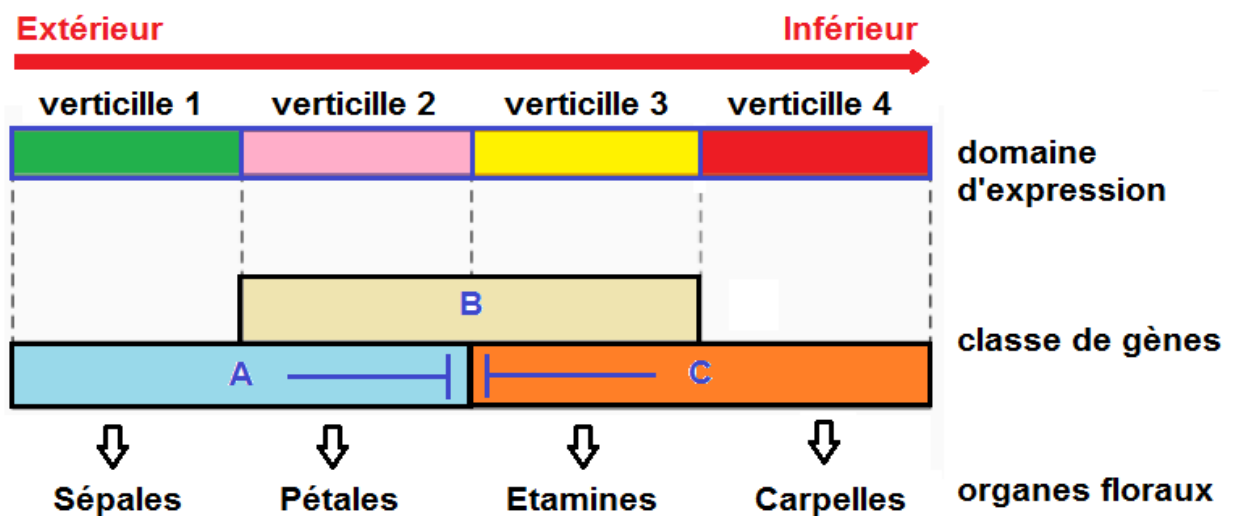


Fig. 5.6 : Représentation du modèle ABC

Chacune des trois boîtes représente le domaine d'expression et d'action des gènes de classe A, B et C dans les différents verticilles de la fleur.

D'après le modèle ABC, les gènes de la fonction A seuls spécifient l'identité des sépales ; les gènes des fonctions A et B contrôlent ensemble l'identité des pétales ; les gènes des fonctions B et C contrôlent ensemble l'identité des étamines et le gène de la fonction C spécifie seul l'identité des carpelles. De plus, les gènes de la fonction A répriment le gène de la fonction C et inversement (Coen & Meyerowitz, 1991 ; Weigel & Meyerowitz, 1994).

5. Profils d'expression des différents gènes ABC

Au début des années 1990, le modèle ABC du développement floral a été élaboré à partir d'études de mutants d'*Arabidopsis* et d'*Antirrhinum* (Coen & Meyerowitz, 1991), Il a ensuite été validé lorsque les gènes ABC ont été isolés, caractérisés et que leurs patrons d'expression ont été étudiés.

A. Techniques pour l'étude de l'expression des gènes

Il existe de nombreuses techniques pour étudier les patrons d'expression des gènes.

- On peut étudier les zones où le gène est transcrit par différentes techniques :
 - 1) La technique la plus utilisée est l'**hybridation *in situ***. Il s'agit d'utiliser un petit oligonucléotide (**ADN sonde**) spécifique et complémentaire de l'ARNm du gène étudié. Cette sonde est marquée puis hybridée directement sur des coupes fines des structures étudiés.
 - 2) Une autre technique consiste à utiliser un **gène rapporteur**. Ce dernier est mis sous contrôle du promoteur du gène étudié. La construction est ensuite insérée dans le génome de la plante par transgénèse. Un gène rapporteur code pour une protéine facilement visualisable. Il peut s'agir soit d'une enzyme capable de transformer un substrat incolore en un produit coloré (gène **GUS** codant pour la glucuronidase). Il peut également s'agir d'une protéine **fluorescente** (GFP pour Green Fluorescent Protein). L'utilisation de ce dernier type de protéine permet de travailler et de faire des observations *in vivo* (**Encart 5.1**).
 - 3) On peut étudier également les zones où la protéine est présente par **immunolocalisation**. Il s'agit d'utiliser un **anticorps** spécifique de la protéine pour localiser la protéine sur des coupes fines des structures étudiées. Cette technique n'est pas toujours applicable car il est souvent très difficile d'obtenir des anticorps spécifiques. Les résultats en immunolocalisation ne sont pas forcément identiques aux résultats en *in situ*.

B. Etude de la transcription des gènes ABC chez la plante sauvage

- Les gènes de classe A s'expriment très précocement dans l'ensemble du méristème (stades 1 et 2) puis dans les verticilles 1 et 2 à partir du stade 4

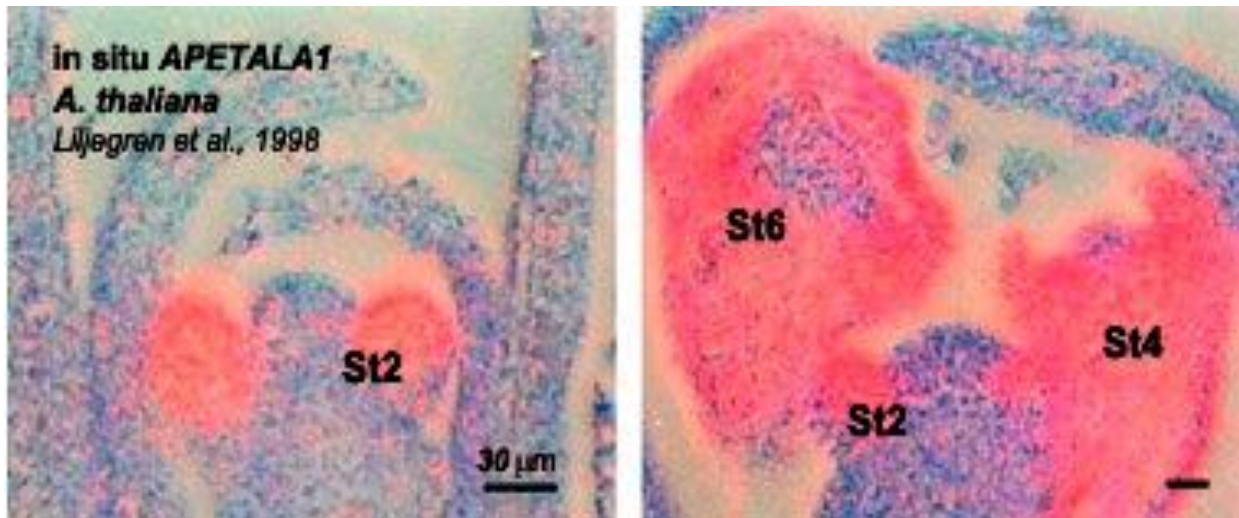


Fig. 5.7 : Hybridation in situ à l'aide d'une sonde spécifique à l'ARNm du gène *apetala1* (© Plateforme ACCES)

La sonde est marquée à l'aide de nucléotides radioactifs et révélée par autoradiographie. Les grains d'argent apparaissent en rouge en fluorescence. Les zones qui apparaissent en rouge sur les images correspondent donc aux zones où le gène *apetala1* est transcrit. *D'après Liljegren et al. (1999).*

- Les gènes de classe B s'expriment dans les verticilles 2 et 3

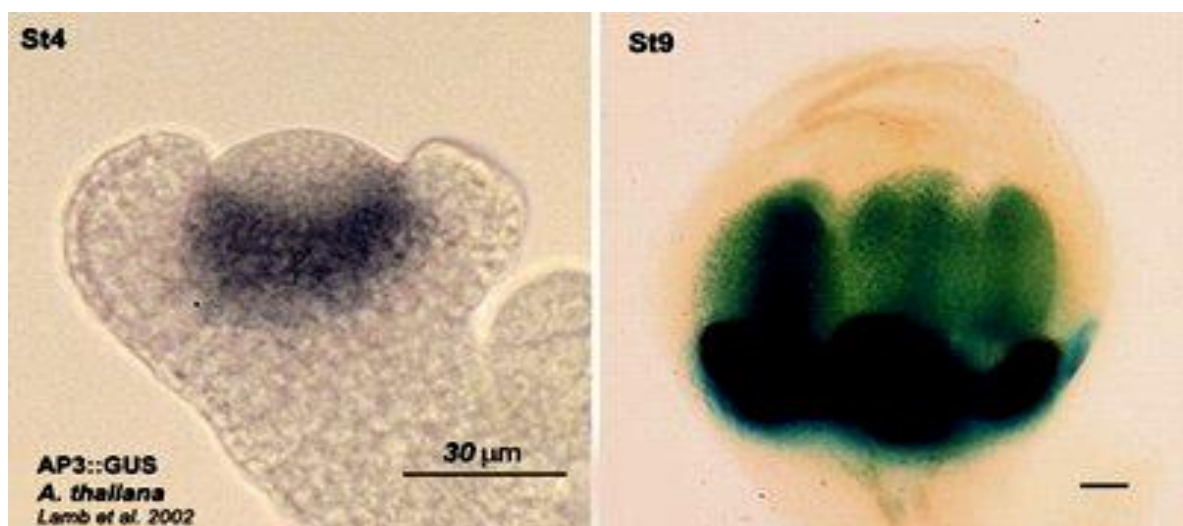


Fig. 5.8 : Etude de l'expression du gène *apetala3* à l'aide du gène rapporteur GUS (© Plateforme ACCES)

La protéine codée par le gène GUS est capable de transformer un substrat incolore en un produit bleu. La présence de cette protéine est ici révélée sur des méristèmes entiers, observés en microscopie optique. Les parties bleues correspondent aux zones où le gène *apetala3* est transcrit. D'après *Lamb et al. (2002)*.

- Les gènes de classe C s'expriment au centre du méristème floral pour les stades 3 et 4 (st3 et st4) du centre du méristème floral puis précisément dans les verticilles 3 et 4 à partir du stade 5.

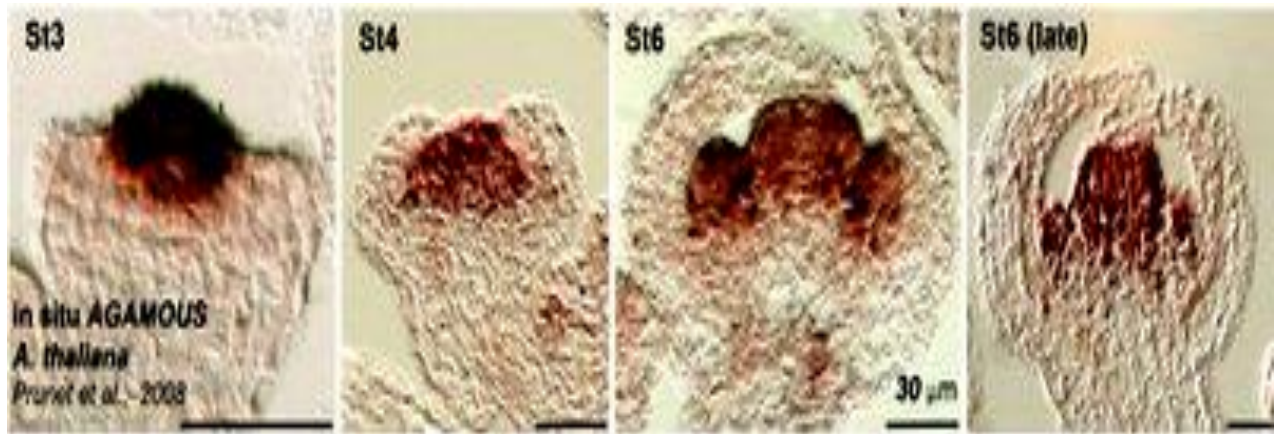


Fig. 5.9 : Hybridation *in situ* à l'aide d'une sonde spécifique à l'ARNm du gène *agamous* (© Plateforme ACCES)

La sonde est reconnue par un anticorps spécifique couplé à une enzyme capable de transformer un substrat incolore en un produit coloré. Après révélation, les coupes hybridées sont observées en microscopie optique, avec un éclairage permettant d'accentuer le contraste. Les zones qui apparaissent en marron sur les images correspondent donc aux zones où le gène *agamous* est transcrit. D'après *Prunet et al. (2008)*.

Encadré 5.1

Les Gènes Rapporteurs

Un **gène rapporteur** est un gène dont le produit (protéine) possède une caractéristique lui permettant d'être observé en laboratoire (fluorescence, activité enzymatique détectable). Les gènes rapporteurs sont utilisés pour permettre de visualiser ou mesurer l'expression d'un gène d'intérêt, pour cela le gène rapporteur peut être fusionné au gène étudié, ou mis sous le contrôle du promoteur de ce dernier.

Caractéristiques

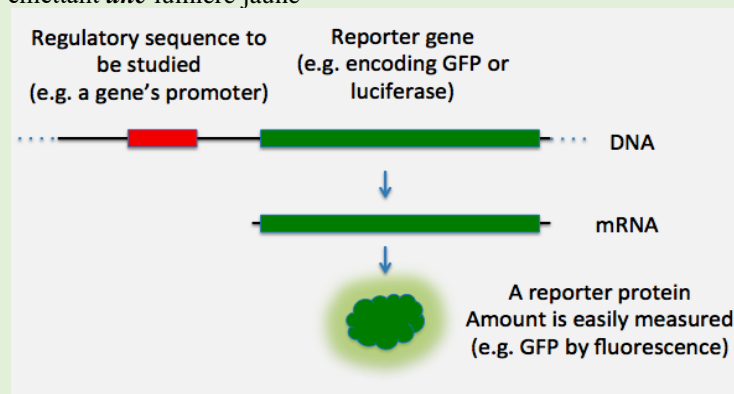
Les gènes **rapporteurs** doivent obéir à 3 conditions :

- Être étrangers au **génom**e de l'organisme modifié afin que leur produit n'intervienne pas dans le métabolisme
- Leur produit doit permettre une visualisation rapide et précise afin de déterminer dans quel tissu agit le gène modifié
- Leur produit doit être **quantifiable** afin de mesurer l'activité du promoteur induisant la modification.

Diversité

Les gènes rapporteurs **peuvent** être des gènes codant des protéines fluorescentes ou des enzymes dont l'action provoquera l'apparition d'un produit coloré.

- L'activité **enzymatique** avec :
 - Le gène **GUS**, codant une **enzyme** (β -glucuronidase) qui colore en bleu les cellules où il est actif.
 - Le gène **lacZ** codant la β -galactosidase (LacZ) qui métabolise le X-gal faisant apparaître une coloration bleue.
- La **bioluminescence** avec la :
 - Protéine fluorescente verte (green fluorescent protein en anglais ou GFP),
 - Luciférase, émettant **une** lumière jaune



En rouge, le gène d'intérêt étudié ; en vert le gène rapporteur.

GUS réfère au gène de la β -glucuronidase, qui provient de *E. coli*. Le substrat de GUS est l'acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronique (X-Gluc). Le clivage de ce dernier sous l'action du GUS produit un précipité bleu et insoluble qui confère une coloration bleue. La température optimale de l'activité de GUS est de 37 °C. On l'utilise en tant que gène rapporteur en biologie moléculaire. Le gène GUS est couplé au promoteur du gène que l'on veut étudier (gène d'intérêt). Si le gène d'intérêt devient actif, le gène GUS est donc lui aussi activé. Il va y avoir synthèse de β -glucuronidase, et réaction avec son substrat. La coloration bleue indiquera l'activité du gène d'intérêt.

