

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



FACULTE DES SCIENCES

Département de Biologie

Polycopié de cours:

Aspect Cellulaire et Moléculaire de la Différenciation Végétale

Présenté par Dr. Amira CHIKHI



Université de Saida Dr. Tahar Moulay, 2021

Contact: amirachikhi@yahoo.fr; amirabiotech@live.com

Avant propos

Ce polycopié, destiné aux étudiants en Master I du parcours Biotechnologie et Génomique Végétales «BGV», fait le point sur la biologie cellulaire et moléculaire de la différenciation végétale.

Ce document est destiné à apporter un soutien aux étudiants pour la compréhension des cours de la différenciation cellulaire végétale inscrits aux programmes par le Ministère de l'Enseignement Supérieur. Il renferme les différentes notions qui traitent la mitose et cycle cellulaire, le passage d'une cellule méristématique à une cellule différenciée et le contrôle génétique et moléculaire de la différenciation végétale.

Le premier chapitre est consacré à l'étude des processus biologiques impliqués dans le développement; - Le second concerne l'étude des méristèmes dans la plante ; - Le troisième chapitre est destiné à la différenciation de la cellule méristématique et contrôle génétique du fonctionnement du MAC et MAR; - Le quatrième chapitre traite l'étude de la différenciation cellulaire des tissus conducteurs.

Remerciements :

Je présente mes vifs remerciements à Madame Benabdesslem Y. de l'université de Saida Dr. Moulay Tahar, pour son concours à l'élaboration de ce travail.

Liste des abréviations:

AS: Asymmetric leaves

AUX1: Auxine 1

CC: Cellule de compagne

CDK: kinase cycline-dépendante

Clv: Clavata

CQ: Centre quiescent

EC: Élément criblé

PIN: Pinned

PLT: Plethophora

SCR: Scarecrow

SHR : Shortroot

Stm: Shootmeristemless

Wus: Wuschel

Liste des figures:

- Fig.01: Structure d'une graine d'Arabidopsis en fin de développement
- Fig.02: Les deux modes de croissance.
- Fig.03: Dédifférenciation de la cellule végétale.
- Fig.04: Mitose des cellules végétales
- Fig.05: Cycle cellulaire
- Fig.06: Les CDK/Cyclines de différentes phases du cycle cellulaire
- Fig.07: Démarrage de la machinerie de réplication de L'ADN
- Fig.08: L'activité des complexes CDK/cycline
- Fig.09: Croissance par élongation cellulaire
- Fig.10: Effet d'auxine sur l'élongation cellulaire.
- Fig.11: Alternative cellulaire: multiplication (méristème M)- croissance et différenciation D
- Fig.12: Organisation comparée des méristèmes primaires: une niche de cellules souches.
- Fig.13: Distribution des méristèmes primaires à l'échelle de la Plante
- Fig.14: Cellule méristématique (méristème primaire) au MET
- Fig.15: Organisation de l'apex caulinaire en coupe longitudinale
- Fig.16: Mise en place en 2 étapes (a) et (b) d'un phytomère à feuilles alternes
- Fig.17: Modèle explicatif de l'initiation foliaire
- Fig.18: le méristème apical racinaire
- Fig.19: L'organisation spatiale du MAR
- Fig.20: Le phéllogène
- Fig.21: Mise en place de l'axe apico-basal de l'embryon
- Fig.22: Les différents stades de développement embryonnaire.
- Fig.23: Le mutant shootmeristemless stm
- Fig.24: Le Mutant wuschel (wus)
- Fig.25: Phénotype de la plante mutante CLAVATA
- Fig.26: La boucle de régulation WUSCHEL-CLAVATA
- Fig.27: Contrôle hormonal du fonctionnement du méristème apical caulinaire
- Fig.28: Types cellulaire dans le MAR d'Arabidopsis thaliana
- Fig.29: Deux mutants déficients dans la mise en place et la différenciation de l'endoderme
- Fig.30: Expression du gène shr
- Fig.31: SCR and SHR control tissue patterning during root development.
- Fig.32: Méristème apical racinaire: signal positionnel
- Fig.33: Transformation de la croissance primaire à la croissance secondaire
- Fig.34: Cytologie d'une cellule cambiale.
- Fig.35: Bloc diagramme montrant l'organisation du Bois.
- Fig.36: La polarité des divisions nucléaires des initiales du cambium vasculaire.
- Fig.37: La croissance secondaire du cambium vasculaire.
- Fig.38: Les types cellulaires de xylème et de phloème.
- Fig.39: Trachées (vaisseaux parfaits) avec des ponctuations.
- Fig.40 : Perforations dans les vaisseaux.

- Fig.41: Représentation schématique d'une ponctuation aréolée.
- Fig.42: Trachéides (vaisseaux imparfaits).
- Fig.43: Éléments constituant le xylème
- Fig.44: Diversité des vaisseaux vrais et Trachéides.
- Fig.45: Diversités des types d'éléments conducteurs.
- Fig.46: Structure multicouche de la paroi d'une cellule de bois.
- Fig.47: Différenciation d'un vaisseau à partir d'une initiale fusiforme.
- Fig.48: Organisation du phloème.
- Fig.49: Ultrastructure de cellules de phloème.
- Fig.50: les perforations ou pores regroupés en plages.
- Fig.51: Structure 3D d'un plasmodesme.
- Fig.52: Résumé schématique de la différenciation d'une cellule criblée.
- Fig.53: Mise en place d'un patron de développement : xylème/phloème.
- Fig.54: La régulation génétique du patron xylème/phloème (l'antagonisme entre les gènes HD-ZIPIII et les gènes KANADI).
- Fig.55: Relations hormones- gènes dans le développement du système vasculaire.

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Chapitre.1: Processus Biologiques impliqués dans le développement	
1. Développement de la plante.....	2
1.1. Mitose et cycle cellulaire.....	5
1.2. Elongation cellulaire.....	13
1.3. Différenciation cellulaire.....	17
Chapitre.2: Les méristèmes dans la plante	
1. Organisation fonctionnelle des méristèmes.....	18
1.1. Les méristèmes apicaux.....	19
1.2. Les méristèmes secondaires.....	26
Chapitre.3: La différenciation de la cellule méristématique et contrôle génétique du fonctionnement du MAC et MAR	
1. Le passage d'une cellule méristématique à une cellule différenciée.....	28
2. La mise en place de l'axe apico-basal de L'embryon.....	29
3. Contrôle génétique et hormonal du fonctionnement du MAC et du MAR.....	30
3.1. Contrôle génétique du fonctionnement du méristème apical caulinaire (MAC).....	30
3.2. Contrôle hormonal du fonctionnement du méristème apical caulinaire (MAC).....	36
3.3. Contrôle génétique du fonctionnement du méristème apical racinaire (MAR).....	37
3.4. Les signaux d'informations de position dans le MAR.....	41
Chapitre.4: La différenciation des tissus conducteurs	
1. Différenciation des tissus conducteurs.....	44
1.1. Le cambium.....	44

1.2. Le xylème.....	49
1.3. Le phloème.....	63
2. La mise en place d'un patron de développement (xylème/phloème).....	70
2.1. Contrôle génétique de la mise en place du patron xylème/phloème.....	70
Références bibliographiques.....	74

Introduction

Chez la plupart des organismes multicellulaires, toutes les cellules ne sont pas identiques. Elles présentent des différences importantes au niveau de leur morphologie et de leur fonction. Tous les différents types cellulaires sont dérivés d'une seule cellule-œuf fécondée et ce, grâce à la différenciation.

La différenciation cellulaire est une étape du développement embryonnaire et de la croissance correspondant, pour les cellules, à l'acquisition de nouvelles propriétés: morphologiques, structurales, fonctionnelles. Sur le plan génétique, la différenciation cellulaire apparaît comme l'expression d'une partie de l'information génétique.

L'étude des mécanismes de la différenciation occupe une place prépondérante dans la compréhension de la biologie du développement.

Chez les végétaux, elle reste très active durant toute la vie de l'organisme et, s'exprime soit dans les cellules embryonnaires, soit dans les cellules des zones de croissance, cellules nommées cellules méristématiques. Elle dépend des facteurs génétiques et environnementaux. Cette interactivité entre le développement cellulaire et environnement est d'ailleurs une autre caractéristique du monde végétale.

Les objectifs de cette matière est la connaissance des éléments suivants:

- Comprendre la façon dont une cellule végétale se divise, croit et se différencié;
- Découvrir les mécanismes physiologiques, cellulaires et moléculaires qui contrôlent la différenciation végétale.

CHAPITRE.1

LES PROCESSUS BIOLOGIQUES IMPLIQUÉS DANS LE DEVELOPPEMENT:

1. Développement de la plante:

Les méristèmes primaires se mettent en place de façon précoce au cours de l'**embryogenèse zygotique**, sous forme d'**apex méristématiques caulinaire et racinaire**, et de tissus internodaux. Le fonctionnement des apex permet la formation de la tige feuillée et des racines en structures primaires. Ce fonctionnement persiste durant toute la vie de la plante, le développement étant indéfini.

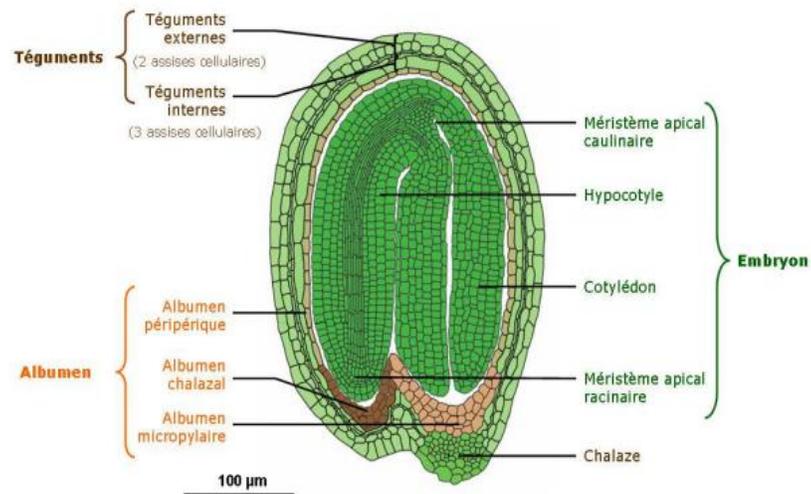


Fig.01: Structure d'une graine d'Arabidopsis en fin de développement.

En fin de croissance, des **méristèmes secondaires** se mettront en place et donneront naissance aux tissus secondaires et sont par conséquent responsable de la croissance radiale secondaire qu'on retrouve essentiellement chez les espèces ligneuse.

Le développement d'une plante comprend alors :

- **La croissance** qui peut se faire soit par **mérèse** ou par **auxèse**.

- La mérése ou **division cellulaire** qui concerne essentiellement les cellules méristématiques.
- L'auxèse ou **élongation cellulaire** qui se fait de façon unidirectionnelle.