La protéine fluorescente verte (souvent abrégé GFP, de l'anglais « Green Fluorescent Protein ») est une protéine ayant la propriété d'émettre une fluorescence de couleur verte. Issue d'une méduse (*Aequorea victoria*), cette protéine est intrinsèquement fluorescente sous l'action d'une enzyme, l'aéquorine, une luciférase qui agit en présence de calcium. Son gène peut être fusionné *in-vitro* au gène d'une protéine que l'on souhaite étudier. Le gène recombinant est ensuite réintroduit dans des cellules ou un embryon, qui va alors synthétiser la protéine de fusion, alors fluorescente. On pourra alors l'observer à l'aide d'un microscope à fluorescence, par exemple. Cette méthode permet d'étudier les protéines dans leur environnement naturel : la cellule vivante. La découverte et les applications de la GFP ont été couronnées par le prix Nobel de chimie décerné à Osamu Shimomura, Martin Chalfie et Roger Tsien le 8 octobre 2008.

Source : *Wikipedia*.

Les gènes ABC sont des facteurs de transcription

- En dehors du gène AP2, tous les gènes ABC codent des facteurs de transcription à boîte : **MADS** (pour MCM1 de *Saccharomyces*, AGAMOUS d'*Arabidopsis*, DEFICIENS d'*Antirrhinum*, et SRF de l'homme (Riechmann & Meyerowitz, 1997).
- Ces facteurs de transcription sont capables de se lier à l'ADN sous forme de dimères. Ces protéines sont présentes chez les champignons, les animaux et les végétaux. En plus du domaine MADS de liaison à l'ADN, les protéines de plantes possèdent un second domaine conservé, le domaine K, analogue au segment en double hélice de la kératine qui serait impliqué dans des interactions protéine-protéine. Ci-dessous, l'exemple de la protéine AGAMOUS. Il s'agit de facteurs de transcription capables de se lier à l'ADN sous forme de dimères. Cette famille de protéines est présente chez les champignons, les animaux et les végétaux. En plus du domaine MADS de liaison à l'ADN, les protéines de plante possèdent un second domaine conservé, le domaine K analogue au segment en double hélice de la kératine qui serait impliqué dans des interactions protéine-protéine.

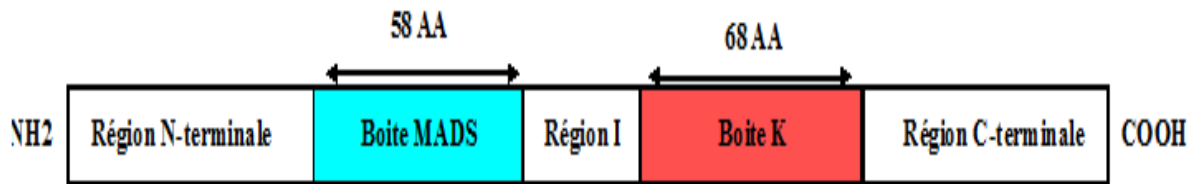


Fig. 5.10 : Les différents domaines de la protéine AGAMOUS d'*Arabidopsis thaliana*.
Les boîtes MADS et K sont communes entre beaucoup de gènes homéotiques des plantes
(Les gènes API, AP3 et PI).

- L'interaction des protéines ABC avec l'ADN a été démontrée (Riechmann *et al.*, 1996) et il existe des modèles moléculaires de facteurs de transcription à boîte MADS, obtenus par diffraction aux rayons X, qui permettent d'appréhender la conformation de ces protéines.
- ✓ Le gène *apetala 2* code pour un facteur de transcription de type différent (facteur type AP2/EREBP)
- Les gènes homéotiques des plantes ne présentent pas un positionnement particulier au sein du génome. Par ailleurs, il existe de très nombreux facteurs de transcription à boîte MADS chez les végétaux. Ils forment une famille multigénique complexe (107 gènes de cette famille au sein du génome d'*Arabidopsis thaliana* sont identifiés ; d'après Parenicova *et al.* (2003).

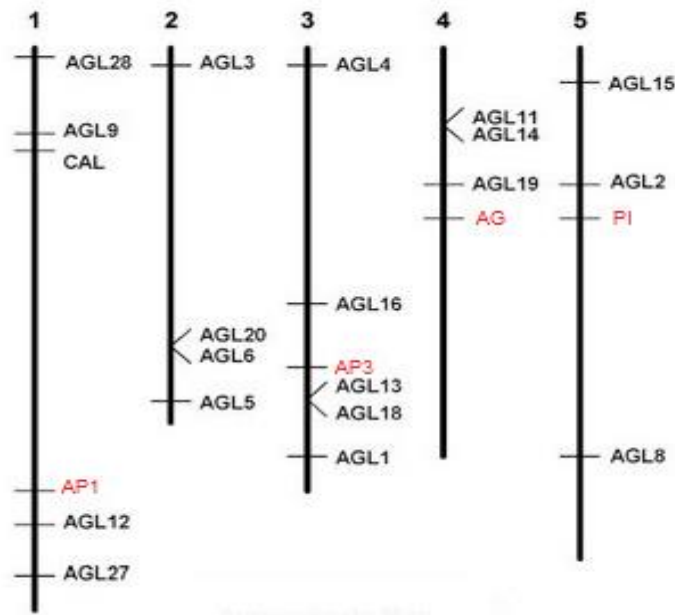


Fig. 5.11 : Carte génétique de la plante *Arabidopsis thaliana* indiquant la position de nombreux gènes codant pour des protéines à boîte MADS.

CAL: CAULIFLOWER; AP: APETALA; PI: PISTILATA; AG: AGAMOUS; AGL: AGAMOUS LIKE

<http://labs.biology.ucsd.edu/yanofsky/home.html>

Le modèle ABCDE de l'identité des organes floraux

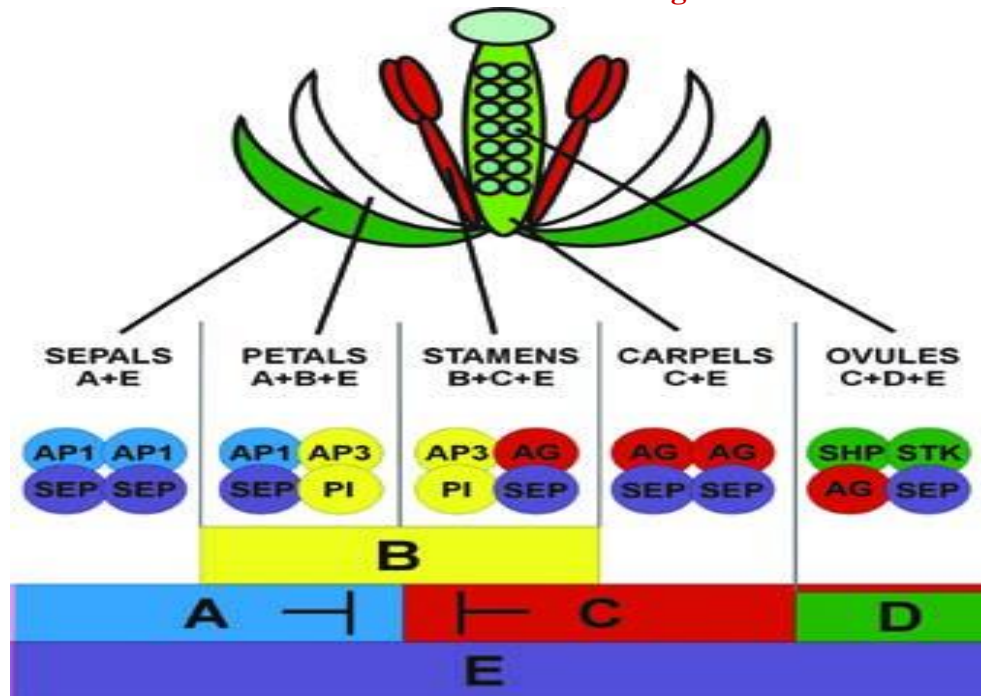


Fig. 5.12: Le modèle ABCDE de l'identité des organes floraux.

A-function genes, (**APETALA1** [AP1] in Arabidopsis) are necessary for the formation of the sepals, B-function genes (**APETALA3** [AP3] and **PISTILLATA** [PI] in Arabidopsis), together with A-function genes, are necessary for the formation of the petals. The B-function genes, along with those of C-function (**AGAMOUS** [AG] in Arabidopsis), are necessary for the formation of the stamens, and C-function genes alone are necessary for the formation of the carpels. The ABC model has been gradually expanded to include class D- and E-function genes, which are necessary for the ovules and the definition of the floral whorls, respectively. D-function genes in Arabidopsis include **SEEDSTICK** (STK) as well as **SHATTERPROOF1** and **SHATTERPROOF2** (SHP1 and SHP2). E-function *sensu lato* requires at least one of the four **SEPALLATA** (SEP1, SEP2, SEP3 and SEP4) genes (adapted from Theissen, 2001; Theissen & Saedler, 2001; Zahn *et al.*, 2005).

Résumé :

Le présent chapitre, traite la régulation génétique de la floraison et du développement des pièces florales, illustré par le modèle ABC. Ce modèle explique comment les gènes homéotiques A, B et C déterminent l'identité des organes floraux chez *Arabidopsis thaliana* (plante modèle). La transition florale, la mise en place des méristèmes floraux et le développement des organes floraux sont sous l'influence de gènes spécifiques. Les mutants des classes A, B et C révèlent des transformations homéotiques, mettant en évidence les rôles distincts et combinés de ces gènes. Les techniques d'étude, telles que l'hybridation in situ et l'utilisation de gènes rapporteurs, ont permis de confirmer les profils d'expression des gènes. En outre, l'expansion du modèle ABC en modèle ABCDE intègre d'autres fonctions génétiques impliquées dans la formation des ovules et des verticilles floraux.

Questions de révision :

- Quels mécanismes génétiques sous-tendent le développement des organes floraux dans les plantes à fleurs ?
- Comment le modèle ABC explique-t-il les interactions entre les gènes homéotiques pour déterminer l'identité des organes floraux ?
- Comment les mutants floraux d'*Arabidopsis* et d'autres espèces ont-ils contribué à l'élaboration et à la validation du modèle ABC ?
- Quelles techniques permettent d'étudier l'expression des gènes de classe ABC, et comment celles-ci aident à comprendre les processus de morphogenèse florale ?
- Quels rôles jouent les extensions du modèle ABC (classes D et E) dans la formation des structures reproductrices des plantes ?
- Quelles implications évolutives et fonctionnelles peut-on tirer du modèle ABC dans le développement floral ?

CHAPITRE 6

Mort et Senescence Cellulaire

Les objectifs de ce chapitre :

- Expliquer les mécanismes de la mort cellulaire programmée (PCD) et leur rôle dans le développement et l'adaptation des plantes.
- Décrire les processus de sénescence des feuilles, des organes floraux et des fruits, ainsi que leur impact sur le cycle de vie des plantes.
- Mettre en évidence l'importance de la PCD dans le recyclage des nutriments et l'optimisation des ressources pour la reproduction et la survie des plantes.
- Explorer les applications de ces connaissances dans la gestion agricole et la conservation post-récolte.

1. Introduction

La mort sélective des cellules, des tissus et des organes constitue une caractéristique fondamentale du développement et de la survie des plantes. Ce processus, impliquant la destruction contrôlée de certaines structures, influence profondément la morphologie, les habitudes de croissance, les interactions avec l'environnement et les capacités d'adaptation des plantes (Fig. 6.1). Des exemples frappants sont le comportement caduc des arbres dans les régions tempérées, la mort des coléoptiles et/ou feuilles embryonnaire après de la germination des graines (Baseer *et al.*, 2024 ; Vanyushin *et al.*, 2004).

Le concept général regroupant les mécanismes biologiques responsables des événements finaux dans la vie des plantes ou de leurs parties est désigné par le terme de mort cellulaire programmée (PCD)¹. La PCD (appelée également *apoptose*) englobe l'ensemble des processus au cours desquels le protoplasme d'une cellule meurt, avec ou sans destruction associée de la paroi cellulaire, dans le cadre d'un événement développemental ou adaptatif génétiquement programmé tout au long du cycle de vie de la plante (Mondal *et al.*, 2021).

Ce mécanisme joue un rôle fondamental dans la différenciation et l'adaptation des plantes, à tel point que l'extraordinaire diversité des formes et des fonctions observées dans la flore mondiale n'aurait pu émerger sans son intervention. Plusieurs exemples illustrent l'importance de la PCD :

- *Développement des fleurs unisexuées* : Suppression sélective des cellules destinées à former les structures mâles ou femelles.
- *Production des grains de pollen et d'ovules* : Mort cellulaire associée au développement post-méiotique des micro- et mégasporophytes (cf. Chapitre 3).
- *Différenciation embryonnaire* : Dégénérescence des cellules du suspenseur au cours de l'embryogenèse (cf. Chapitre 3).
- *Maturation des graines* : Développement de l'endosperme amylicé dans les grains de céréales et mort des cellules d'aleurone lors de la germination.
- *Formation de tissus spécialisés* : Génération de xylème, de sclérenchyme, ainsi que d'autres structures telles que les poils épidermiques ou les couches d'abscission.

¹ PCD= programmed cell death.

- *Sénescence des organes* : Dégradation programmée des feuilles, racines, parties florales et tissus des fruits en cours de maturation.
- *Réponses aux stress abiotiques* : Formation d'aérenchyme dans des conditions anaérobies pour permettre l'échange gazeux.
- *Réponses aux stress biotiques* : Déclenchement de la mort cellulaire défensive dans l'hôte infecté, comme la réponse hypersensible lors d'une attaque pathogène (apoptose).

Ces processus témoignent de l'importance centrale de la PCD dans le cycle de vie et les stratégies adaptatives des plantes.

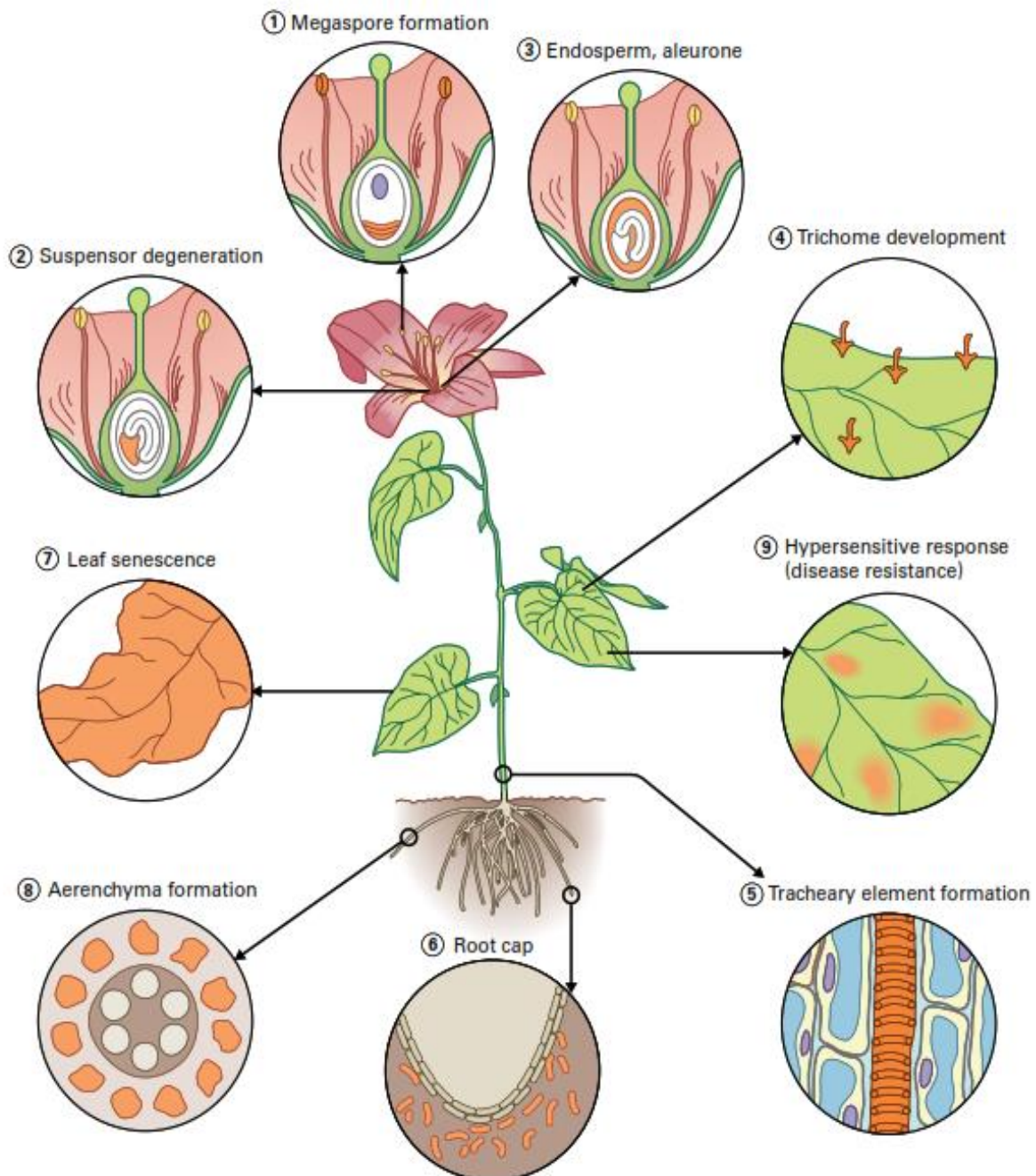


Fig. 6.1 : La mort cellulaire programmée (PCD) et le développement des végétaux.