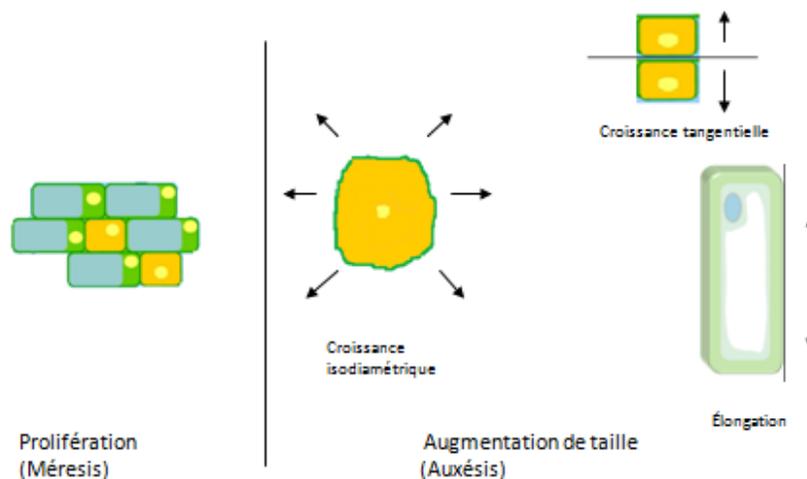


Fig.02: Les deux modes de croissance.

- **La différenciation** consiste en des changements qualitatifs dû à des modifications de la forme et de la fonction des cellules pour donner des tissus spécialisés ou de nouveaux organes. Elle est indispensable pour la construction des organismes multicellulaires et absente ou peu marquée chez les organismes primitifs (algues unicellulaires par exemple).

- **La morphogenèse** consiste en des changements de la forme qui accompagnent les changements de fonctions et qui permet la construction de l'appareil végétatif. Elle est

influencée par de nombreux facteurs externes (la température, la lumière, l'eau) et endogènes (phytohormones).

La **différenciation** et la **morphogenèse** décrivent des phénomènes similaires mais le premier concerne les cellules et les organites tandis que le second décrit les événements affectant les organes ou l'organisme en entier.

Les cellules végétales sont capables de se **dédifférencier** dans des conditions particulières et **réacquérir des caractéristiques méristématiques** qui leur permettront de **réorienter leur programme génétique**. Cette possibilité de reprogrammation génétique leur permet d'avoir une évolution identique à celle de leur origine ou une destinée complètement différente. Cette propriété est à la base de la culture de tissus ou la régénération des plantes *in vitro*.

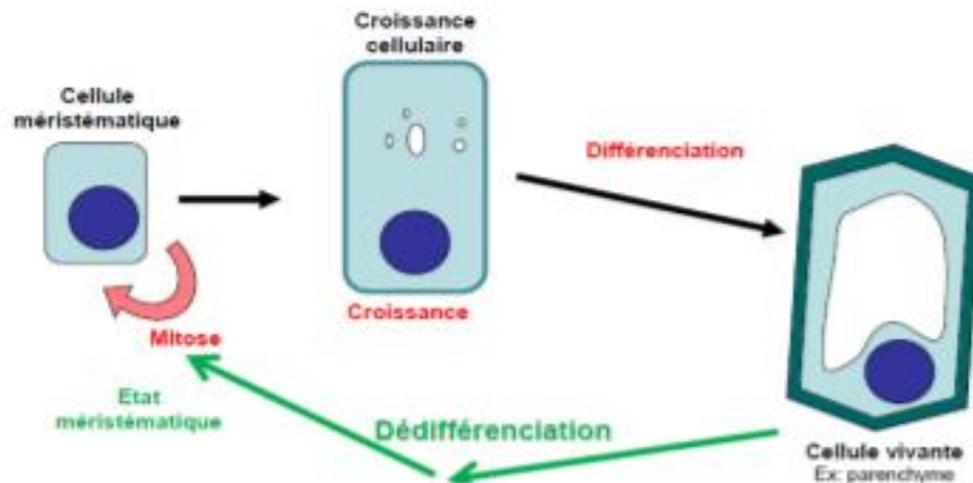


Fig.03: Dédifférenciation de la cellule végétale.

1.1. Mitose et cycle cellulaire:

1.1.1. Mitose ou division cellulaire:

Une cellule méristématique se divise pour donner deux cellules filles, quand elle atteint un volume suffisant et critique. **La division cellulaire va la ramener vers sa situation initiale.** Elle effectue alors un cycle cellulaire.

La division cellulaire ou mitose est le processus par lequel les cellules se multiplient. Elle joue un rôle important dans la croissance et le développement des organismes vivants. C'est un mode de reproduction pour les organismes unicellulaires.

Pour les organismes pluricellulaires, elle intervient à divers moments du développement depuis le zygote jusqu'à l'entretien de l'individu adulte en passant par tous les événements de croissance qui ont permis sa construction.

La mitose végétale se déroule de façon similaire à celle des animaux, nous en verrons les principales étapes en insistant sur les spécificités végétales.

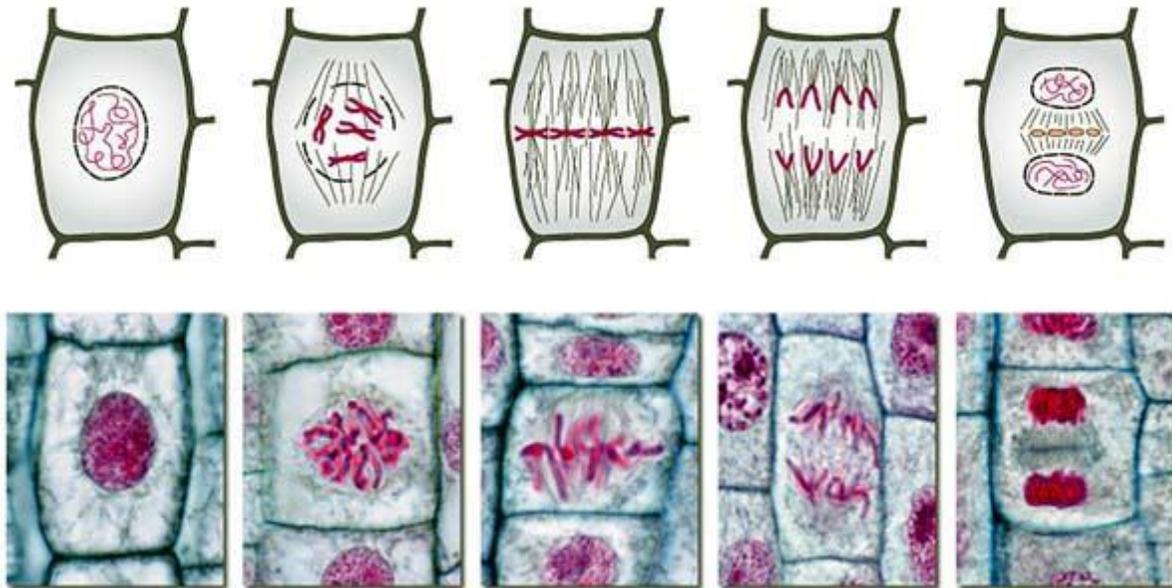


Fig.04: Mitose des cellules végétales.

Interphase: Le noyau limité par la membrane contient de la **chromatine constituée d'ADN décondensée et des nucléoles**. L'entrée en mitose d'une cellule végétale **se caractérise par la redistribution des microtubules** qui va permettre la formation d'un nouvel **ensemble microtubulaire** qu'on appelle **l'anneau pré-prophasique**. Cet anneau va se positionner autour du noyau, dans le plan équatorial de la cellule qui indique le futur plan de séparation des cellules filles.

Prophase: le nucléole disparaît et la **chromatine se condense et se duplique en deux chromatides**. Les chromosomes sont désormais visibles **scindés en deux chromatides sœurs** unies au niveau du centromère. Les microtubules formant le fuseau chromatique commencent à se mettre en place. La disparition de l'enveloppe nucléaire marque la fin de cette phase. On note l'absence de centriole chez les cellules végétales, la disposition des chromosomes se fait à l'aide du fuseau de microtubules.

Métaphase: les microtubules kinétochoriens et polaires forment un fuseau chromatique. Les chromosomes se rassemblent pour constituer progressivement la plaque métaphasique au centre. La séparation des deux chromatides sœurs marque la fin de la métaphase.

Anaphase: les deux chromatides sœurs se séparent au niveau du centromère pour migrer vers les deux pôles de la cellule par raccourcissement des microtubules kinétochoriens.

Télophase: les deux lots de chromosomes fils ont atteint chacun un pôle de la cellule. Ils se tassent les uns contre les autres. Les microtubules kinétochoriens disparaissent sauf dans la région centrale où ils forment le phragmoplaste de la cellule au niveau du plan du cloisonnement cellulaire. L'enveloppe nucléaire se reforme autour des deux noyaux fils, les chromosomes se décondensent.

La **cytokinèse** (bipartition cellulaire) des végétaux est très particulière car elle ne peut pas se faire par constriction centripète comme chez les cellules animales à cause de la rigidité de la paroi pecto-cellulosique. Guidées par le phragmoplaste et grâce à leur contenu essentiellement pectique, des vésicules golgiennes forment par assemblage une paroi cellulaire centrale. La nouvelle membrane plasmique est alors élaborée par la fusion des membranes de ces vésicules. La paroi cellulaire grandit de façon centrifuge et se raccorde à la paroi préexistante de la cellule mère pour constituer la nouvelle paroi séparant les deux cellules filles.

1.1.2. Cycle cellulaire:

Le cycle cellulaire correspond à l'intervalle de temps qui sépare deux divisions cellulaires. La mitose n'est que la partie cytologiquement observable de ce cycle. Il se déroule chez tous les eucaryotes en quatre phases successives, G1, S, G2 et M, qui se succèdent selon un ordre chronologique (G pour gap, S pour synthèse et M pour mitose). De nombreux contrôles situés aux transitions G1/S et G2/M garantissent le bon déroulement de ce cycle cellulaire.

Phase G1: au cours de cette phase, la cellule intègre des signaux physiologiques et environnementaux comme sa taille, la disponibilité des nutriments, ou la présence de signaux mitogènes. La cellule ne pourra s'engager dans la phase suivante que si les conditions sont favorables et si le premier point de contrôle: le point R (point de restriction) est franchi. L'engagement est alors irréversible.

Phase S: La cellule réplique son ADN qui sera réparti plus tard dans les deux cellules filles au cours de la mitose.

Phase G2 : phase de vérification du bon déroulement de la réplication. Les protéines nécessaires à la mitose sont synthétisées. A la fin de cette phase, se trouve le deuxième point de contrôle : Check point. Dépassant ce point, la cellule s'engage irréversiblement dans la phase de mitose M.

Phase M: c'est la division cellulaire produisant deux cellules filles où est réparti le contenu en ADN dupliqué en deux lots.