La PCD se produit dans de nombreuses cellules et tissus végétaux et est impliquée dans de nombreux processus de développement et d'adaptation, notamment la formation des gamètes (1) ; le développement de l'embryon (2) ; la dégénérescence des tissus de la graine et du fruit (3) ; le développement des tissus et des organes (4 à 6) ; la sénescence des feuilles (7) ; et les réponses aux signaux environnementaux et aux agents pathogènes (8 et 9).

2. Sénescence des feuilles :

La sénescence foliaire est un processus physiologique ordonné au cours duquel les structures cellulaires et les biomolécules sont progressivement dégradées, et les produits qui en résultent sont mobilisés vers d'autres organes de la plante tels que les fruits, les graines, les tubercules ou les feuilles apicales (Mayta *et al.*, 2019).

La manifestation la plus visible de la sénescence foliaire est le jaunissement, causé par la destruction des complexes pigment-protéines des chloroplastes et la conversion des chlorophylles (Chl) en dérivés cataboliques divers. Dans des conditions naturelles, la sénescence foliaire est généralement dépendante de l'âge et s'accélère avec la transition de la phase de croissance végétative à la phase reproductrice (Fig. 6.2).

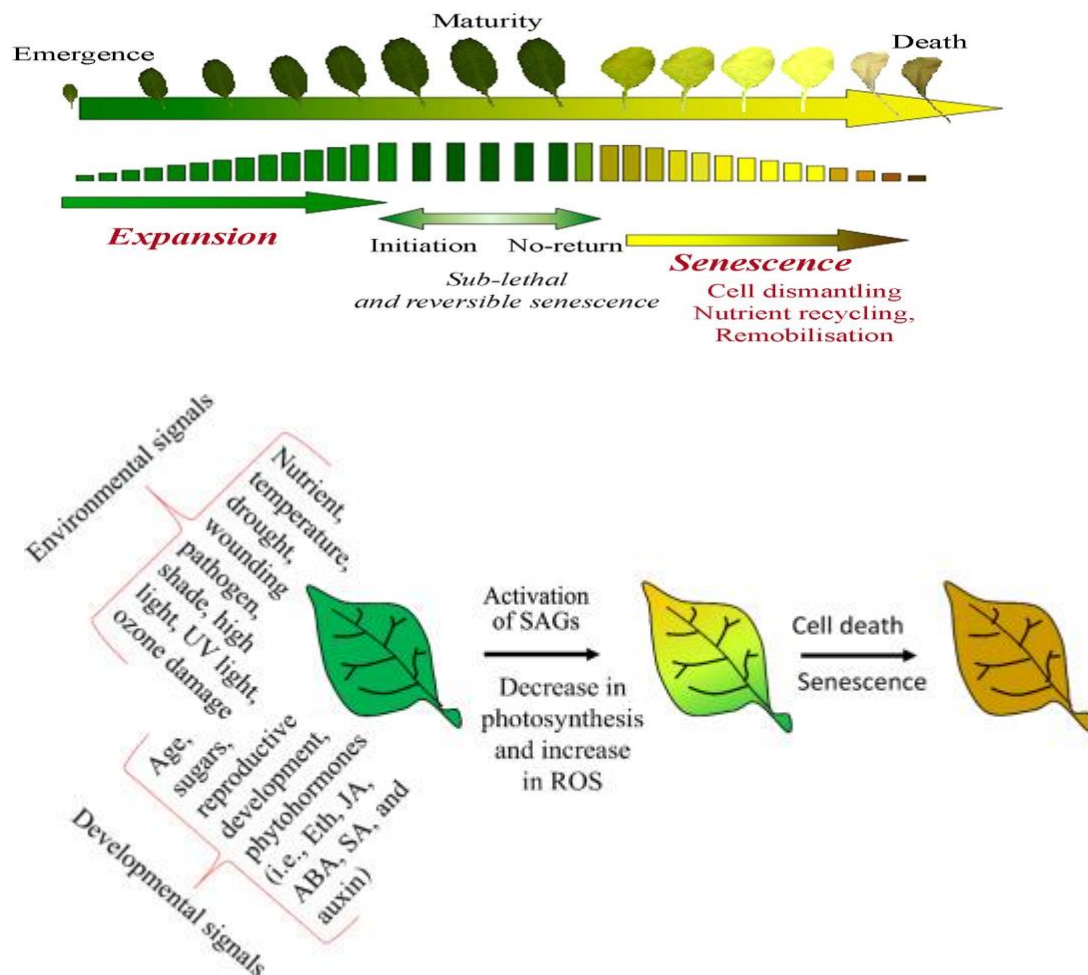


Fig. 6.2 : Aperçu de la sénescence foliaire.

Les étapes finales du développement foliaire sont dictées par l'âge de la plante et sa transition reproductive, tout en étant influencées par des signaux internes (hormones) et externes (stress biotiques, abiotiques et état nutritionnel). Les stress environnementaux favorisent la propagation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), jouant un rôle clé dans la signalisation cellulaire associée à la PCD (Mayta *et al.*, 2019; Ullah *et al.*, 2019).

La sénescence est régulée par un programme génétique impliquant des changements majeurs dans l'expression des gènes, favorisant la dégradation cellulaire et le recyclage des produits vers les organes en développement.

Les SAGs (gènes associés à la sénescence) codent principalement des enzymes de dégradation protéique, soulignant le rôle crucial du recyclage de l'azote. Les mutants à sénescence retardée permettent d'identifier des gènes clés du vieillissement, de la mort cellulaire et du recyclage des nutriments (Zhang & Zhou, 2013).

Les mutants à sénescence retardée se divisent en deux types : les mutants fonctionnels, qui préservent la capacité métabolique avec le retard de sénescence, et les mutants *stay-green* non fonctionnels, ou cosmétiques, qui conservent la couleur verte malgré un vieillissement normal en raison d'un défaut de dégradation de la chlorophylle.

La sénescence des feuilles est régulée par des signaux développementaux et environnementaux, tels que l'obscurité, les stress abiotiques et les microorganismes. Les phytohormones, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'autres signaux redox orchestrent les réponses de la plante, entraînant une reprogrammation génétique, physiologique et métabolique (Sasi *et al.*, 2022).

3. Sénescence des organes floraux

Contrairement aux feuilles, les parties florales ont des durées de vie plus courtes, en particulier après la pollinisation. Leur sénescence, généralement irréversible et moins sensible aux influences environnementales abiotiques, implique :

- La dégradation des macromolécules, notamment des protéines de stockage et de la chlorophylle (Fig 6.3).
- Le recyclage des nutriments tels que l'azote et le phosphore.
- La modification de la structure et de la fonction des organelles.

Deux voies de PCD différentielle se produisent dans ces organes : par lysigénie ou via un mécanisme proche de l'apoptose (apoptose-like). Ces processus permettent de recycler les ressources pour optimiser la survie et la reproduction de la plante (Trobacher, 2009).

La lysigénie est un processus de PCD associé à la dégradation enzymatique des parois cellulaires, entraînant la destruction des tissus. Il est caractérisé par :

- Une dégradation enzymatique où les enzymes hydrolytiques, comme les pectinases, les cellulases et les expansines, dégradent la paroi cellulaire, provoquent la dissolution des cellules.
- Une fragmentation tissulaire, car la désintégration des tissus, notamment dans les pétales, facilitant la chute des parties florales sénescents (*abscission*).
- Une libération des nutriments contenus dans les cellules, qui sont réalloués vers d'autres parties de la plante, comme les fruits ou les graines en formation.

A titre d'exemple, dans certaines fleurs, comme les pétales de lys, la lysigénie est marquée par une dégradation rapide des tissus pétalaires au moment de la sénescence ([Azad et al., 2008](#)).

La mort cellulaire de type apoptotique (*apoptosis-like*) est une voie similaire à l'apoptose observée chez les animaux, bien qu'elle présente certaines spécificités propres aux plantes. Elle implique une série de mécanismes contrôlés qui conduisent à l'élimination des cellules de manière ordonnée. Elle se caractérise principalement par :

- La fragmentation de L'ADN nucléaire.
- La formation de corps apoptotiques (*fragmentents de cellules*) qui seront phagocytés par des cellules voisines ou dégradés par des vacuoles.
- La perte de l'intégrité membranaire.
- L'intervention des vacuoles qui jouent un rôle central dans la dégradation des composants cellulaires, en libérant des hydrolases dans le cytoplasme.

A titre d'exemple, dans les pétales de jonquilles ou d'iris, la sénescence florale est souvent associée à une mort cellulaire semblable à l'apoptose, permettant une dégradation ordonnée des organites et des macromolécules.

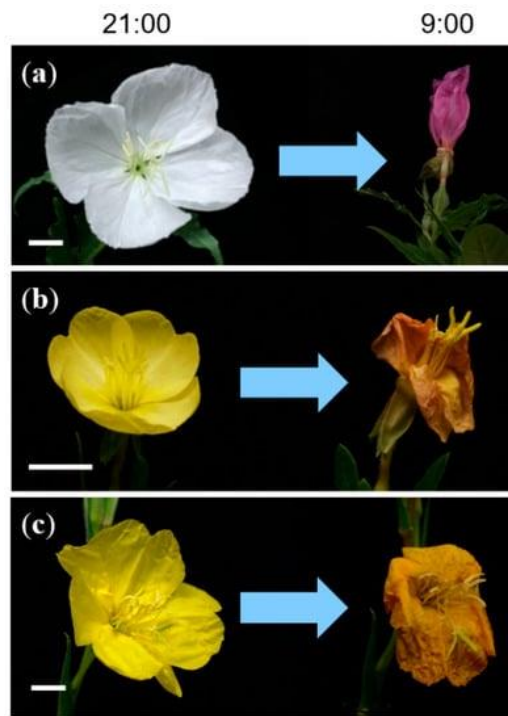


Fig. 6.3 : Changement de couleur des fleurs dans les pétales d'*Oenothera* pendant la sénescence. (a) *Oenothera tetraptera*, (b) *Oenothera laciniata*, (c) *Oenothera stricta*. (Teppabut *et al.*, 2018)

4. Senescence des fruits :

Le processus de maturation des fruits constitue une étape cruciale et fascinante du développement des plantes, marquant la transition des fruits de la maturation à un état propice à la consommation. Plutôt que d'être perçu comme une phase dégénérative, il est considéré comme une étape terminale du cycle de développement.

Les fruits sont généralement classés en deux catégories : climactériques et non climactériques. Les fruits climactériques (ex., pommes, poires, bananes, etc.) se distinguent par un pic respiratoire associé à la maturation, souvent accompagné d'une augmentation significative de la production d'éthylène (*cf. Chapitre 4*). Fait remarquable, la maturation des fruits climactériques peut se poursuivre même après leur détachement de la plante mère, rendant la gestion post-récolte particulièrement importante.

L'exposition à l'éthylène joue un rôle déterminant, accélérant la maturation post-récolte et influençant directement la qualité globale des produits. Cette classification, combinée à une meilleure compréhension de l'impact de l'éthylène, offre des perspectives précieuses sur les dynamiques complexes de la maturation des fruits. Ces connaissances contribuent non seulement à améliorer les pratiques agricoles, mais aussi à optimiser les stratégies de conservation post-récolte.

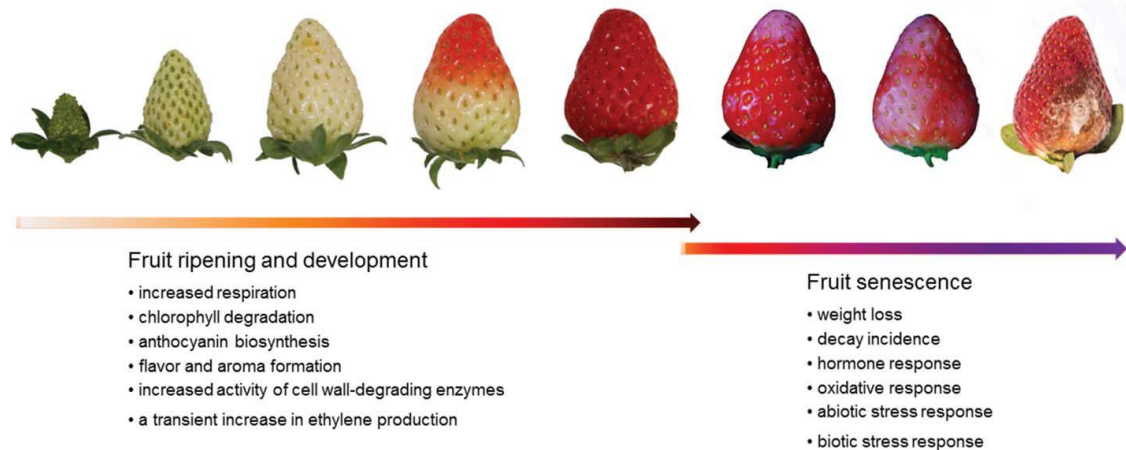


Fig. 6.4 : Un exemple spécifique de maturation et de sénescence des fraises (Li et al. 2017).

Résumé :

La mort cellulaire programmée (PCD) est un processus biologique central pour le développement et l'adaptation des plantes, influençant leur morphologie, croissance et interactions environnementales. Elle intervient dans des mécanismes variés tels que la différenciation des organes, la sénescence des feuilles, des fleurs et des fruits, ainsi que dans les réponses aux stress abiotiques et biotiques. La PCD régule la destruction contrôlée des cellules et tissus, permettant le recyclage des ressources et l'optimisation des fonctions vitales. Par exemple, elle participe au développement des fleurs unisexuées, à la maturation des graines, à la formation de tissus spécialisés (xylème, sclérenchyme) et à la réponse hypersensible aux pathogènes. De plus, la sénescence foliaire mobilise les nutriments vers d'autres organes, et celle des organes floraux et des fruits favorise le recyclage des ressources pour la reproduction et la survie, soulignant l'importance de la régulation hormonale, génétique et environnementale dans ces processus.

Questions de révision :

- Qu'est-ce que la mort cellulaire programmée (PCD) ?
- Quels sont les rôles biologiques majeurs de la PCD dans le cycle de vie des plantes ?
- Donnez des exemples de processus développementaux et adaptatifs impliquant la PCD.
- Quels sont les principaux signaux internes et externes qui déclenchent la sénescence foliaire ?
- Comment les espèces réactives de l'oxygène (ROS) influencent-elles la sénescence ?
- Quelle est la différence entre les mutants stay-green fonctionnels et cosmétiques ?
- Pourquoi les organes floraux ont-ils une durée de vie plus courte que les feuilles ?
- Expliquez les deux voies de PCD (lysigénie et apoptose-like) impliquées dans la sénescence des fleurs.