Phase G0: phase de quiescence dans laquelle la cellule peut entrer quand les conditions ne sont pas favorables pour la division. Cet état de quiescence est généralement réversible de sorte que les cellules puissent être stimulées pour quitter la phase G0 et réintégrer la phase G1 du cycle cellulaire. La majorité des cellules d'un organisme adulte sont en phase G0. Ces cellules en G0 n'effectuent ni réplication d'ADN, ni mitose. Leur cytoplasme ne contient pas de cyclines. Seules les cellules méristématiques gardent la capacité d'une prolifération active

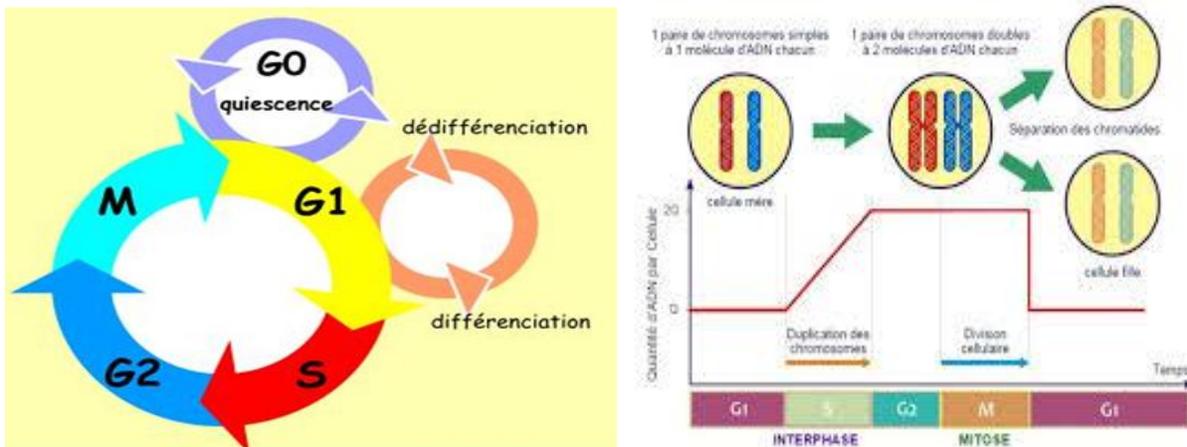


Fig.05: Cycle cellulaire.

Les cellules eucaryotes supérieures peuvent également **quitter le cycle pour s'engager dans des processus de différenciation**, principalement **initiés à partir de la phase G1**. Chez les plantes, **la différenciation est réversible** et la cellule peut **se dédifférencier** pour ré-entrer dans le cycle.

1.1.3. Contrôle du cycle cellulaire:

a. Kinase cycline-dépendante et cycline :

La progression d'une phase à une autre du cycle cellulaire est principalement contrôlée par la formation, l'activation puis l'inactivation successive d'une série de complexes protéiques composés chacun d'une sous-unité catalytique : une kinase cycline-dépendante (CDK) et d'une sous-unité régulatrice : une cycline. Plusieurs CDK et cyclines ont été décrites chez les plantes.

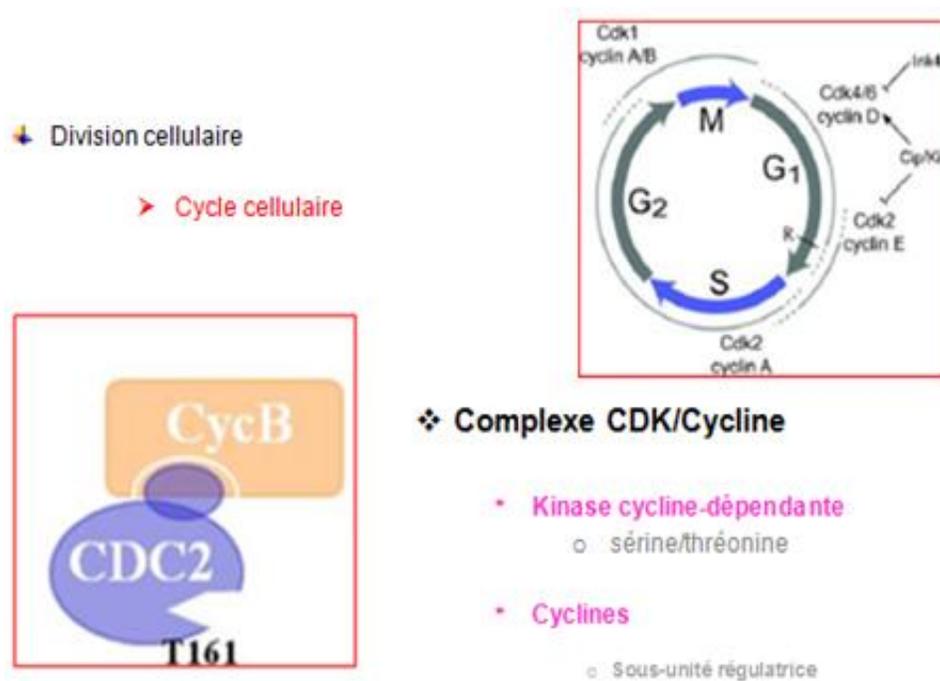


Fig.06: Les CDK/Cyclines de différentes phases du cycle cellulaire.

Il en existe plusieurs; elles interviennent tout au long du cycle dans un ordre déterminé: En phase G1 et pour la transition G1-S, c'est à dire pour le déclenchement de la réplication de l'ADN, en phase S pour la poursuite de la réplication, en phase G2 et pour la transition G2-M, c'est à dire pour le déclenchement de la mitose et pour l'exécution de la mitose.

Les CDK sont des protéines de 33 à 35 kDa avec une activité sérine/thréonine kinase. Elles sont constituées de lobes majeurs entre lesquels, se trouve le site actif où se fixent l'ATP et le substrat:

- un petit lobe en N-terminal, constitué essentiellement de feuillets β et où se trouve un motif conservé qui intervient dans l'interaction avec les cyclines.
- un large lobe en C-terminal, composé essentiellement d'hélices α et où se trouve une thréonine (T161) très conservée dans une boucle T. Cette thréonine est importante pour l'activation de la CDK.

- **Les cyclines** sont des protéines de 30 à 50 kDa avec une boîte cycline conservée (cyclin box) qui est constituée d'environ une centaine de résidus. Cette boîte est impliquée dans l'interaction avec le lobe N-terminal des CDK. Les cyclines définissent la spécificité du substrat des CDK et leur localisation.

Les CDK se répartissent dans 5 groupes: type A à type E, en fonction de leurs séquences, leurs profils d'expression, leurs actions et leur ubiquité ou non chez tous les êtres vivants. Les CDK de type B sont spécifiques du règne végétal. On en décrit 12 chez *Arabidopsis thaliana*.

Les cyclines végétales se répartissent en 4 groupes : A, B, D et H par homologie avec les cyclines des Mammifères.

La présence des cyclines est périodique et correspond à l'étape du cycle cellulaire qu'elle contrôle. Leur présence est finement régulée dans le temps, elles apparaissent puis disparaissent à des moments précis du cycle.

L'activité des complexes CDK/cycline est régulée par l'association des cyclines aux CDK, par la phosphorylation ou déphosphorylation des CDK ainsi que par des inhibiteurs:

-Déphosphorylation : La déphosphorylation de la tyrosine Y15 et de la thréonine T14 par la phosphatase Cdc25 permet d'activer le complexe CDK/cycline. La déphosphorylation de la T161 par la phosphatase KAP l'inhibe.

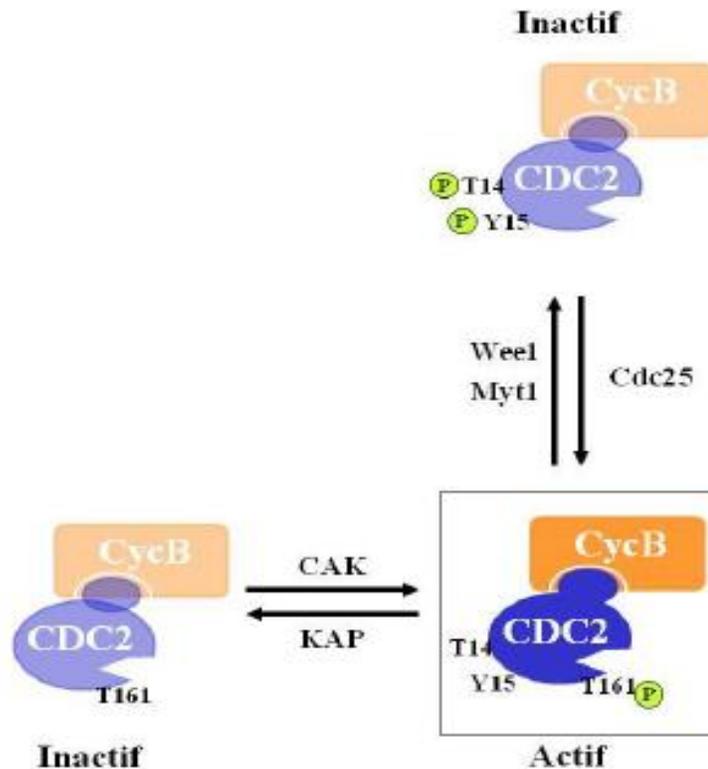


Fig.08: L'activité des complexes CDK/cycline.

- **Inhibiteurs** : L'activité de ces complexes est également régulée par l'action d'une famille d'inhibiteurs des CDK connues sous le nom de CKI.

La progression dans le cycle cellulaire est régulée par une combinaison de contrôle incluant l'ensemble des événements cités ci-dessus, la protéolyse des cyclines. Les phytohormones et les sucres sont impliqués dans le contrôle de cette progression.

La transition G1-S est une étape d'entrée de la cellule en phase de synthèse pour pouvoir se diviser. Durant la phase G1, plusieurs phytohormones comme les cytokinines, l'ABA, les gibbérellines, les brassinostéroïdes et les sucres comme le saccharose régulent positivement l'expression de cyclines D et de CDKA. L'activation des complexes CDKA/Cycline D nécessite la dissociation de protéines inhibitrices de CDK : CKI (ICK) et la phosphorylation du résidu thréonine 161 par une kinase, la CDKD;1 elle-même régulée positivement par les gibbérellines. L'ABA induit l'expression des gènes *CKI* et inhibe celle des CDKA. A la fin de cette phase G1, le complexe CDKA/Cycline D actif initie la phosphorylation de la protéine Retinoblastoma (RB) qui associé au complexe E2F/DP (complexe RB/E2F/D) réprime la transcription de gènes impliqués dans la réplication de l'ADN. La phosphorylation de RB libère le complexe E2F/DP et permet la transcription de ces gènes favorisant la progression dans la phase S (synthèse d'ADN).

Les auxines, les cytokinines et les gibbérellines régulent également l'activité des CDK de type A et B en stimulant la transcription des CDK et cyclines de type A et B. La transition G2-M est favorisée par la phosphorylation du résidu thréonine 161 de CDK A/B par la kinase CAK et par la déphosphorylation induite par les cytokinines et catalysée par la CDC25, des résidus tyrosine 14 et thréonine 15 phosphorylés.

La dégradation de Cyclines de type B par protéolyse catalysée par le complexe APC (anaphase-promoting complex) à la transition métaphase/anaphase signalant la fin de la mitose.

1.2. Elongation cellulaire:

La croissance cellulaire par élongation est possible grâce **l'élasticité des parois pecto-cellulosiques primaires**. L'**auxine** par une action sur l'extensibilité de la paroi, **stimule l'élongation cellulaire**.