- Comment la sénescence florale contribue-t-elle au recyclage des nutriments pour la plante ?
- Quelle est la différence entre les fruits climactériques et non climactériques en termes de maturation et de production d'éthylène ?
- Pourquoi la gestion post-récolte des fruits climactériques est-elle particulièrement importante ?
- Comment l'éthylène influence-t-il la maturation et la qualité des fruits ?
- Quelles sont les similarités et différences entre la sénescence des feuilles, des fleurs et des fruits ?
- Comment les signaux hormonaux et environnementaux interagissent-ils pour réguler la PCD et la sénescence ?
- Quelles sont les implications pratiques des études sur la PCD et la sénescence pour l'agriculture et la conservation des récoltes ?

RÉFÉRENCES

Bibliographiques: 📖

- **Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002).** Plant development. In *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. Garland Science.
- **Azad, A. K., Ishikawa, T., Ishikawa, T., Sawa, Y., & Shibata, H. (2008).** Intracellular energy depletion triggers programmed cell death during petal senescence in tulip. *Journal of Experimental Botany*, 59(8), 2085-2095.
- **Baseer, A. Q., Niazi, P., Monib, A. W., Hassand, M. H., Hejran, A. B., Sarwari, A., ... & Fahmawi, S. M. S. (2024).** Lifecycle Transitions in Plant Development: Ripening, Senescence, & Cell Death. *Journal of Pharma Insights and Research*, 2(2), 169-179.
- **Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2023).** Plant physiology, development and metabolism. Springer Nature.
- **Boyer, F., Simon, R. (2015).** Asymmetric cell divisions constructing Arabidopsis stem cell niches: the emerging role of protein phosphatases. *Plant Biology*, 17: 935–945. doi: 10.1111/plb.12352.
- **Buchanan, B. B., Gruissem, W., & Jones, R. L. (2015).** *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (2nd Ed.). John Wiley & Sons.
- **Carles, C. C., & Fletcher, J. C. (2003).** Shoot apical meristem maintenance: the art of a dynamic balance. *Trends in plant science*, 8(8), 394-401.
- **Clark, S. E. (1996).** The shoot meristem as a site of continuous organogenesis. In *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Vol. 7, No. 6, pp. 873-880. Academic Press.
- **David, K. (2017).** Cell division and cell differentiation. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*.
- **Gregersen, P. L., Culetic, A., Boschian, L., & Krupinska, K. (2013).** Plant senescence and crop productivity. *Plant molecular biology*, 82, 603-622.
- **Haberlandt Gottlieb. (1902).** « Kulturversuche mit isolierten Pflanzenzellen », *Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften Wien, Mathematische Naturwiss, Classe 111, Abt. 1, Vol. 1*, pp. 69-92.
- **Higashiyama, T. (2010).** Peptide signaling in pollen–pistil interactions. *Plant and cell physiology*, 51(2), 177-189.
- **Jing, H. C., Schippers, J. H., & Hille, J. (2005).** Ethylene-induced leaf senescence. *Plant Physiology*, 139(2), 585–602.
- **Jones, R., Ougham, H., Thomas, H., & Waaland, S. (2012).** *Molecular life of plants* (pp. xxiv+-742).
- **Jourdin, S. (2008).** Gottlieb Haberlandt (1854-1945) et la culture in vitro de tissus et de cellules végétales. *Bulletin d'histoire et d'épistémologie des sciences de la vie*, 15(2), 197-217.
- **Kalra, G., Bhatla, S.C. (2018).** Cytokinins. In: *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, Singapore.
- **Kochhar, S. L., & Gujral, S. K. (2020).** *Plant physiology: Theory and applications*. Cambridge University Press.
- **Lamb, R. S., Hill, T. A., Tan, Q. K. G., & Irish, V. F. (2002).** Regulation of APETALA3 floral homeotic gene expression by meristem identity genes. *Development*, 129(9), 2079-2086.
- **Lambing, C. (Ed.). (2022).** *Plant Gametogenesis: Methods and Protocols*. Humana Press.

- **Laux, T., & Jurgens, G. (1997).** Embryogenesis: a new start in life. *The Plant Cell*, 9(7), 989.
- **Li, L., Ban, Z., Limwachiranon, J., & Luo, Z. (2017).** Proteomic studies on fruit ripening and senescence. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 36(2), 116-127.
- **Liljegren, S. J., Gustafson-Brown, C., Pinyopich, A., Ditta, G. S., & Yanofsky, M. F. (1999).** Interactions among APETALA1, LEAFY, and TERMINAL FLOWER1 specify meristem fate. *The Plant Cell*, 11(6), 1007-1018.
- **Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger, Ian Max Møller, Angus Murphy (2018).** *Fundamentals of Plant Physiology*-Sinauer Associates is an imprint of Oxford University Press.
- **Lim, P. O., Kim, H. J., & Nam, H. G. (2007).** Leaf senescence. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 115–136.
- **Lockshin, R. A. (2005).** La mort cellulaire programmée : histoire et avenir d'un concept. *Journal de la Société de Biologie*, 199(3), 169-173.
- **Magyar, Z. (2008).** Keeping the balance between proliferation and differentiation by the E2F transcriptional regulatory network is central to plant growth and development. In *Plant growth signaling* (pp. 89-105). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- **Mayta, M. L., Hajirezaei, M. R., Carrillo, N., & Lodeyro, A. F. (2019).** Leaf senescence: The chloroplast connection comes of age. *Plants*, 8(11), 495.
- **Meyerowitz, E. M., Bowman, J. L., Brockman, L. L., Drews, G. N., Jack, T., Sieburth, L. E., & Weigel, D. (1991).** A genetic and molecular model for flower development in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 113(Supplement 1), 157-167.
- **Mylona, P., & Dolan, L. (2002).** The root meristem. *Meristematic tissues in plant growth and development*. Sheffield Academic, Sheffield, 279-292.
- **Pacini, E., & Hesse, M. (2005).** Pollenkitt—its composition, forms and functions. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 200(5), 399-415.
- **Parenicová, L., De Folter, S., Kieffer, M., Horner, D. S., Favalli, C., Busscher, J., ... & Angenent, G. C. (2003).** Molecular and phylogenetic analyses of the complete MADS-box transcription factor family in *Arabidopsis*: new openings to the MADS world. *The Plant Cell*, 15(7), 1538-1551.
- **Peerzada, Y. Y., & Iqbal, M. (2021).** Leaf senescence and ethylene signaling. *Plant Growth Regulators: Signalling under Stress Conditions*, 153-171.
- **Perilli, S., Di Mambro, R., & Sabatini, S. (2012).** Growth and development of the root apical meristem. *Current opinion in plant biology*, 15(1), 17-23.
- **Perrot-Rechenmann, C. (2010).** Cellular responses to auxin: division versus expansion. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(5), a001446.
- **Prunet, N., Morel, P., Thierry, A. M., Eshed, Y., Bowman, J. L., Negrutiu, I., & Trehin, C. (2008).** REBELOTE, SQUINT, and ULTRAPETALA1 function redundantly in the temporal regulation of floral meristem termination in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 20(4), 901-919.
- **Riechmann, J. L., Wang, M., & Meyerowitz, E. M. (1996).** DNA-binding properties of *Arabidopsis* MADS domain homeotic proteins APETALA1, APETALA3, PISTILLATA and AGAMOUS. *Nucleic Acids Research*, 24(16), 3134-3141.
- **Riechmann, J. L., & Meyerowitz, E. M. (1997).** MADS domain proteins in plant development. *Biological chemistry*, 378(10), 1079-1102.
- **Robert, H. S., & Friml, J. (2009).** Auxin and other signals on the move in plants. *Nature chemical biology*, 5(5), 325-332.
- **Scutt, C. P., Vinauger-Douard, M., Fourquin, C., Finet, C., & Dumas, C. (2006).** An evolutionary perspective on the regulation of carpel development. *Journal of Experimental Botany*, 57(10), 2143-2152.

- **Sasi, J. M., Gupta, S., Singh, A., Kujur, A., Agarwal, M., & Katiyar-Agarwal, S. (2022).** Know when and how to die: gaining insights into the molecular regulation of leaf senescence. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(8), 1515-1534.
- **Takayama, S., Shiba, H., Iwano, M., Asano, K., Hara, M., Che, F. S., ... & Isogai, A. (2000).** Isolation and characterization of pollen coat proteins of *Brassica campestris* that interact with S locus-related glycoprotein 1 involved in pollen–stigma adhesion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(7), 3765-3770.
- **Teppabut, Y., Oyama, K. I., Kondo, T., & Yoshida, K. (2018).** Change of Petals' Color and Chemical Components in *Oenothera* Flowers during Senescence. *Molecules*, 23(7), 1698.
- **Theissen G (2000)** Evolutionary developmental genetics of floral symmetry: the revealing power of Linnaeus' monstrous flower. *Bioessays* 22:209-213.
- **Theissen G, Saedler H. (2001)** Plant Biology: Floral Quartets. *Nature* 409:469-471.
- **Trobacher, C. P. (2009).** Ethylene and programmed cell death in plants. *Botany*, 87(8), 757-769.
- **Twyman, R. M. (2003).** Molecular Biology of Development. *Plant Cell*, 14, 903-916.
- **Ullah, A., Akbar, A., & Yang, X. (2019).** Jasmonic acid (JA)-mediated signaling in leaf senescence. In *Senescence Signalling and Control in Plants* (pp. 111-123). Academic Press.
- **Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Reece, J. B., & Campbell, N. A. (2020).** *Campbell Biologie*. Pearson ERPI.
- **Vanyushin, B. F., Bakeeva, L. E., Zamyatnina, V. A., & Aleksandrushkina, N. I. (2004).** Apoptosis in plants: specific features of plant apoptotic cells and effect of various factors and agents. *Int Rev Cytol*, 233, 135-179.
- **Woo, H. R., Kim, H. J., Lim, P. O., & Nam, H. G. (2019).** Leaf senescence: systems and dynamics aspects. *Annual review of plant biology*, 70(1), 347-376.
- **Zentgraf, U. (2019).** Tug-of-war during senescence. *Nature Plants*, 5(2), 129-130.
- **Zahn LM, Leebens-Mack J, DePamphilis CW, Ma H, Theissen G (2005).** To Be or Not to Be a flower: the role of DEFICIENS and GLOBOSA orthologs in the evolution of the angiosperms. *J. Hered.* 96:225-240.

Netographiques:

- Kimball John W., (1999). [🌐](#)
- Biotech-ecole.net [🌐](#)
- Plateforme ACCES [🌐](#)
- Wikipedia [🌐](#)

ANNEXES

1- Les organismes modèles : une révolution dans l'étude des végétaux

Comme dans les autres domaines de la biologie, les techniques de la biologie moléculaire et une attention particulière aux organismes modèles comme *Arabidopsis thaliana* ont catalysé un foisonnement de la recherche au cours des deux dernières décennies. *Arabidopsis*, plante délicate de la famille des Crucifères, n'a aucune valeur agricole caractéristique, mais elle constitue un organisme modèle qui intéresse les généticiens et les biologistes moléculaires pour de nombreuses raisons. La petite taille d'*A. thaliana* permet aux chercheurs de cultiver des milliers de plants dans quelques mètres carrés, en laboratoire.

Son temps de génération est court : il suffit d'environ six semaines pour qu'une graine devienne une plante mature qui produit d'autres graines. Cette rapide maturation permet aux biologistes d'effectuer des expériences de croisement génétique dans un délai relativement court. Un plant peut produire plus de 5 000 graines, une autre propriété qui rend *Arabidopsis* utile pour l'analyse génétique.

En plus de ces caractères de base, le génome de la plante se prête particulièrement bien à l'analyse par des méthodes de génétique moléculaire. Le génome d'*Arabidopsis*, qui comporte environ 27 400 gènes codant pour des protéines, est parmi les plus petits génomes de Végétaux connus. De plus, la plante n'a que cinq paires de chromosomes, ce qui facilite la tâche des généticiens pour localiser des gènes particuliers.

La petitesse de son génome a fait en sorte qu'*Arabidopsis thaliana* fut la première plante dont on a complètement séquencé le génome ; cela a demandé un effort multinational de six années (Tableau ci-dessous).

Une autre propriété qui rend *Arabidopsis* attrayante pour les biologistes moléculaires est la facilité avec laquelle on peut transformer ses cellules avec de l'ADN étranger. La transformation des cellules d'*Arabidopsis* est utile pour étudier la façon dont ses gènes fonctionnent et interagissent avec d'autres gènes. Les biologistes transforment habituellement les cellules des plantes en les infectant avec des variétés génétiquement modifiées de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*. Les chercheurs qui travaillent avec *Arabidopsis* utilisent également une variante de cette technique pour créer une plante présentant une mutation particulière.

Étudier l'effet d'une mutation dans un gène donne souvent des informations importantes au sujet de la fonction normale du gène. Comme *Agrobacterium* insère de façon aléatoire son ADN transformé dans le génome, l'ADN peut être inséré au milieu d'un gène. Une telle insertion détruit habituellement la fonction du gène modifié, ce qui donne naissance à un gène mutant inactif.

Des projets à grande échelle employant cette technique sont en marche en vue de déterminer la fonction de chaque gène d'*Arabidopsis*. En définissant la fonction de chaque gène et en suivant chaque voie métabolique, les chercheurs espèrent établir le plan de développement des Végétaux, un des principaux objectifs de la biologie des systèmes. On prévoit la création prochaine d'une « plante virtuelle » à l'aide de l'informatique. Cela permettrait de visualiser les gènes qui ont activés dans les différentes parties de la plante tout au long de son développement.

La recherche fondamentale qui s'appuie sur des organismes modèles comme *Arabidopsis* a accéléré le rythme des découvertes en botanique, dont l'identification des voies génétiques complexes qui régissent la structure des Végétaux. En lisant plus sur ce sujet, vous serez en mesure d'apprécier non seulement le pouvoir de l'étude des organismes modèles, mais aussi la riche histoire de la recherche sous-jacente à toute la recherche moderne sur les Végétaux.



Tableau 35.1 Les fonctions des gènes d'*Arabidopsis thaliana*

Fonction des gènes	Nombre de gènes	Pourcentage du total*
Fonction inconnue	9 967	36 %
Métabolisme des protéines	3 204	12 %
Transport	2 253	8 %
Transcription	2 039	7 %
Réponse à un stress	1 811	7 %
Développement	1 627	6 %
Détection de l'environnement	1 627	6 %
Division et organisation cellulaires	1 201	4 %
Transduction de stimulus	1 097	4 %
Métabolisme des acides nucléiques	333	1 %
Voies énergétiques	304	1 %
Autres mécanismes cellulaires	8 959	33 %
Autres mécanismes métaboliques	8 476	31 %
Autres mécanismes biologiques	1 592	6 %

Source : The *Arabidopsis* Information Resource, 2010.

* Les pourcentages totalisent plus de 100 % parce que certains gènes appartiennent à plus d'une catégorie.

Source : *Biologie de Campbell*.

2- Pollinisation

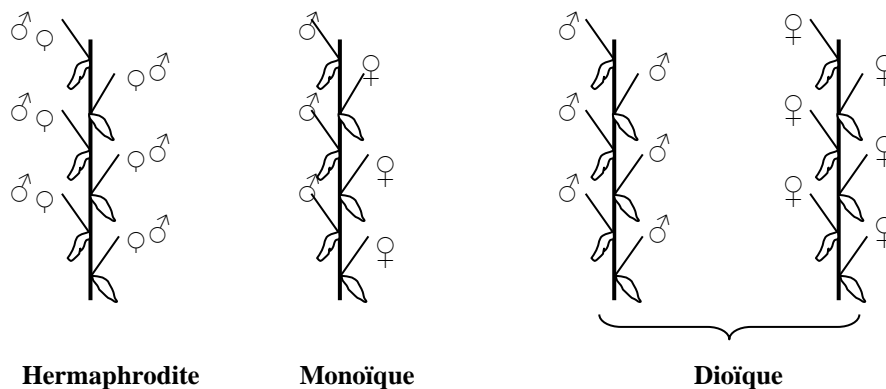
1- Définition :

La **Pollinisation**, est le transfert du pollen émis par les étamines d'une fleur au stigmate de la même fleur (**autogamie**) ou d'une autre fleur (**allogamie**) de la même plante ou d'une autre plante.

Comment les plantes choisissent-elles leurs partenaires sexuels ?