1.2.1. Auxèse et mode d'action de l'auxine:

- expliquer les effets de l'auxine dans le contrôle de l'**auxèse**.

-La voie de transduction et les mécanismes moléculaires de transport de l'auxine sont au programme de physiologie de transport.

Les modalités du grandissement cellulaire sont:

a. Une entrée d'eau:

➤ entrée initiée par abaissement du potentiel hydrique résultant de:

- l'abaissement de la pression de turgescence par relâchement pariétal (assouplissement, on parle aussi d'augmentation de la plasticité pariétale)

- l'augmentation de concentration en solutés de la vacuole

- des deux effets combinés...

Rappel : Ψ_i (potentiel hydrique de la cellule) = $\Psi^h + \Psi^o$ avec $\Psi^h = P_i$, pression hydrostatique vacuolaire ou de turgescence et composante osmotique $\Psi^o = -\Pi_i$, pression osmotique

Donc $\Delta\Psi_{e \rightarrow i} = (\Psi_i - \Psi_e)$ est alors négatif: de l'eau pénètre dans la cellule qui s'étire alors...

b. Un relâchement de la paroi primaire:

Le relâchement des contraintes nécessaire au grandissement peut être obtenu d'au moins deux manières :

- **par rupture temporaire des liaisons H intercaténares** entre cellulose et glissement, écartement des fibrilles les unes par rapport aux autres ; ce processus mobilise en particulier de petites protéines présentes dans l'apoplasme, les expansines ;

- **par coupure temporaire des molécules d'hémicelluloses** qui relient des fibrilles voisines, coulissage et reconstitution des liaisons covalentes rompues. Des enzymes sont mises en jeu dans ce cas comme les xyloglycane-endotransglycosylases (XET).

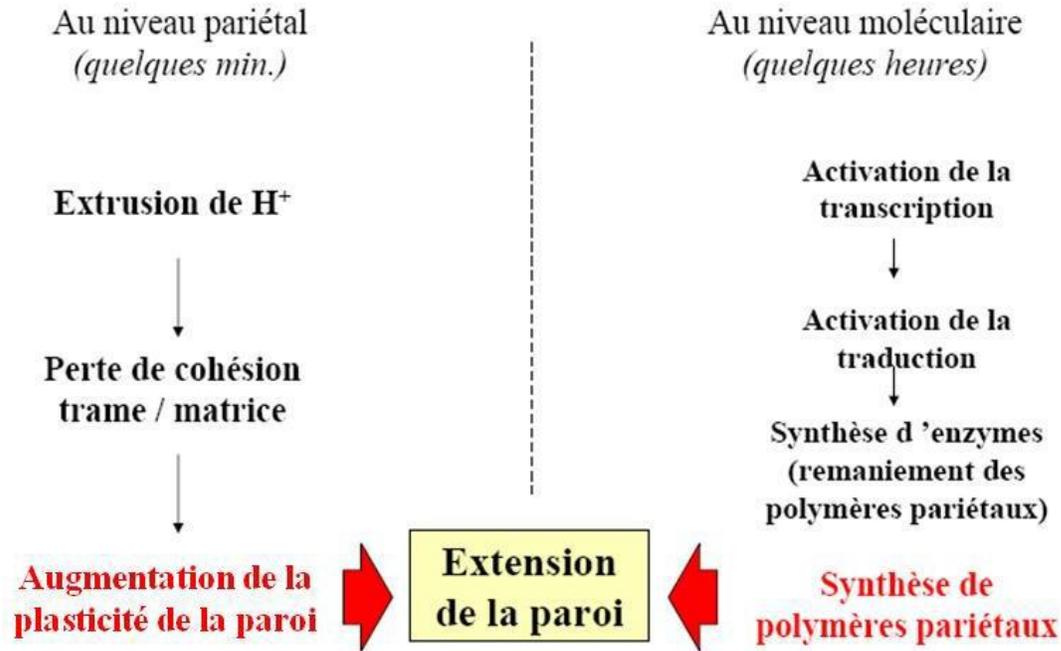


Fig.09: Relâchement de la paroi végétale

Ce **relâchement de la paroi** s'accompagne de nombreuses synthèses dont :

- Celle de **nouveaux composés pariétaux** ce qui maintient constante l'épaisseur de la paroi, préserve sa résistance et assure son expansion surfacique,
- Celle des **composants lipo-protéiques** des membranes en expansion (plasmalemme et tonoplaste).

c. Modes d'action:

Effet de l'auxine:

Modification de la perméabilité membranaire par une activation d'ATPases-H⁺ dépendantes (pompes à protons) du plasmalemme:

- acidification de la paroi et une hyperpolarisation du plasmalemme (sa polarité s'accroît de 25 mV environ 30 à 40 s après l'injection d'AIA).

- modifications membranaires → l'ouverture de canaux entrants d'ions K^+ .
- acidification de la paroi → La rupture des liaisons faibles entre constituants pariétaux par activation des expansines et des XET voire d'exocellulases.
 - relâchement de la trame pariétale
 - abaisse le potentiel hydrique Ψ_i (par diminution de la pression de turgescence P_i).
 - entrée d'eau dans la vacuole. L'entrée simultanée d'ions hydrosolubles (K^+) évite la dilution du suc vacuolaire consécutive à l'entrée d'eau et assure le maintien voire abaisse la valeur du potentiel osmotique vacuolaire; l'entrée d'eau et la pression de turgescence sont entretenues en conséquence.

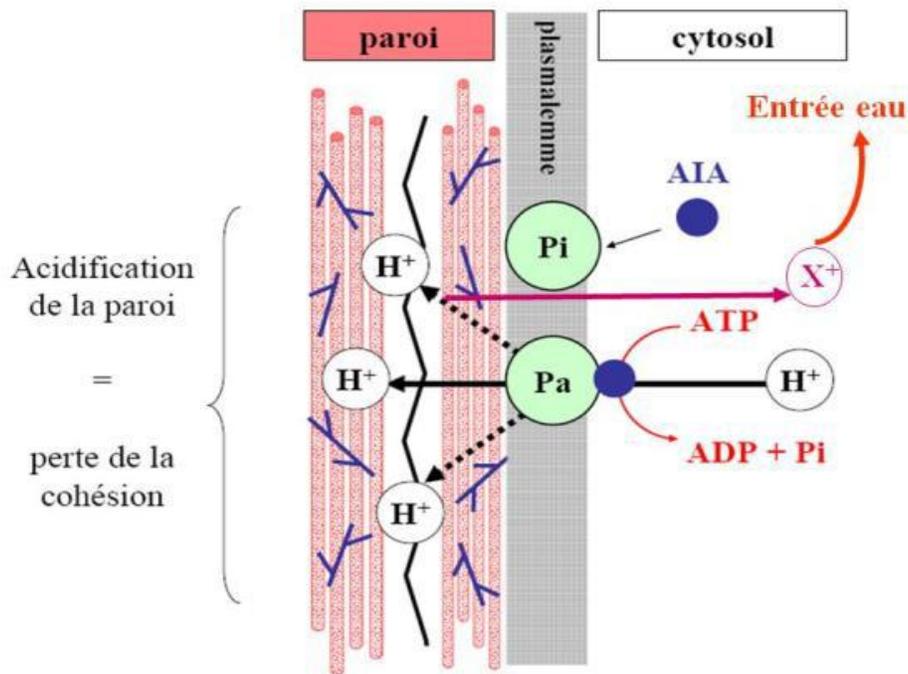


Fig.10: Mode d'action d'auxine sur l'élongation cellulaire.

1.3. Différenciation cellulaire:

Les méristèmes constituent des ensembles dans lesquels les cloisonnements sont rigoureusement *orientés*. Les cellules qui se trouvent amenées, par le jeu de ces cloisonnements successifs, en marge du foyer méristématique, subissent de nouvelles influences et leur comportement change. Une des transformations les plus apparentes qui marquent cette nouvelle orientation, concerne l'augmentation de l'appareil vacuolaire. Les petites vacuoles forment d'abord un très fin réseau qui s'hypertrophie jusqu'à occuper la majeure partie du volume cellulaire en repoussant latéralement le noyau et le cytoplasme qui ne forme plus, à mesure que la cellule grandit, qu'une pellicule périphérique de plus en plus mince. La structuration permet une répartition intercellulaire du travail physiologique.

La différenciation s'achève avec la *mort cellulaire programmée*, plus ou moins rapide. Tant que la cellule est nucléée, elle est capable de dédifférenciation naturelle ou provoquée expérimentalement; elle peut reprogrammer sa spécialisation, voire régresser à l'état méristématique primaire et donner un nouvel organisme entier. On dit que les cellules végétales sont **totipotentes**.

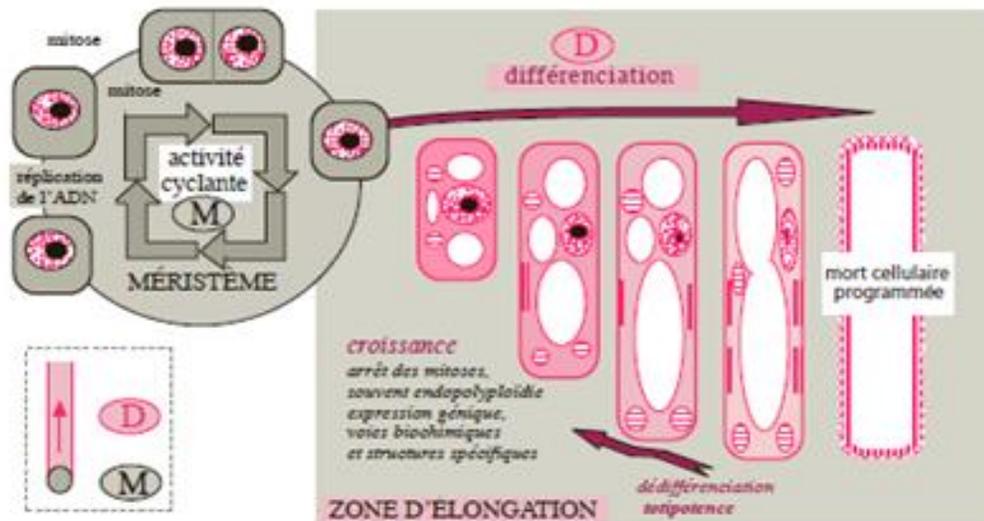


Fig.11 : Alternative cellulaire: multiplication **M** (méristème)-croissance et différenciation **D**.

CHAPITRE.2

LES MERISTEMES DANS LA PLANTE

1. Organisation structurale et fonctionnelle des méristèmes:

Les méristèmes sont des masses de cellules souches mises en place au cours de l'embryogenèse. Une cellule souche est une **cellule indifférenciée** capable de s'auto-renouveler et de produire d'autres cellules s'engageant dans une ou plusieurs voies de différenciation. **Les initiales se divisent pour donner naissance à une initiale du méristème et une cellule dérivée.** Les cellules dérivées peuvent à leur tour se diviser à proximité de la pointe de la tige ou de la racine avant de se différencier.