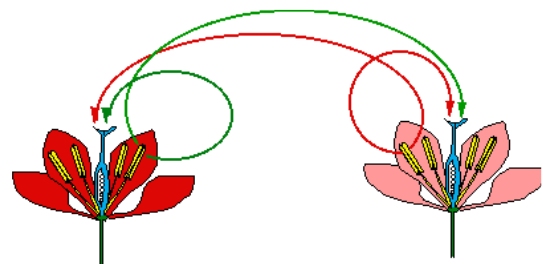
L'autogamie est rare dans la nature. L'existence de partenaires mâles et femelles permet d'obtenir le brassage génétique nécessaire à la variabilité au sein d'une espèce. Chez les plantes à fleurs, leur immobilité leur interdit une recherche active d'un partenaire complémentaire. De plus, de très nombreuses plantes à fleurs sont bisexuées. Ainsi, il est bon de se demander. Comment les plantes choisissent-elles leurs partenaires sexuels ?

Considérons deux plantes de la même espèce, la pollinisation peut se réaliser de différentes façons selon que les fleurs sont **unisexuées** ou **bisexuées**. Lorsque les fleurs sont unisexuées, elles peuvent être portées par des individus différents (plantes **dioïques**, exemple : figuier, palmier dattier) ou par le même individu (plantes **monoïques**, exemple : chêne, courge). Lorsque les fleurs sont bisexuées (plantes **hermaphrodites**), **l'autopollinisation** (et donc **l'autofécondation**) peut être possible, mais certaines caractéristiques permettent de favoriser l'allopollinisation (et donc l'hétérofécondation= allogamie).



- **Pollinisation au hasard**

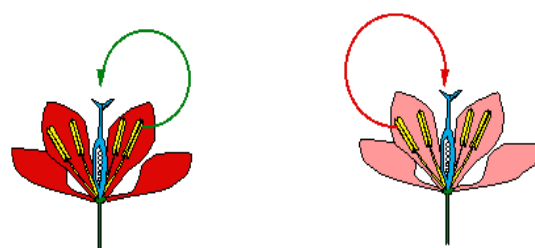
C'est le cas le plus général. Le pollen des étamines peut se déposer aussi bien sur les stigmates de la même fleur, d'une autre fleur de la même plante ou d'une fleur d'une autre plante. Des autofécondations ou des fécondations croisées peuvent se réaliser au hasard, exemple : le **maïs** (Graminées).



Le plus souvent cependant, des dispositifs particuliers (anatomiques, temporels ou génétiques) permettent de choisir une stratégie : autofécondation, fécondation croisée.

- **Autopollinisation**

Il faut que la fleur soit bisexuée, que les étamines soient mûres en même temps que les carpelles et que le pollen soit capable de féconder les ovules de sa propre fleur. Ce mode de pollinisation où le pollen se dépose sur le stigmate de la même fleur appartient aux plantes dites autogames, exemples : le **pois**, le **blé**, etc.. Il y a des cas où la

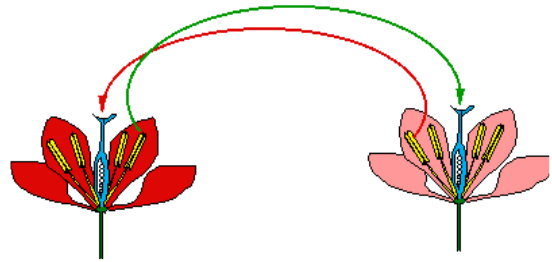


pollinisation se fait avant l'épanouissement des fleurs ; ces plantes sont dites **cléistogames** (se dit d'une fleur ne s'ouvrant pas au moment de la reproduction et dans laquelle il y a autofécondation ex : **violette**).

Quelques plantes utilisent cette stratégie. Elle permet de conserver une lignée pure **homozygotique** (la même lignée parentale) pour tous les gènes mais supprime toute variabilité. Cependant une espèce qui produit des descendants aussi uniformes prend le risque de voir son entière population détruite par un simple changement dans son environnement.

- **Pollinisation croisée**

La fécondation croisée produit des descendants plus variés qui sont capables de surmonter les conditions défavorables de l'environnement. De plus, les plantes à pollinisation croisée ont tendance à produire des graines plus nombreuses et de meilleure qualité.



Pour de tels avantages, les plantes possèdent des mécanismes complexes qui empêchent l'autopollinisation et favorisent le transport du pollen le plus loin possible.

C'est dans ce cas que l'on trouve la plus grande variété de stratégies. Ces stratégies sont de nature :

- ▲ **anatomiques** (en relation souvent avec la pollinisation par les insectes). Exemples : la **sauge**, la **primevère** et certaines **orchidées** (monocotylédones). Les plantes dans ce cas sont dites **Herkogames**.
- ▲ **temporelles** (maturité différée des organes mâles et femelles). Ces plantes sont dites **Dichogames**, c'est-à-dire que les étamines mûrissent avant (**protandrie/ tournesol**) ou après le pistil (protogynie/**I'arum**) de la même fleur, exemples: le **maïs**, **l'avocatier**, **I'arum...**
- ▲ **génétiques** : quel que soit le mode de transport du pollen sur le stigmate des fleurs, la poursuite des processus permettant la fécondation est contrôlée par des phénomènes **d'incompatibilité génétique** interdisant l'autofécondation (plantes **auto-stériles** = **Auto Incompatibilité génétique**).

De nombreuses plantes interdisent leur autopollinisation en produisant des composés (molécules) qui empêchent le pollen de se développer sur le stigmate de la même fleur ou le tube pollinique de se former ou de se développer dans le style.

2- Les Agents pollinisateurs :

Un agent pollinisateur extérieur (vent, insectes, etc.) est souvent indispensable pour assurer la pollinisation indirecte favorisée par les plantes.

Selon l'agent vecteur on distingue plusieurs types de pollinisation :

- **hydrogamie** (pollinisation assurée par l'eau)
- **anémogamie** (assurée par le vent)
- **entomogamie** (assurée par les insectes)
- **ornithogamie** (assurée par les oiseaux)
- **chéiroptérogamie** (assurée par les chauves-souris)
- **zoogamie** ou **zoidogamie** (assurée par les animaux)
- **artificielle** (assurée par l'homme).

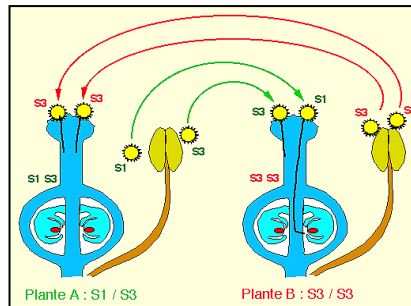
3- Incompatibilités génétiques :

Chez beaucoup de plantes qui pourraient, morphologiquement, réaliser au hasard l'autofécondation ou la fécondation croisée, des systèmes d'incompatibilité génétique permettent de favoriser ou même de rendre obligatoire la fécondation croisée. Ces systèmes se situent au niveau de la germination ou du développement du grain de pollen sur le stigmate.

Ces systèmes font appel à des gènes d'incompatibilité (S) existant sous forme de nombreux allèles (S1, S2, S3, ..., Sx). Ils peuvent être classés en deux processus : l'auto-incompatibilité gaméophytique et l'auto-incompatibilité sporophytique.

- **Auto-incompatibilité gaméophytique**

Les plantes hétérozygotes diploïdes disposent pour le gène S de deux allèles. Le pollen, gaméophyte mâle haploïde, ne contient qu'un de ces allèles. Si l'allèle du pollen est le même que l'un des deux allèles de l'ovaire (diploïde) de l'organe femelle, le développement du tube pollinique sera bloqué et la fécondation ne pourra avoir lieu. Dans ce cas, l'autofécondation est impossible. Seule la fécondation entre deux plantes éloignées disposant d'allèles différents est possible. Le schéma ci-dessous montre un cas dans lequel un allèle diffère entre les deux plantes.

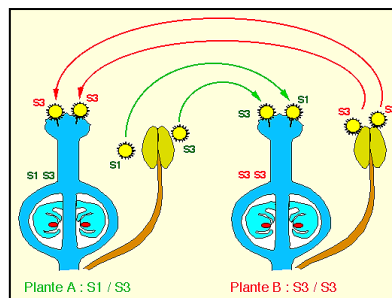


La plante A (S1/S3) produit des grains de pollen S1 ou S3. Seul le pollen S1 pourra germer puis féconder la plante B (S3/S3). En revanche, la plante B (S3/S3) ne produit que des grains de pollen S3. Ils ne pourront germer sur la plante A (S1/S3) car l'ovaire diploïde contient l'allèle S3.

Ces systèmes sont souvent compliqués car ils dépendent de l'état de développement.

- **Auto-incompatibilité sporophytique**

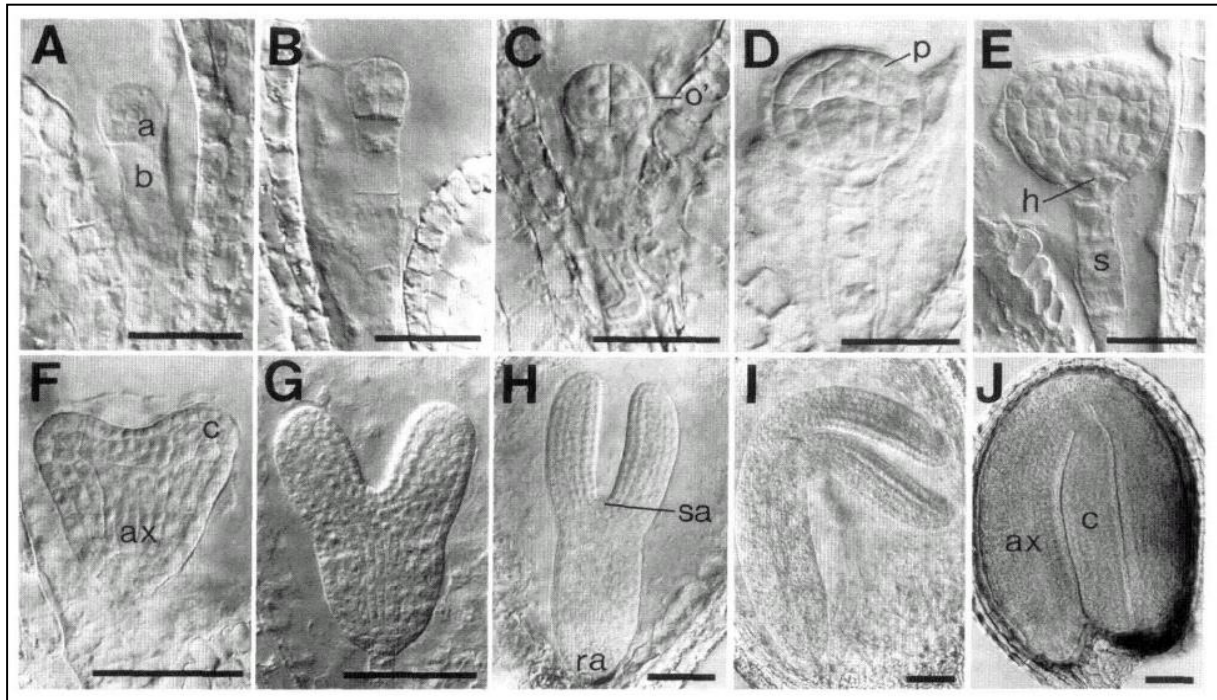
Les plantes hétérozygotes disposent pour le gène S de deux allèles. Le pollen, gaméophyte mâle haploïde, ne contient qu'un de ces allèles. Mais une partie des composants de sa paroi a été synthétisée par les cellules nourricières du pollen (le tapis) au cours de sa formation. Ces cellules étaient diploïdes et contenaient donc les deux allèles. Si l'un des deux allèles de la plante diploïde qui a généré le pollen est le même que l'un des deux allèles de l'ovaire (diploïde), le développement du tube pollinique sera bloqué et la fécondation ne pourra avoir lieu. Dans ce cas, l'autofécondation est impossible. Seule la fécondation entre deux plantes éloignées disposant d'allèles différents est possible. Le schéma ci-dessous montre un cas dans lequel un allèle diffère.



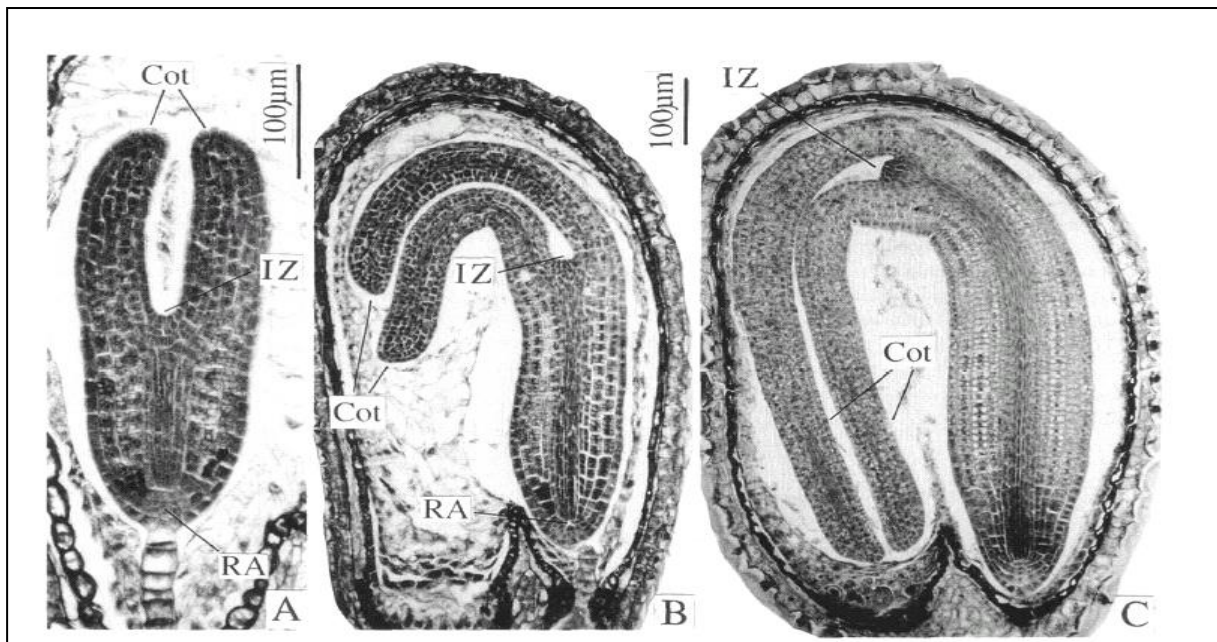
La plante A (S1/S3) produit des grains de pollen S1 ou S3 qui contiennent dans leur paroi des produits synthétisés par le tapis diploïde et correspondant aux deux allèles S1 et S3. Aucun grain de pollen ne peut germer sur la plante B (S3/S3) car tous contiennent des produits d'origine S3. Il en est de même pour le croisement inverse.

Ces systèmes sont souvent compliqués car il existe des phénomènes de dominance entre les allèles du gène S.

PLANCHE 1

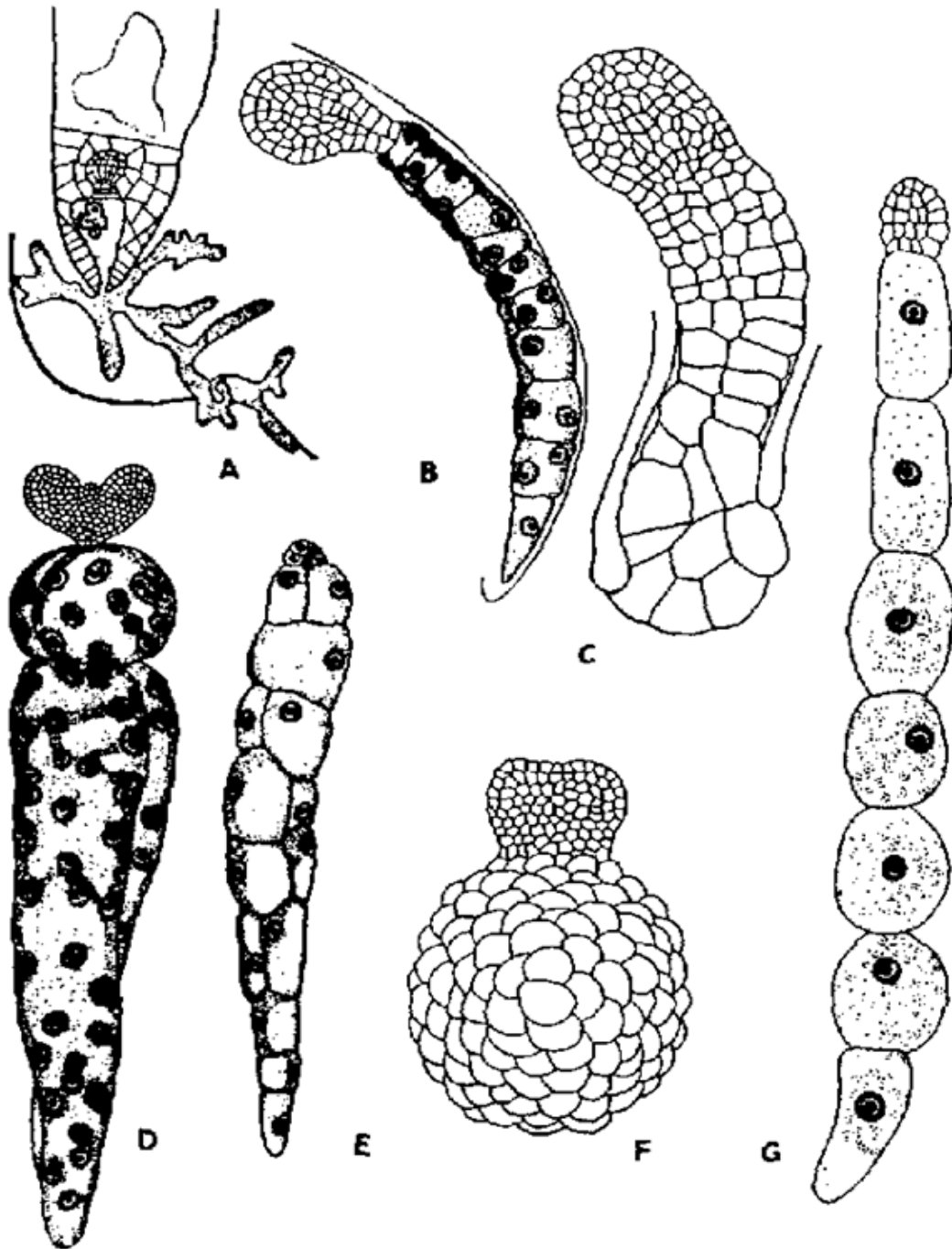


Figures A—J: micrographies qui représentent les différents stades d'embryogenèse végétale. Aa- cellule terminale; Ab- cellule basale; B- stade quadrant; C- stade octant; D- stade dermatogène; E- stade globulaire; F- stade de transition; G- stade cordiforme; H- stade torpille (coty-linéaires); I- stade torpille (coty-enroulés); J- stade embryon mature.



Figures qui représentent l'embryon au stade torpille (maturation et dessiccation). A- stade cotylédons-linéaires; B- stade cotylédons-enroulés ou (en boucle); C- stade de maturation (cotylédons-renversés).

PLANCHE 2 - Les différents types de suspenseurs.



Sources :

- https://rnbio.upmc.fr/bio-veg_pollinisation5_5
- Pesson, P., & Louveaux, J. (Eds.). (1984). Pollinisation et productions végétales. Editions Quae.
- West, M., & Harada, J. J. (1993). Embryogenesis in higher plants: an overview. *The Plant Cell*, 5(10), 1361.
- Gorenflot, R. (1990). *Biologie végétale: Appareil reproducteur (Vol. 2)*. Masson.

3- Germination vs. Dormance des Graines (D'après Y Crosaz, 1995)

1. Introduction

Chez les Spermaphytes, la propagation de l'espèce se fait par la graine, issue de la transformation de l'ovule après fécondation. L'embryon entre dans une phase de repos (diapause), caractérisée par une déshydratation, ce qui lui permet de résister aux conditions défavorables et de reprendre sa croissance plus tard. La dissémination se fait directement lorsque la graine est libérée ou indirectement lorsqu'elle reste dans le fruit, qui peut se disperser de diverses manières (Evenari, 1961).

Botaniquement, la graine correspond à l'ovule fécondé, mais le terme "semence" est souvent préféré dans le langage courant. Ce travail se concentrera sur les semences sèches issues de la reproduction sexuée, en excluant celles provenant de la multiplication végétative (Côme, 1982). Ewart (1908) classe les semences en trois catégories : macrobiotiques (plus de 15 ans de vie), mésobiotiques (3 à 15 ans) et microbiotiques (moins de 3 ans, parfois seulement quelques jours ou semaines).

2. Définition de la germination

La germination désigne l'éveil d'une semence en dormance, conduisant à la formation d'une plantule. En 1957, Evenari la définit comme un processus allant de l'hydratation initiale de la semence au début de la croissance de la racicule. Cette définition, confirmée par des mesures d'imbibition et d'activité respiratoire, identifie trois phases : imbibition, germination stricto sensu et croissance. Ces étapes correspondent également aux variations de l'activité respiratoire (Figure 1).

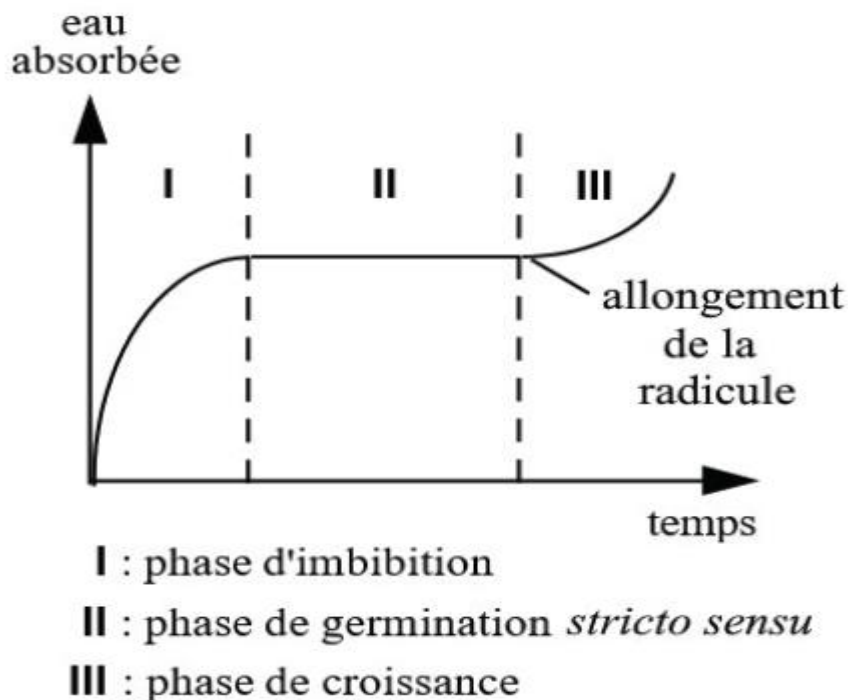


Figure 1. Courbe théorique d'imbibition d'une semence (d'après Côme, 1982).

Jusqu'à la fin de la germination stricto sensu, une semence peut être déshydratée sans mourir, mais après le début de la croissance de la racicule, la déshydratation devient fatale. Bayard (1991) montre qu'après trois heures d'imbibition, une déshydratation n'altère ni la vitesse ni la capacité de germination de diverses semences (*Festuca*, *Trifolium*, etc.). Germination et croissance répondent différemment aux facteurs environnementaux, et la transformation physiologique irréversible marque la germination.

La germination stricto sensu, essentielle pour la croissance future, est difficile à délimiter lors des tests. La percée des enveloppes ou une racicule de 1 mm (Jordan et Haferkamp, 1989)

servent souvent de critères. Par simplification, le terme "germination" désignera ici les phases réversibles (imbibition et germination stricto sensu).

La qualité germinative d'une semence, influencée par son génome et divers facteurs (Côme, 1993), dépend des étapes avant, pendant et après la récolte, ainsi que des conditions de germination.

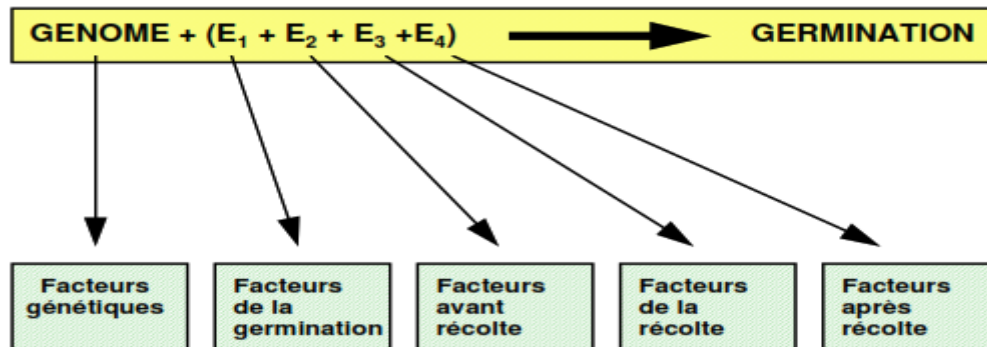


Figure 2. Les différents facteurs impliqués dans la qualité germinative de semences (d'après Côme, 1993).

L'espèce, la variété, la taille ou le poids des semences sont quelques-uns des facteurs génétiques qui peuvent avoir une influence sur la qualité germinative des semences. Par exemple, Chaussat et Chapon (1981) mettent en évidence une relation directe entre le poids du grain et sa vitesse de germination pour différentes espèces du genre *Triticum*.

Les facteurs avant récolte correspondent, entre autres :

- au climat (température, pluie et lumière) ;
- aux techniques culturales (fumure, produits phytosanitaires, raccourcisseurs de paille) ;
- à la position des semences sur la plante mère ;
- à l'âge de la plante mère.

Le stade de maturité des semences lors de leur récolte est un facteur clé pour la germination, rendant la date de récolte essentielle. Après récolte, les traitements comme le séchage, le nettoyage ou le triage, ainsi que la durée et les conditions de conservation, influencent fortement les propriétés germinatives (Côme, 1993). L'âge des semences peut également modifier les exigences pour la germination, notamment en termes de température (Barton, 1936).

Les facteurs de germination incluent la température, l'oxygène et la lumière, mais c'est leur interaction qui détermine le succès. L'eau est indispensable, mais insuffisante sans des conditions thermiques et d'oxygénation adéquates. D'autres éléments, comme les inhibiteurs de germination, le substrat (profondeur du semis, granulométrie) et les paramètres des tests en laboratoire (pH, densité), influencent aussi la germination.

3. Les dormances

Certaines semences, malgré des conditions favorables, ne germent pas : c'est la dormance. Lang et al. (1987) distinguent 54 types de dormance en trois classes principales, mais Hilhorst et Karssen (1992) jugent cette distinction excessive.

Nous retiendrons ici que deux types : l'inhibition tégumentaire et la dormance embryonnaire. Dans le premier cas, les enveloppes séminales bloquent l'eau ou l'oxygène, empêchant la germination, mais les embryons isolés germent. Dans le second, les embryons ne germent pas, même isolés, en raison d'une incapacité intrinsèque, qualifiée de dormance embryonnaire.

3.1. Les inhibitions tégumentaires

Les enveloppes séminales qui entourent l'embryon constituent des obstacles plus ou moins efficaces au passage de l'eau ou de l'oxygène et leur action sur la germination peut être très importante.

3.2. L'imperméabilité à l'eau

Certaines semences, dites dures, ne peuvent pas germer car leurs enveloppes empêchent toute entrée d'eau. Ces graines, courantes chez les Légumineuses, restent sèches et résistantes en milieu humide. Leur dureté se développe lors de la déshydratation en fin de maturation. Nokes (1986) suggère de récolter avant durcissement pour éviter des traitements, tandis que Vora (1989) observe que la dureté augmente avec le temps.

Le pourcentage de graines dures varie selon les espèces et le climat. Verschaffelt (1912) note que les graines de *Gleditschia* sp. récoltées après un été sec sont plus résistantes, et Barton (1965) associe l'aridité à l'imperméabilité des graines de *Robinia pseudoacacia*. La couleur des téguments est souvent corrélée au taux de graines dures.

Ewart (1908) qualifie ces graines de macrobiotiques : après 77 ans, 18 % des graines de *Melilotus albus* germent encore. Leur imperméabilité diminue lentement au fil des ans. L'humidité de l'air influence également la dureté des graines de légumineuses (Stütz, 1933). De nombreux traitements pour améliorer leur germination ont été testés depuis le début du siècle.

■ Les traitements abrasifs

Les traitements qui endommagent les enveloppes améliorent la germination des semences dures. Hamly (1932) obtient 91 % de germination pour *Melilotus albus* après 10 minutes de secouage, contre 0,5 % sans traitement. Hutton et Porter (1937) et Barton (1947) confirment l'efficacité pour plusieurs Légumineuses, avec un traitement de 30 minutes.

D'autres méthodes, comme l'abrasion au papier de verre ou la scarification mécanique, sont également efficaces. Cependant, ces techniques réduisent la durée de vie des semences scarifiées (Graber, 1922) et peuvent causer des problèmes de développement des plantules en raison de dommages à l'embryon (Hamly, 1932).

■ Les trempages

En 1902, Hiltner a été parmi les premiers à utiliser de l'acide sulfurique concentré pour traiter les semences de légumineuses. Cette méthode, bien qu'efficace (80 % de germination après 30 à 120 minutes), peut être inadaptée selon les conditions de trempage, risquant de détériorer l'embryon (Vora, 1989).

Verschaffelt (1912) teste 25 substances sur 41 espèces de légumineuses. Seul l'alcool éthylique absolu ou à 95 % est efficace, notamment pour les Césalpiniées et Mimosacées, où il facilite l'imbibition des fentes. Il est inefficace sur les Papilionacées à semences lisses. Les trempages dans l'eau chaude (60-100°C) améliorent l'imbibition, mais des durées ou températures élevées sont souvent fatales à l'embryon.

Le trempage dans l'azote liquide (-196°C) provoque des microfissures dans les téguments. Busse (1930) montre son efficacité sur le Mélilot, avec 90 % de germination après 3 à 5 minutes de traitement. La durée n'affecte pas les résultats, même après un an de trempage, et ne détériore pas les semences.

3.3. Dormances embryonnaires

La dormance embryonnaire, où un embryon mature ne peut germer même sans ses enveloppes, est fréquente chez les Rosacées et d'autres espèces. Elle se divise en :

- Dormance primaire : s'installe durant le développement de la semence.
- Dormance secondaire : survient chez un embryon imbibé exposé à des conditions défavorables (températures élevées, manque d'oxygène, lumière).

Chez *Scabiosa atropurpurea*, la dormance secondaire se renforce avant l'hiver, empêchant une reprise métabolique prématurée (Mineau, 1987). Un traitement spécifique est alors nécessaire pour la lever, comme le froid humide. À 5°C pendant plusieurs mois, cette méthode est efficace pour de nombreuses espèces, mais peut nécessiter jusqu'à deux ans pour le Rosier (Côme, 1982).

Les mécanismes impliquent probablement des interactions hormonales (acide abscissique, gibbérellines, etc.) ou des corrélations entre radicule, gemmule et cotylédons (Thévenot, cité par Côme, 1982).

3.4. Conclusion sur les dormances

Les dormances protègent les semences d'une germination inopportune lors de conditions climatiques défavorables, assurant ainsi la survie des plantules. Elles diversifient les besoins germinatifs au sein des populations, favorisant un échelonnement de la germination et une meilleure exploitation de l'hétérogénéité environnementale.

Les semences dormantes agissent également comme un mécanisme de résistance contre l'extinction en cas de perturbation exceptionnelle détruisant les parties végétatives. Ainsi, dans un lot, les semences dormantes assurent la résilience face aux accidents climatiques, tandis que les non-dormantes permettent une colonisation rapide en conditions favorables.