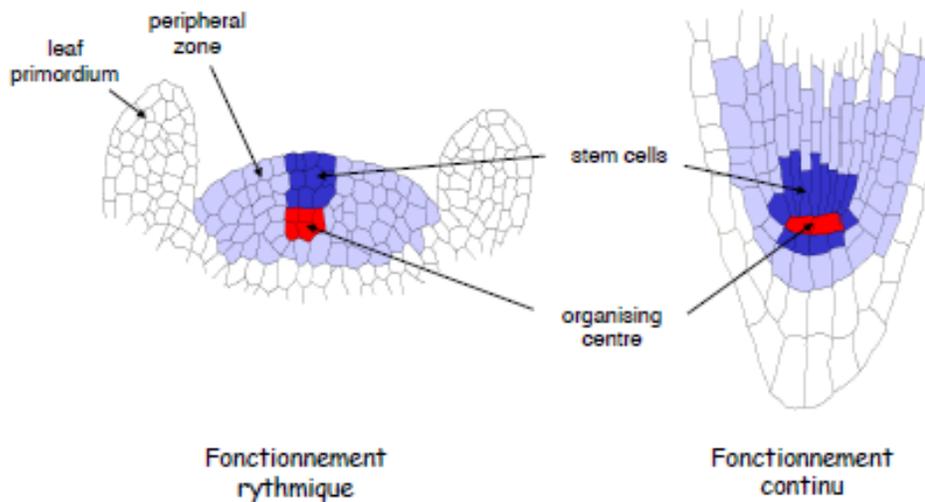


Fig.12: Organisation comparée des méristèmes primaires: une niche de cellules souches.

1.1. Les méristèmes apicaux :

Apparaissent au cours de l'embryogenèse et s'étendent dans toute la plante grâce à l'activité des méristèmes apicaux.

L'activité des méristèmes primaires au niveau des apex met en place la structure primaire de l'axe racine/tige feuillée. L'organogenèse et la croissance en longueur se déroulent tout au long de la vie de la plante.

Ils assurent la croissance primaire de la plante. Ils sont **organogènes** puisqu'ils produisent de nouveaux organes (feuilles, fleurs, rameaux, ..) et **histogènes** puisqu'ils différencient les tissus de la plante.

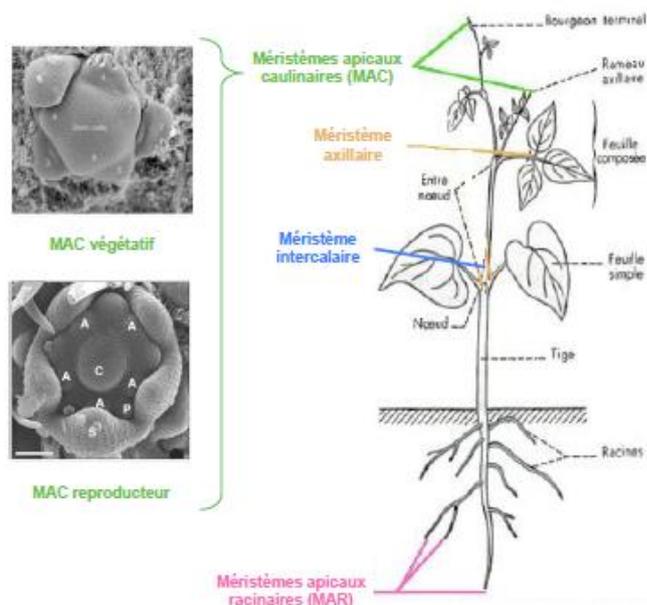


Fig.13: Distribution des méristèmes primaires à l'échelle de la plante.

a. Les cellules méristématiques, des cellules indifférenciées:

Une cellule du méristème primaire d'Angiosperme a une forme géométrique caractéristique: plus ou moins cubique en volume. Elle apparaît carrée ou légèrement rectangulaire en section. Elle mesure environ 10 μm de côté. Cette forme géométrique est due à la présence d'une paroi mince (0,1 μm) de nature polysaccharidique. Les cellules méristématiques sont intimement associées entre elles (**absence de méats**). Le cytoplasme de ces cellules est riche en ribosomes libres ou liés. Les vacuoles sont peu nombreuses et réduites. Les plastes ne possèdent pas encore de système membranaire et peu d'amidon, ce sont des proplast.

Les dictyosomes et réticulum endoplasmique sont rares. On peut observer quelques rares globules osmiophiles de nature lipidique. Le noyau de ces cellules est volumineux (diamètre de 5 à 8 µm), il occupe une grande partie du volume cellulaire: **rapport nucléocytoplasmique élevé**. Le ou les nucléoles très développés sont à l'origine des ARNr. La caractéristique majeure de la cellule méristématique réside dans son aptitude à se diviser.

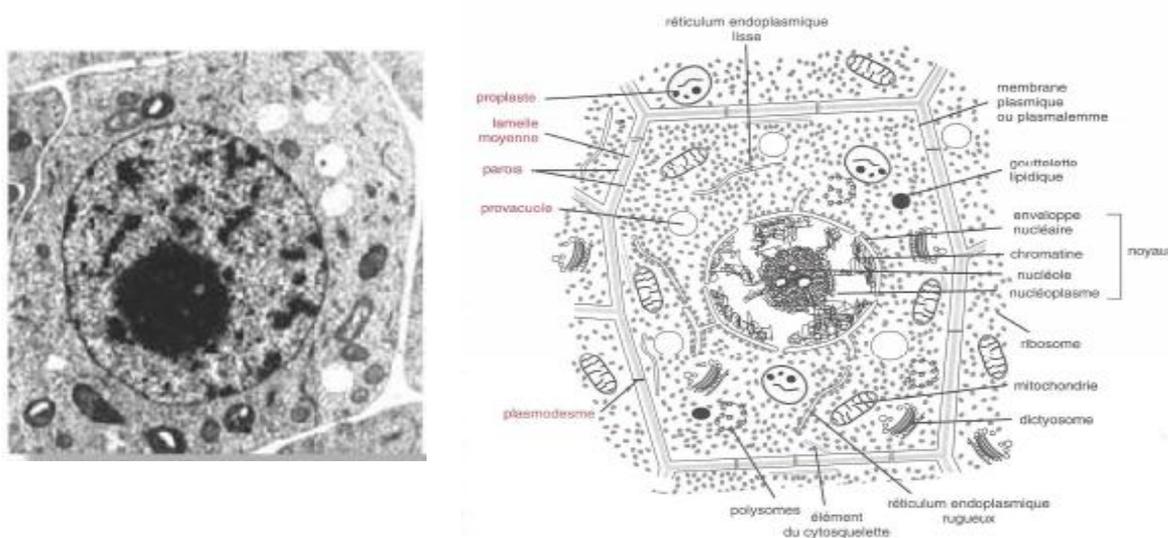


Fig.14: Cellule méristématique (méristème primaire) au MET.

On en distingue deux types: le méristème apical racinaire et le méristème caulinaire.

1.1.1 Méristème apical caulinaire (MAC):

Le méristème caulinaire est situé dans la partie terminale de la tige. Il présente deux phases de développement bien distinctes. **La phase végétative** durant laquelle il met en place uniquement des feuilles et **la phase reproductrice** durant laquelle sont mises en place les fleurs.



Le MAC est une masse de cellules actives de point de vue mitotique formant **une masse en forme de dôme** qui se trouve localisé à l'apex caulinaire de la plante. Le MAC produit les primordia foliaires latéralement qui formeront des feuilles.

a. Organisation spatiale du MAC :

Deux façons de présenter l'architecture du MAC:

➤ en se fondant sur les caractères structuraux des cellules et sur la fréquence de leurs divisions (indice mitotique = rapport du nombre de mitoses au nombre total de cellules) → 3 zones:

- Au sommet du méristème, la zone centrale (ou zone axiale): zone à cellules cubiques relativement vacuolisées, à faible rapport nucléoplasmique et à faible activité mitotique.

- Latéralement, la zone périphérique, encore appelée anneau initial, avec des cellules à fort rapport nucléoplasmique, riches en ribosomes, se divisant activement.

➤ Sous la zone centrale, la zone médullaire aux cellules plus grandes, aux cadences mitotiques intermédiaires, disposées en files très nettes qui se prolongent au niveau de en se fondant sur l'orientation des plans de divisions cellulaires et la disposition résultante des cellules on constate une dualité entre:

- les cellules de la surface, organisées en deux couches ou tunica chez *Arabidopsis thaliana* (notées T1, T2 ou L1, L2). Les cloisonnements cellulaires s'y font perpendiculairement à la surface de l'organe (cloisonnements anticlines).

- Les cellules plus profondes formant le corpus (noté L3); les cloisonnements cellulaires s'y font parallèlement à la surface (cloisonnements périclines) et selon toutes les directions au sein du corpus.

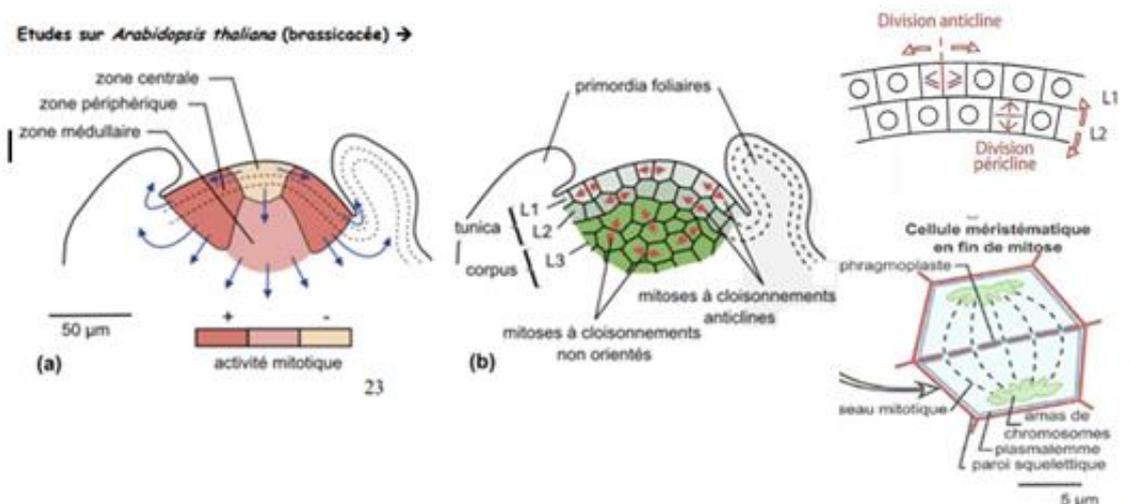


Fig. 15: Organisation de l'apex caulinaire en coupe longitudinale: (a)- zonation en fonction de l'activité mitotique ; (b)-zonation en fonction de l'orientation des cloisonnements cellulaires. Les flèches en (a) indiquent les destinées des cellules produites par mitoses; les doubles flèches en (b) figurent l'orientation des fuseaux mitotiques.

b. Le fonctionnement du méristème apical caulinaire:

➤ mise en place des phytomères:

L'architecture d'une tige feuillée est très ordonnée et organisée en phytomères successifs. La disposition des feuilles (ou phyllotaxie) peut être alterne (une feuille par nœud), opposée (2 feuilles par nœud) ou verticillée (plus de 2 feuilles par nœud). Toute feuille est supportée par un segment de tige (entre-nœud ou portion d'entre-nœud) et possède à son aisselle un bourgeon dit axillaire qui pourra engendrer à terme un rameau ou tige feuillée latérale.

Les phytomères sont produits de manière itérative par l'apex caulinaire à partir de nouvelles cellules qui quittent peu à peu le champ méristématique, grandissent et, selon leur position, se différencient en tissus caulinaires ou foliaires. Différentes modalités de fonctionnement du MAC expliquent une diversité de l'architecture des tiges feuillées exprimée par leur phyllotaxie.

Différents stades de développement dans la formation des feuilles :

- sous-basement foliaire (division péricline de cellules de la L2)
- initium foliaire
- primordium foliaire
- ébauche foliaire (acquisition de la symétrie bilatérale)
- feuille

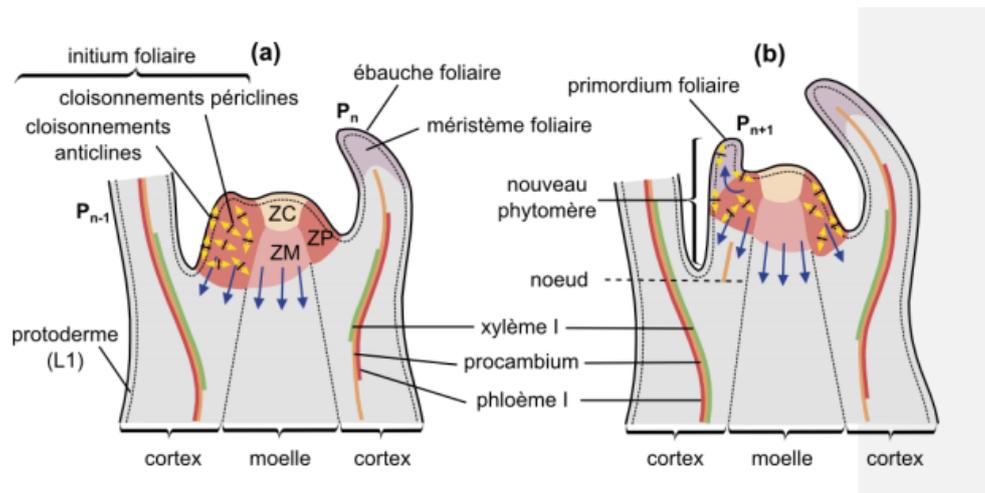


Fig. 16: Mise en place en 2 étapes (a) et (b) d'un phytomère à feuilles alternes.

Les territoires où se déroulent l'auxèse et la différenciation sont représentés en gris.

L'exemple de la différenciation des tissus conducteurs est figuré.

(ZC : zone centrale ; ZM : zone médullaire ; ZP : zone périphérique).

➤ Un signal à base d'auxine détermine la position des primordia foliaires et la phyllotaxie des tiges:

Chaque nouvel initium apparaît au niveau de la zone périphérique dans la région présentant la plus forte concentration en auxine. Lorsqu'un primordium est formé, il se comporte comme un puits pour l'auxine grâce à l'expression de gènes *Pin* codant pour des transporteurs auxiniques. L'auxine diffuse donc depuis l'apex et les jeunes feuilles où elle est synthétisée vers ce primordium : les régions les plus proches de ce primordium sont donc appauvries en auxine. Le futur initium ne peut apparaître que dans la région de la zone périphérique la plus éloignée des derniers primordia (hors du champ d'influence de chacun), là où l'auxine est susceptible de s'accumuler et où les cellules méristématiques ne sont pas encore engagées dans l'organogenèse.

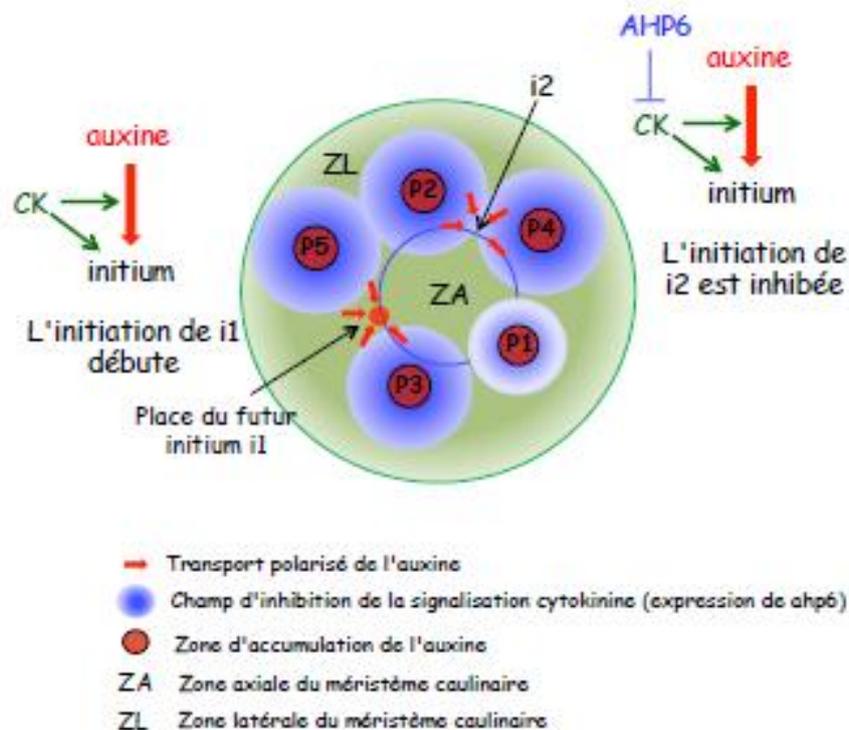


Fig. 17: Modèle explicatif de l'initiation foliaire.

(AHP6 est un inhibiteur de la signalisation cytokinines).

Cette architecture très ordonnée se perpétue ultérieurement lors de la ramification, chaque feuille possédant à son aisselle un bourgeon axillaire susceptible d'engendrer une pousse latérale ou rameau.

c. Les destinées des cellules:

Le lignage cellulaire défini par les modalités de cloisonnement permet de suivre la destinée des cellules. Les cellules qui quittent le MAC, même si elles gardent au début de leur évolution une structure semblable à celles des cellules méristématiques, sont engagées dans un programme génétique de développement précis ; elles sont déterminées à former une feuille ou une portion d'entre-nœud et perdent peu à peu leur caractère de cellules totipotentes. Elles s'engagent dans un double processus associant grandissement cellulaire et différenciation cellulaire. Au terme de ces processus, et pour ce qui est d'*Arabidopsis*, L1 engendre l'épiderme, L2 produit le parenchyme cortical et le parenchyme chlorophyllien des feuilles (mésophylle), L3 les tissus conducteurs et le parenchyme médullaire.

1.1.2. Le méristème apical racinaire (MAR):

L'apex racinaire est organisé en trois zones: une **méristématique**, une **d'élongation** et une de **différenciation**.

La **coiffe** racinaire **protège le méristème** apical lors de la progression de la racine dans le sol lors de la croissance primaire en réduisant les frictions avec le sol par sécrétion d'un mucilage.

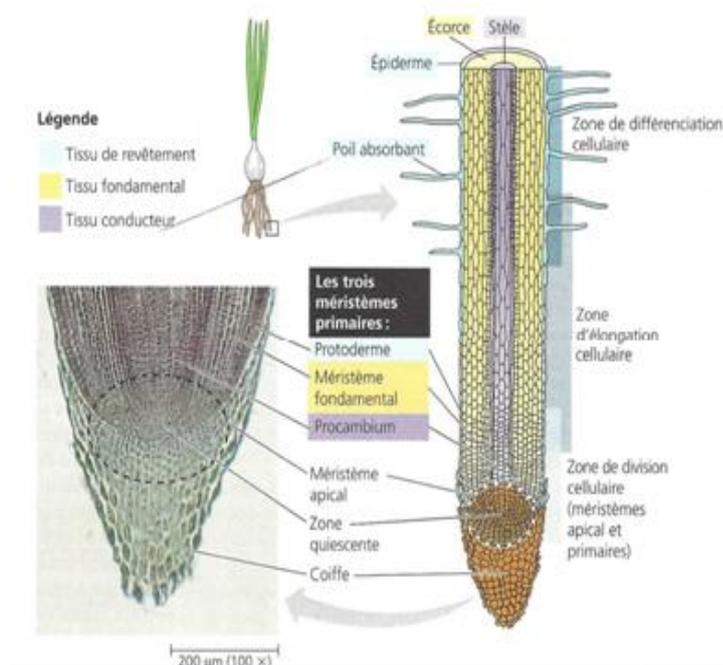


Fig.18: Méristème apical racinaire.

a. Organisation spatiale du MAR:

Le méristème racinaire est une structure invariable constituée de **cellules initiales fonctionnelles organisées en files**. Les initiales fonctionnelles sont des cellules souches qui produisent à chaque division deux cellules: une cellule initiale régénérée et une cellule dérivée qui va se différencier progressivement **après déplacement par d'autres tours de divisions**. Deux tissus terminaux sont également produits par les initiales du MAR: **la columelle** (partie centrale de la coiffe) et **les tissus latéraux de la coiffe**. Ces initiales fonctionnelles entourent un petit groupe de cellules (4 cellules chez *Arabidopsis thaliana*) de faible activité mitotique formant **le centre quiescent**.

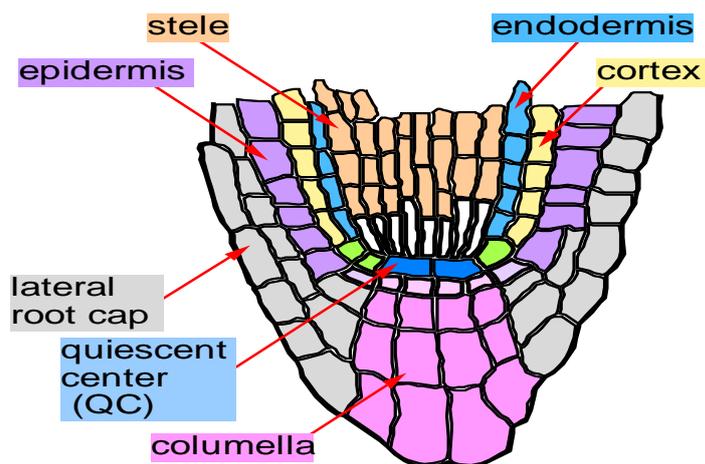


Fig.19: L'organisation spatiale du MAR

1.2. Les méristèmes secondaires:

Mis en place **tardivement**, ils permettent la **croissance radiale**, particulièrement importante chez les végétaux arborescents et chez les ligneux. Ils sont **exclusivement histogènes**. Ils sont deux et ne sont présents que chez les gymnospermes et chez les Dicotylédones. Le **cambium** qui assure le renouvellement des **tissus conducteurs secondaires** et Le **phellogène** produit le liège (**tissu protecteur secondaire**).