Source :

Crosaz, Y. (1995). Lutte contre l'érosion des sols en montagne méditerranéenne: connaissance du matériel végétal et quantification de son impact sur l'érosion (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).

<https://theses.hal.science/tel-00008567v1>

TD/TPN°1

L'auto-maintenance du MAC

Le maintien de la niche des cellules souches dans le Méristème Apical Caulinaire (MAC) se fait selon le modèle Wuschel/Clavata.

❖ **WUSCHEL :**

1) Dans quelle partie du MAC s'exprime le gène *WUSCHEL* (*WUS*) ?

2) Quel est le phénotype du mutant perte de fonction *wus* ?

3) Quelle est la fonction de *WUS* ?

❖ **CLAVATA :**

3 mutants *clavata* mutés dans 3 gènes différents ont été identifiés (*clv1*, *clv2* et *clv3*).

1) Dans quelle partie du Méristème Apical Caulinaire (MAC) s'expriment les gènes *CLAVATA* (*CLV*) ?

2) Quel est le phénotype des 3 mutants *clv* ?

3) Quelle est la fonction biologique des gènes *CLV* ?

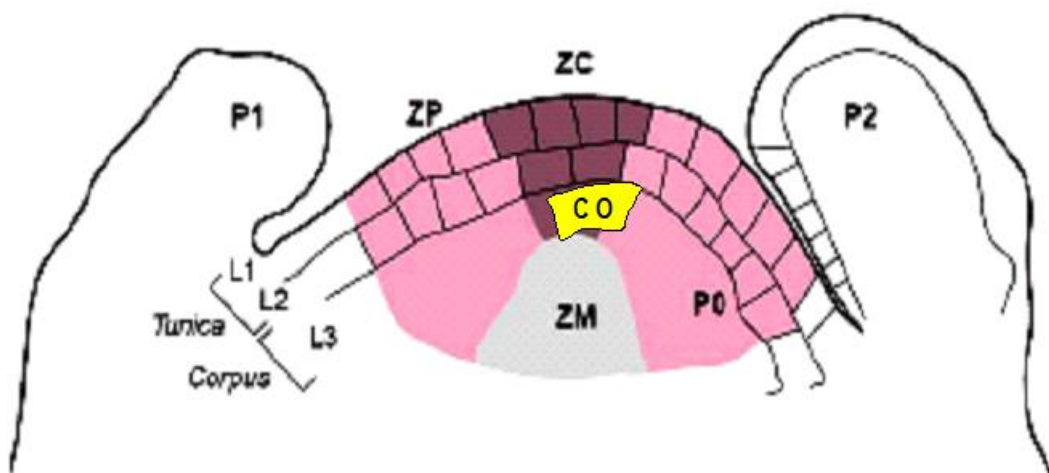
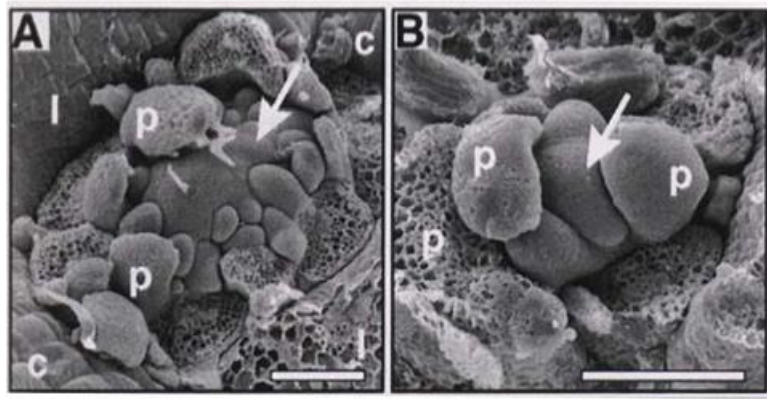
Interaction entre *WUS* et *CLV* :

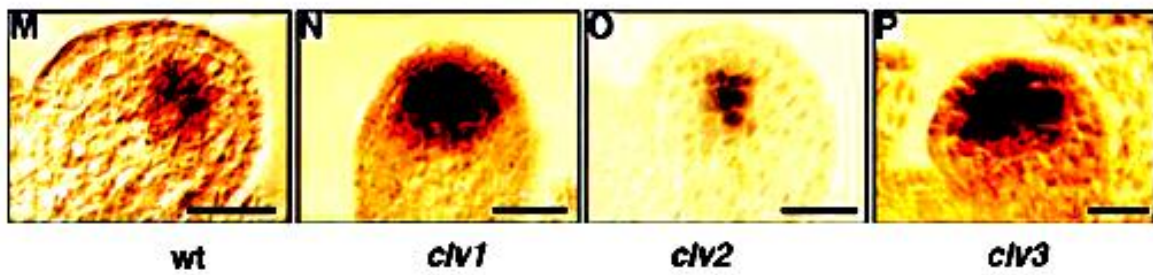
Fig.1: Organisation du MAC d'Arabidopsis thaliana.



CLV1>WUS

wt

Fig. 2: L'expression ectopique de WUS dans le MAC Exemple de plantes P_{35S}-CLV1>WUS.



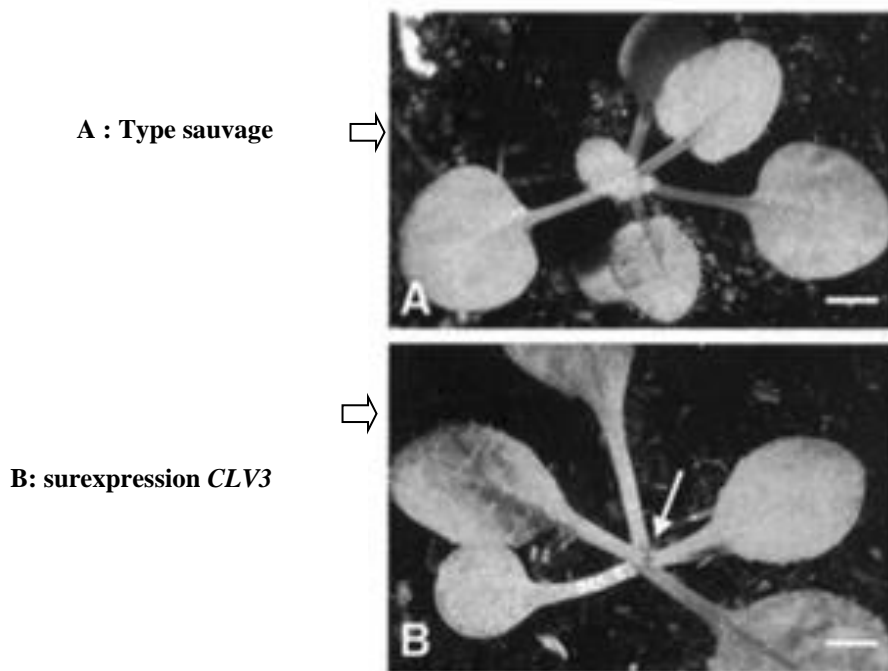
wt

clv1

clv2

clv3

Fig. 3: Le domaine d'expression de WUS chez les mutants *clavata* 1, 2 et 3.



A : Type sauvage

B: surexpression *CLV3*

Fig. 4: La surexpression de *CLV3* produit une plante sans méristème.

1) *Que pouvez-vous conclure ? D'après ces observations, schématiser le fonctionnement des facteurs WUS et CLV dans le maintien des cellules souches.*

2) *Quel peut-être le phénotype du double mutant wus-clv ?*

Références :

- 1) **Schoof, H., Lenhard, M., Haecker, A., Mayer, K. F., Jürgens, G., & Laux, T. (2000).** The stem cell population of Arabidopsis shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes. *Cell*, 100(6), 635-644.
- 2) **Autran, D., & Traas, J. (2001).** Organisation et fonctionnement des cellules souches végétales: le méristème apical d'Arabidopsis. *Médecine/sciences*; 17 : 836-44
https://web.archive.org/web/20200320183730id_/http://ipubli-inserm.inist.fr/bitstream/handle/10608/2018/MS_2001_8-9_836.pdf

TD/TPN°2

Dosage colorimétrique de l'auxine

1- Introduction

L'auxine ou Acide Indole-acétique (AIA), est une phytohormone très importante dans la régulation du développement des plantes. Elle est connue notamment pour son implication dans le contrôle de l'élongation cellulaire ou l'auxèse d'où elle tire son nom.

2- Le but de la manipulation

L'objectif de cette manipulation est de déterminer la concentration de l'auxine par dosage colorimétrique en utilisant le réactif de Salkowski (2mL de 0.5M FeCl₃ ; .98 mL de HClO₄)

3- Expérience I : Détermination du temps optimal de la formation du complexe AIA-réactif de Salkowski.

- Tube-témoin : 1.5 mL de réactif de Salkowski sont ajoutés à 0.5 mL d'eau distillée.
- Tube-test : 1.5 mL de réactif de Salkowski sont ajoutés à 0.5 mL d'AIA à 50 µg/mL.
- Le contenu des deux tubes (bien fermés avec le para-film) doit être mélangé 4 fois par renversement avant la lecture de la densité optique (D.O).

4- Résultats :

Temps (min)	0	1	3	6	9	12	15	20	25
D.O									

- Qu'observez-vous ?
- Quel est le temps optimal pour la formation du complexe AIA-réactif de Salkowski ?
- Quel est l'importance de déterminer le temps optimal ?

5- Expérience II : Préparation de la gamme étalon

A partir d'une solution-mère (SM) de 50 µg/mL d'AIA, 6 solutions de différentes concentrations d'AIA (25mL chacune) sont préparées. Compléter le tableau suivant :

[AIA]µg/mL	0	5	10	20	40	50
SM d'AIA (mL)						
VH₂O (mL)						
VAIA	25	25	25	25	25	25

Par la suite, à chacun des 6 tubes contenant 2 mL de chaque solution d'AIA, 4 mL de réactif de Salkowski sont ajoutés. Les tubes sont par la suite bien fermés et mélangés par renversement, puis laissés reposer dans un bain-marie à 25°C pendant 15-20 min.

Après 15 min (à l'obscurité), la lecture de la densité optique est faite à la longueur d'onde de 530nm.

6- Résultats :

[AIA]µg/mL	0	5	10	20	40	50
D.O						

Tracer la courbe d'étalonnage ($D.O = f[AIA]$), et extrais l'équation qui représente la relation entre la densité optique et la concentration de l'auxine.

- ↪ Pourquoi l'auxine est l'hormone clef du développement végétal ?
- ↪ Quelles sont les principales fonctions de l'auxine ?
- ↪ Comment a été faite la découverte de l'auxine ?

7- Références :

- 1) **Bric, J. M., Bostock, R. M., & Silverstone, S. E. (1991).** Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Applied and environmental Microbiology*, 57(2), 535-538.
- 2) **Patel, M. V., & Patel, R. K. (2014).** Indole-3-acetic acid (IAA) production by endophytic bacteria isolated from saline dessert, the little Runn of Kutch. *CIBTech J Microbiol*, 3, 17-28.

TD/TPN°3

Interaction Auxines/Cytokinines Contrôle du débourrement des bourgeons et la rhizogenèse

1- Préambule :

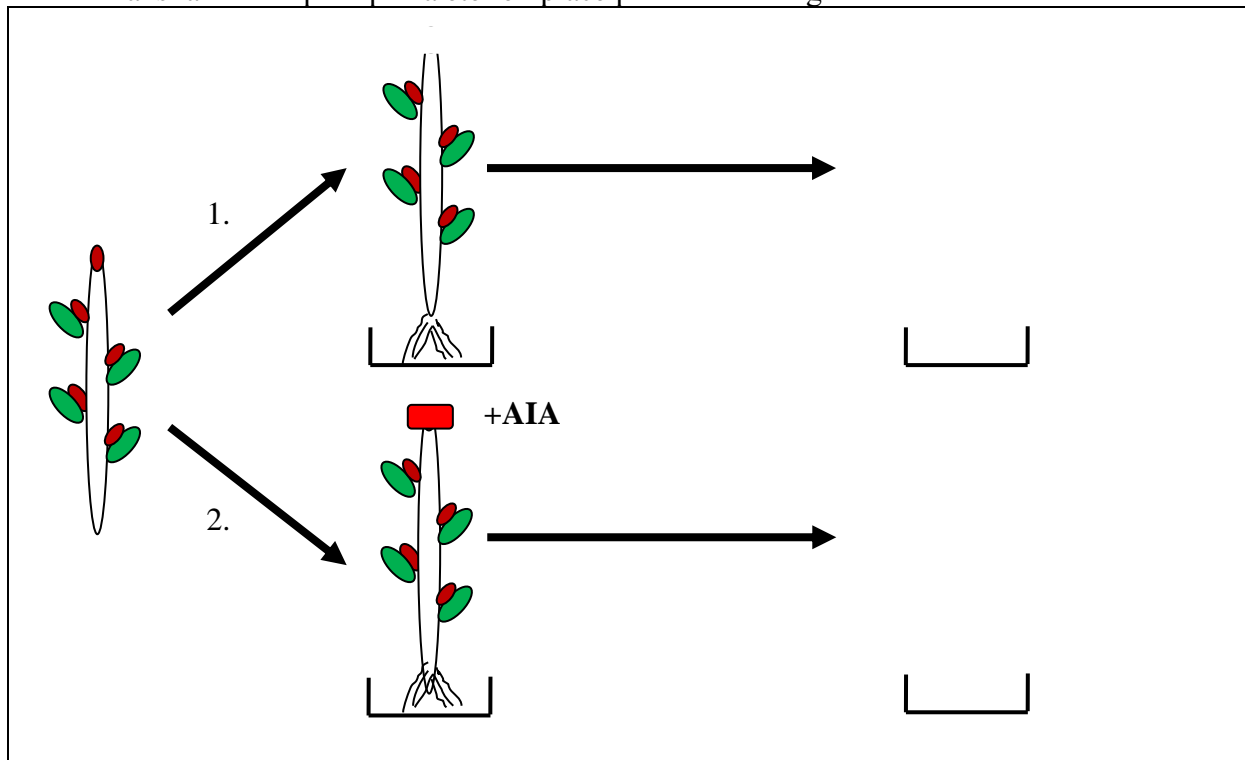
Pour mettre en évidence l'interaction entre les auxines et les cytokinines et leur rôle dans le contrôle de la croissance des angiospermes (débourrement des bourgeons et rhizogenèse), nous vous proposons d'analyser les résultats de cette série d'expériences.

Note : ces expériences ont été réalisées sur des milieux de culture simple (MS) additionnés ou non d'hormones (cytokinines ou auxines) (voir les annexes).

1^{ère} PARTIE :

Dans cette partie deux expériences ont été réalisées afin de mettre en évidence l'effet de l'auxine sur le débourrement des bourgeons axillaires et la rhizogenèse :

- 1- Dans la 1^{ère} Exp. l'apex (MAC) a été décapité et les racines conservées.
- 2- Dans la 2^{ème} Exp. l'apex a été remplacé par un bloc de gélose contenant de l'auxine.

**Résultats**

- 1- *Expérience 1* : après un certain temps (4 – 6 semaines) se produit un débourrement des bourgeons axillaires associé à une faible croissance des racines.
- 2- *Expérience 2* : le débourrement des bourgeons axillaires ne se produit pas, mais une forte croissance des racines a été observée.