➤ **Le cambium libéro-ligneux** apparaît **très tôt au niveau des faisceaux criblo-vasculaires** (coincées entre le xylème primaire et phloème primaire).

Ce cambium produit du bois (**xylème secondaire**) **centripète** et **liber centrifuge**, donc selon des gradients contraires au xylème et au phloème.

➤ **Le Phellogène** est un second méristème. Les cellules sont **assez petites, rectangulaires avec une paroi cellulosique fine** (comme le cambium). Il produit des tissus secondaires de protection. Le phellogène sépare le suber (liège) et le tissu cellulosique.

Le cambium **subéro-phéllodermique** apparaît beaucoup **plus tardivement**. Chez les plantes herbacées, il est même souvent absent, il se différencie dans la couche de parenchyme (ou de collenchyme) cortical, sous-épidermique. Rapidement **se forme un manchon continu en périphérique**.

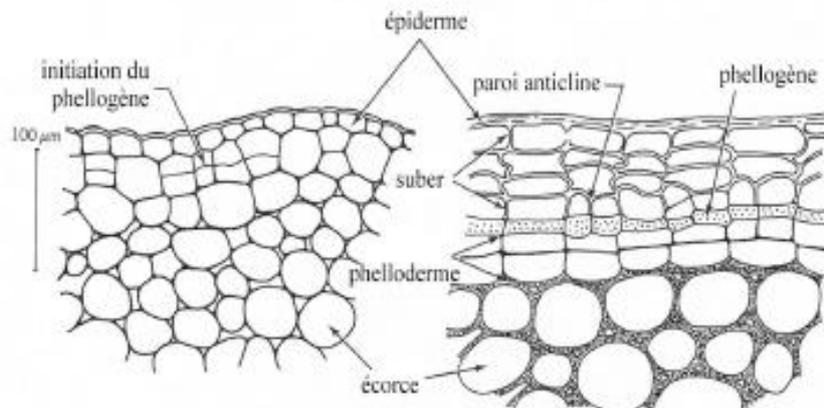
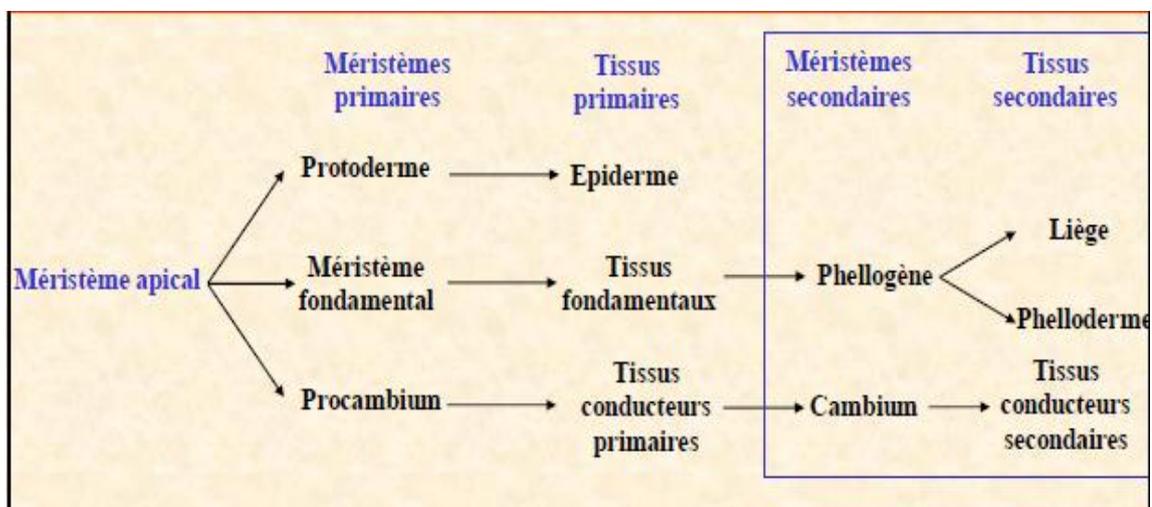


Fig.20: Le Phellogène



CHAPITRE.3

LA DIFFERENCIATION DE LA CELLULE MERISTEMATIQUE ET CONTROLE GENETIQUE DU FONCTIONNEMENT DU MAC ET MAR.

1. Le passage d'une cellule méristématique à une cellule différenciée:

La différenciation cellulaire est un processus hautement organisé dans **le temps** et dans **l'espace**;

C'est un dialogue gènes-milieu particulièrement sensibles, des gènes qui répriment ou expriment d'autres gènes.

✚ Les étapes de la différenciation cellulaire:

Se divise en deux étapes essentielles: la **détermination** et la **spécialisation**.

➤ la détermination:

Les cellules sont orientées dans une **séquence d'événements**, vont sortir de son **état totipotent**. Cette étape est **non observable**, c'est une **période transitoire d'orientation**.

➤ La spécialisation:

Une cellule est dite spécifiée à partir du moment où une **cellule n'a plus besoin d'influences externes** pour parvenir à sa différenciation. **La cellule spécifiée est engagée de façon irréversible** dans une voie de la différenciation.

Deux phénomènes de la cytodifférenciation caractérisent la cellule au cours de ce passage:

– Phénomènes de polarité:

(Axe de croissance, mitoses orientées, ségrégations des organites)

– Hiérarchisation intercellulaire:

(Développement de corrélations soit simulatrices soit inhibitrices).

✚ Les aspects cellulaires de la différenciation:

- La paroi (collenchyme, sclérenchyme, suber, etc.);
- La différenciation de plastides (chloroplastes dans les parenchymes chlorophylliens);
- Amyloplastes dans les parenchymes des tissus de réserve, chromoplastes dans les pétales ou les péricarpes des fruits, etc.);
- Le noyau et la vacuole;
- parfois une dégénérescence du contenu cellulaire. Cette dégénérescence peut être partielle (tube criblé du phloème) ou totale (vaisseaux du xylème);
- l'apoptose;

2. La mise en place de l'axe apico-basal de l'embryon:

Le MAC se met en place au cours du développement embryonnaire mais un peu plus tardivement comparé au MAR. La formation du MAC est soumise à un réseau de régulation complexe, où **le centre organisateur (gène Wox) joue un rôle primordial dans le contrôle de la taille et le maintien du méristème.**

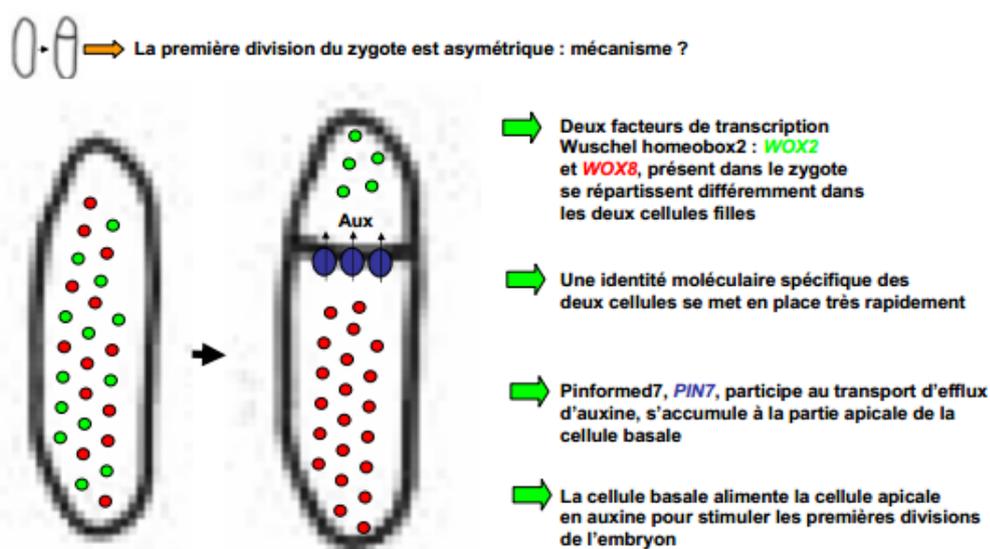


Fig. 21: Mise en place de l'axe apico-basal de l'embryon.

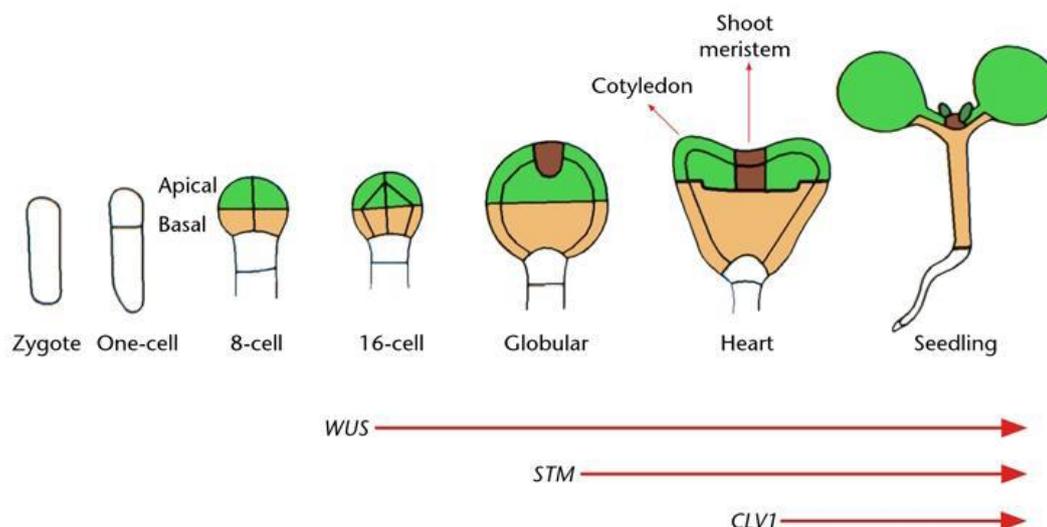


Fig.22 : Les différents stades de développement embryonnaire.

Des marqueurs de sa formation sont détectés dès le stade 16 cellules (expression du gène *WUSHEL*). Un ensemble de cellules se différencie pour donner le MAC, lieu de production des organes aériens post-embryonnaires. IL est situé entre les primordia des cotylédons, région dépourvue d'auxine.

3. Contrôle génétique et hormonal du fonctionnement du MAC et du MAR:

3.1. Contrôle génétique du fonctionnement du MAC :

Le MAC est une structure hautement organisée dans laquelle différentes zones définies correspondent aux deux fonctions principales du méristème :

- Mise en place des organes latéraux dans la ZL
- Auto-maintien du méristème par l'activité de la ZA.

Plusieurs classes de gènes à homéo-domaines (gènes codant pour des facteurs de transcription impliqués dans la définition et le développement du plan de base du

corps de nombreux organismes multicellulaires animaux et végétaux) sont impliquées dans le fonctionnement et la fine régulation génétique du MAC.