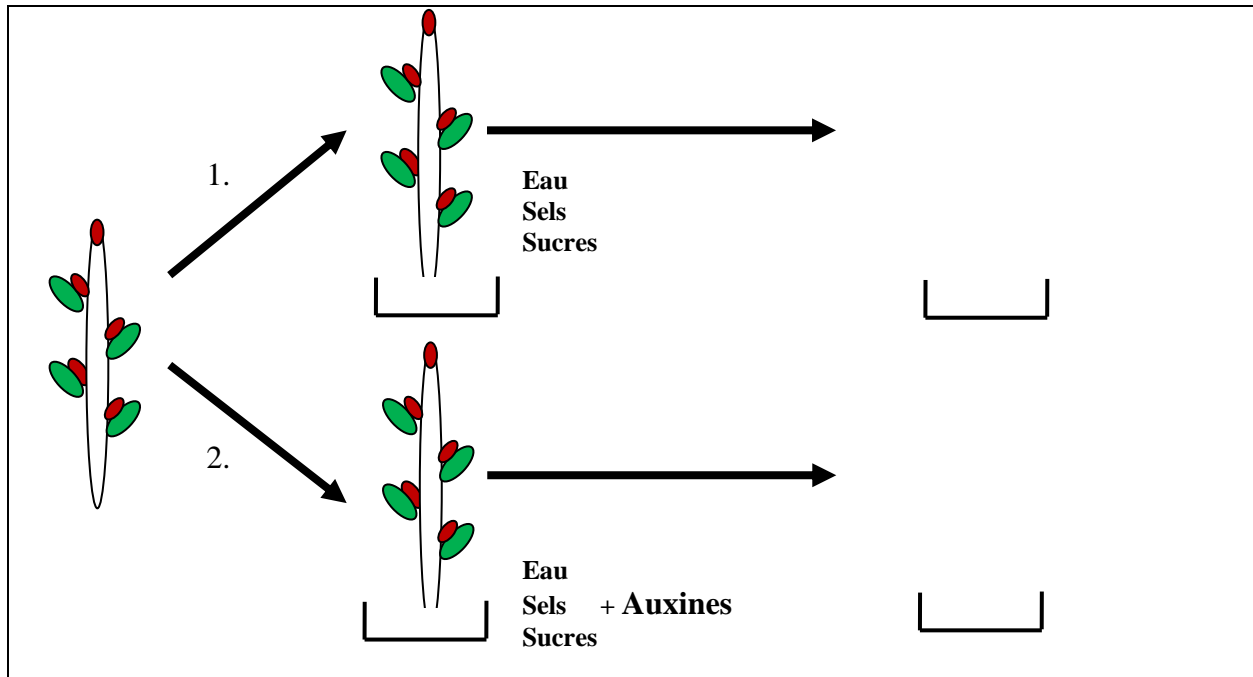
Conclusion :

2^{ème} PARTIE :

Le but de cette expérience a été de déterminer si les auxines exercent vraiment le contrôle sur la régénérescence des racines.

Dans cette expérience les racines ont été décapitées et les explants cultivés sur deux milieux différents :

- Un milieu simple ; MS (eau, sels, sucres, etc.)
- Un milieu simple additionné d'auxine : MS + AIA

**Résultats obtenus :**

- 1- Sur un milieu MS simple, le développement des bourgeons axillaires ne se produit pas, la croissance des racines se produit mais de manière très faible.
- 2- Sur un milieu MS + AIA, le débourrement des bourgeons axillaires ne se produit toujours pas, mais la croissance des racines été notable.

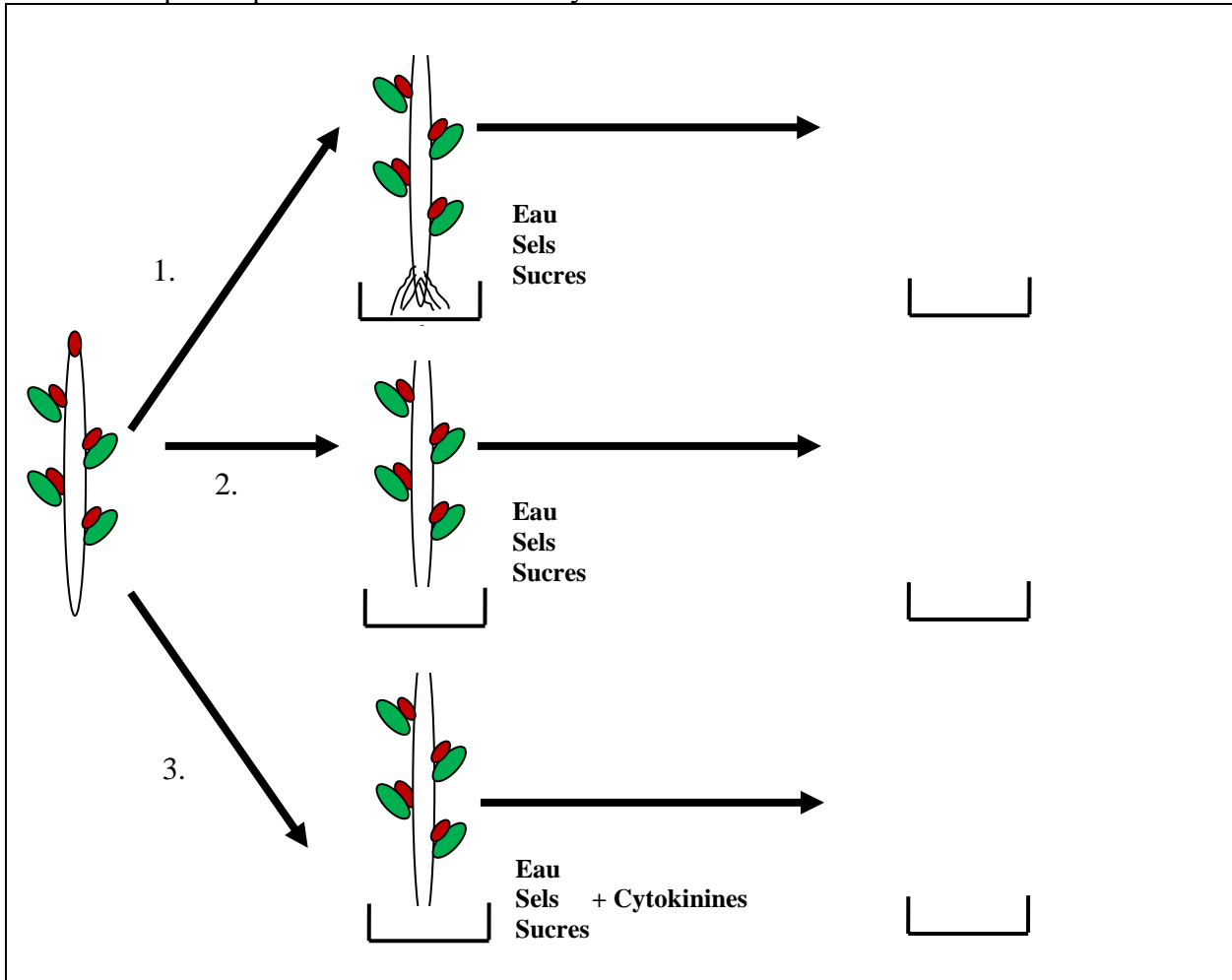
Conclusion :

3^{ème} PARTIE

Le but de cette expérience est de déterminer l'influence des cytokinines sur le débourrement et la rhizogenèse.

Dans cette expérience trois essais ont été réalisés :

- 1- Décapité l'apex + MS simple
- 2- Décapité l'apex et la racine + MS simple
- 3- Décapité l'apex et la racine + MS + cytokinines

**Résultats obtenus**

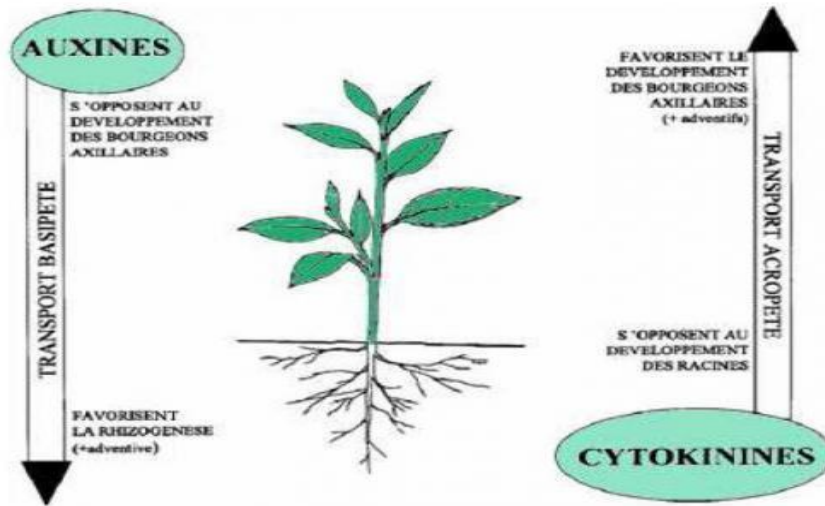
- 1- Débournement des bourgeons axillaires, croissance faible des racines.
- 2- Pas de débournement des bourgeons axillaires, pas de régénération des racines
- 3- Débournement des bourgeons axillaires, pas de rhizogenèse.

Conclusion :

Bilan

Comparaison entre les auxines et les cytokinines.

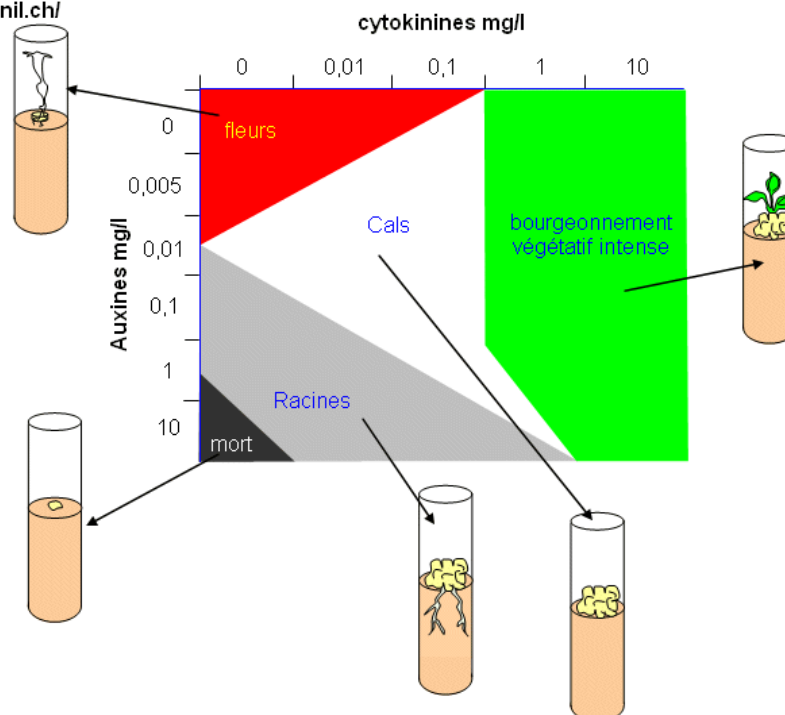
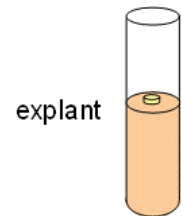
Auxines	Cytokinines
•	•
•	•
•	•
•	•
•	•
•	•



Balance hormonale

EXPERIENCE SUR DES EXPLANTS DE TABAC : on "oriente" une culture d'explant (moelle, ...) par l'action conjointe de l'auxine et la cytokinine. le rapport Auxine / Cytokinine étant déterminant :
 Si $R = 1$: formation de cal uniquement ;
 $R < 1$: formation de fleurs ou de feuilles sur le cal ;
 $R > 1$: formation de racines sur le cal.

d'après <http://www2.unil.ch/>



TD/TPN°4

Mise en évidence de l'impact des Gibbérellines sur l'activité α -amylasique (Germination des semences de blé).**1- Introduction**

Au début du siècle, au Japon une attaque des cultures de riz par un champignon pathogène, *Gibberella fujikuroi*, s'est traduite par une élongation anormale des entre-nœuds suivi d'une verse catastrophique (maladie de Bakanae). En **1926**, un jeune chercheur japonais, **Kurosawa**, montra que le gigantisme du riz pouvait être induit par un extrait aqueux du champignon. En 1935-38, Yabuta et Sumiki isolèrent un mélange de substances cristallisées qu'ils nommèrent gibbérellines. Leur inoculation à des doses très faibles provoquait une stimulation de la croissance non seulement chez le riz, mais aussi chez diverses autres plantes.

Dès lors beaucoup d'études ont montré que les gibbérellines, pourraient stimuler la croissance et le développement des végétaux, y compris la germination des graines.

Lors de la germination des graines de céréales, les substances de réserve accumulées dans l'albumen amylicé sont mobilisées par les enzymes hydrolytiques synthétisées et sécrétées par la couche à aleurone. Parmi ces enzymes, la plus abondante est l'alpha-amylase (E.G. 3.2.1.1), qui hydrolyse l'amidon pour produire des mono- et des oligosaccharides.

Dans ce TP, on se propose de mettre en évidence l'action des gibbérellines sur l'activité enzymatique (α -amylase) lors de la germination des graines de blé.

2- Matériel et méthodes**• Préparation des échantillons**

Des graines de blé stérilisées ont été mises à germer (25°C à l'obscurité) dans trois milieux comme suit :

- Lot 1 : incubation avec 10 mL d'eau distillée.
- Lot 2 : incubation avec 10 mL d'eau distillée à laquelle est ajouté l'uniconazole (10 μ M)
- Lot 3 : incubation avec 10 mL d'eau distillée à laquelle sont ajoutés l'uniconazole (10 μ M) et l'acide gibbérellique (1 μ M).

• Préparation de l'extrait enzymatique

Après 4 jours d'incubation, 500 mg de chaque échantillon (graines germées ou non) seront homogénéisés dans 5 mL d'une solution tampon [acétate de sodium à 0.1M et CaCl₂ à 10 mM, pH= 5.4–6]. L'homogénat sera par la suite centrifugé à 9000 *rpm* pendant 10min et le surnageant sera utilisé pour la mise en évidence de l'activité enzymatique.

• Mise en évidence de l'activité α -amylasique

Pour chaque lot, on met dans un tube à essai, 2 mL d'une solution d'amidon (0.2 %) et 2mL de la solution tampon (pH 6) et 1mL de la solution mère d'amylase à l'exception du témoin où on

remplace l'**amylase (l'extrait)** par l'eau distillée. On ajoute à chaque tube 0.5 mL de Lugol dilué (1/10). Les tubes seront par la suite placés dans un bain marie à 30°C pendant 15 min.

- **Dosage de l'activité α -amylasique**

On répète la même opération avec tous les échantillons mais cette fois-ci sans ajouter de Lugol. La réaction est stoppée après 10 min par l'ajout de 2 mL d'acide acétique à 20 %. On procède par la suite à la lecture de l'absorbance à 595 nm.

L'activité (en unités/graine) est déterminée par l'équation suivante :

$$\text{Unités} = \text{Am}/\text{ACu},$$

avec Am : l'absorbance du mélange ; ACu : l'absorbance de la solution CuO₄ (1M).

3- Résultats et Interprétation :

Les résultats obtenus sont comme suit :

a. Coloration au Lugol

Désignation	Coloration
1-Témoin	
2- Eau (H ₂ O)	
3- Eau + Uniconazole (10 μ M)	
4- Eau + Uniconazole (10 mM) +GA ₃ (1 μ M)	



b. Activité enzymatique (unité/graine)

Désignation	Absorbance mélange	Absorbance CuO ₄
Eau (H ₂ O)		
Uniconazole		
Uniconazole+GA ₃		

- ▶ Calculer l'activité enzymatique dans chaque cas.
- ▶ Interpréter les résultats et tirer la conclusion qu'en au rôle des gibbérellines dans la germination des graines des céréales.
- ▶ Pour quelle raison l'uniconazole a-t-il utilisé ?

4- Références :

1. **Appleford, N. E. J., & Lenton, J. R. (1997).** Hormonal regulation of α -amylase gene expression in germinating wheat (*Triticum aestivum*) grains. *Physiologia Plantarum*, 100(3), 534-542.
2. **Bethke, P. C., Schuurink, R., & Jones, R. L. (1997).** Hormonal signalling in cereal aleurone. *Journal of Experimental Botany*, 48(7), 1337-1356.
3. **Mitsunaga, S. I., & Yamaguchi, J. (1993).** Induction of α -amylase is repressed by uniconazole, an inhibitor of the biosynthesis of gibberellin, in a dwarf mutant of rice, Waito-C. *Plant and cell physiology*, 34(2), 243-249.