Cette fine régulation permet son maintien tout au long de la vie d'une plante. On peut citer parmi ces gènes :

- Gènes qui définissent l'identité indéterminée des cellules du MAC **STM** et **KN1** qui s'expriment dans toutes les cellules du méristème (ZL et ZA). **Leurs expressions s'arrêtent dans les cellules d'une zone latérale au début de l'initiation foliaire.**

- Gènes qui définissent la taille du MAC : **WUS** s'exprime dans le centre organisateur situé dans **la zone axiale sous la L3.**

- **CLV3** s'exprime dans la **zone axiale**, au niveau de la L1, L2 et L3. La protéine CLV3 est retrouvée dans les zones latérales du MAC car c'est un peptide mobile.

L'analyse des mutants affectés dans la mise en place et l'organisation du MAC et la combinaison des études génétiques et moléculaires chez de nombreuses espèces notamment *Arabidopsis*, ont permis **d'identifier ces gènes et de comprendre la régulation génétique du MAC.** Ces études ont **confirmé les observations cytologiques et attribué des fonctions distinctes aux différentes zones du MAC.**

a. Mutant shootmeristemless (Stm):

Les mutants forts Stm sont incapables de développer un méristème fonctionnel pendant l'embryogenèse. Les mutants à allèles plus faibles sont capables d'initier des méristèmes qui se désorganisent rapidement après avoir produit quelques feuilles. Le gène **STM** fait partie de la famille des **gènes à homéo-boîte KNOTTED 1 (KNOX1)**, nécessaire à la formation et au maintien du méristème. Il s'exprime très précocement au cours de l'embryogenèse, dans les cellules apicales de l'embryon globuleux. Progressivement, il est exclu des cotylédons en formation. Plus tard au cours du développement, son expression sera localisée dans tout le MAC mais pas dans les primordia.

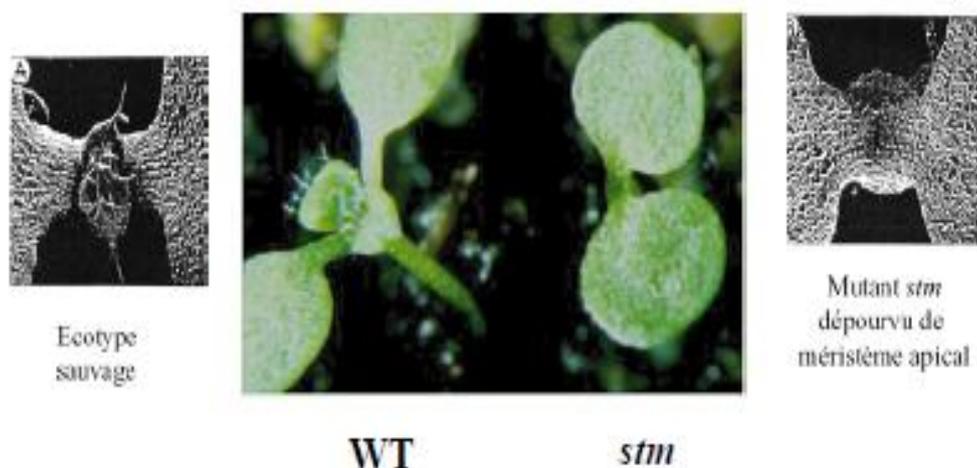


Fig. 23: Le mutant Shootmeristemless (*stm*).

Les phénotypes des mutants *stm* ainsi que le profil d'expression du gène suggèrent que *STM* soit nécessaire pour la formation du méristème et au maintien des cellules dans un état indifférencié.

b. Mutant wushel (wus):

Le phénotype *wushel* ébouriffé est dû à un démarrage puis arrêt de la croissance. En effet, le MAC peut être mis en place mais le méristème se termine précocement après avoir formé quelques feuilles. De nouveaux méristèmes s'initient de façon ectopique mais aboutissent à des structures anormales. Les primordia sont formés fréquemment en ZA consommant les cellules méristématiques, **ce qui entraîne le non maintien de la fonctionnalité de cette ZA.**

Le gène *WUS* est un autre gène à homéo-domaine impliqué dans le fonctionnement du méristème. L'analyse du profil d'expression du gène *WUS* montre qu'il est exprimé dans un petit groupe de cellules situées dans la ZA en dessous de la L3, appelé centre organisateur et qui constitue le véritable réservoir des cellules souches. On retrouve ce même profil dans les méristèmes d'inflorescence et floraux.

Sur la base de ce profil d'expression et du phénotype *wus*, il a été proposé que le gène **WUS** contrôle le maintien de l'identité des cellules souches de la ZA surplombant son domaine d'expression.

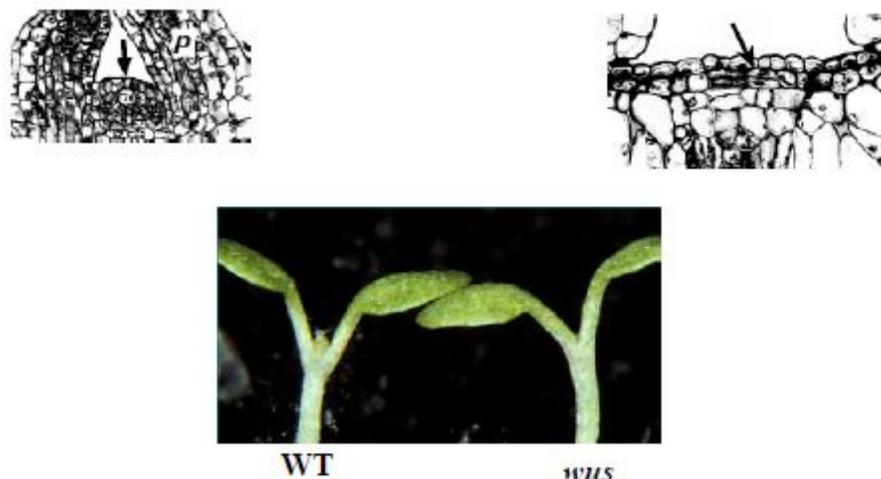
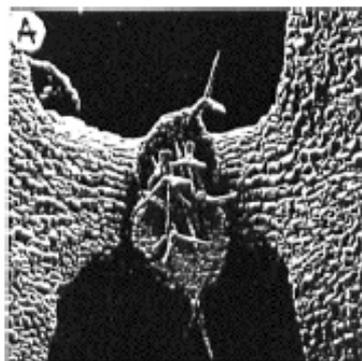


Fig.24: Le Mutant *wuschel* (*wus*). (**WT**) La plante sauvage initie des feuilles (paires 1 et 2) normalement. (**wus**) la plantule mutante *wuschel* produit beaucoup moins de feuilles que la plantule sauvage.

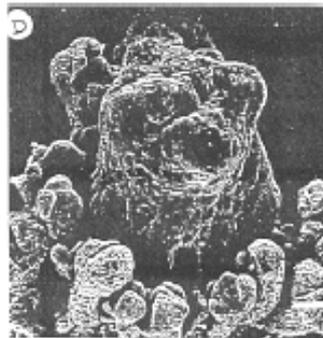
c. Mutants *clavata* (*clv1, 2, 3*):

Les mutants *clv1*, *clv2* et *clv3* ont un phénotype similaire: **un méristème agrandi dès l'embryogenèse**. La taille du méristème s'accroît graduellement au cours du développement et se présente sous forme d'un anneau au lieu d'un point, **produisant plus de feuilles végétatives**, puis donnant naissance à des tiges élargies. Les doubles mutants *clv1clv3* sont identiques aux simples mutants suggérant **que les deux gènes jouent un rôle commun dans la même voie de transduction**. Le phénotype des mutants *clv* est l'opposé de celui des mutants *wus* et *stm*.

Mutant *clavata* (*clv*)



Ecotype
sauvage



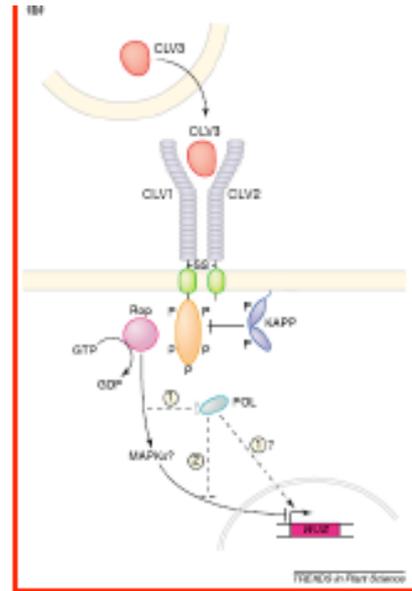
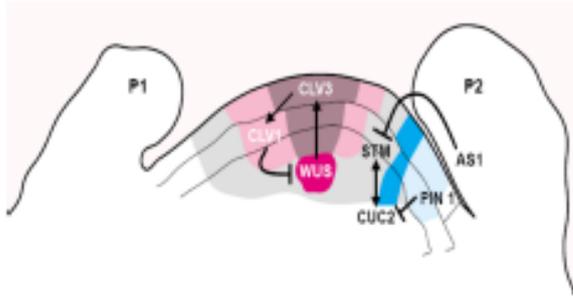
Mutant *clv1*
avec un méristème
Hypertrophié
(*clavata1*)

Fig.25: Phénotype de la plante mutante CLAVATA.

Le gène ***CLV1*** code pour un **récepteur à activité kinase**. Le gène ***CLV2*** code également pour un **récepteur membranaire qui s'associe à *CLV1***. Le gène ***CLV3*** est exprimé dans un domaine **restreint au sommet du méristème : L1, L2 et L3 de la ZA**. Il code pour un petit peptide mobile qui sera sécrété dans les parties latérales, domaines d'expression de ***CLV1*** et ***CLV2***. Ces trois protéines agissent au sein d'une même voie de signalisation pour contrôler la taille du méristème en empêchant la prolifération de la population des cellules souches: **action antagoniste de celle de *WUS* qui lui promeut leur prolifération**. L'action coordonnée de ces gènes contribue à maintenir les cellules souches dans le centre organisateur : zone d'expression de *wus*.

CLV3 est une protéine sécrétée

CLV1 (récepteur kinase) et CLV2 (récepteur) forment un complexe extracellulaire



L'expression de *CLV3* dans les cellules de la zone axiale maintient constante la taille de la zone axiale et confère l'identité cellule souche.

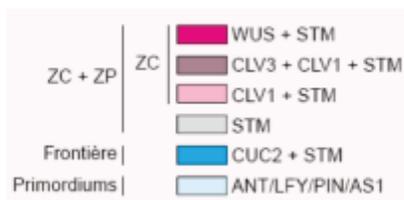


Fig.26: La boucle de régulation WUSCHEL-CLAVATA.

Les études biochimiques suggèrent que la protéine CLV3 produite dans les cellules de la ZA est un ligand extracellulaire de CLV1. CLV3 mobile active dans les cellules aux alentours, le complexe récepteur membranaire formé par CLV1 et CLV2. La transmission du signal via la voie *CLAVATA* limite l'activité WUS en restreignant son expression au centre organisateur. **WUS est un activateur de l'expression de CLV3.**

D'autres gènes sont exprimés spécifiquement dans le primordium foliaire comme **AS1** et **ANT**. La protéine **AS1** interagissant avec **AS2** pour réprimer dans les primordia foliaires, l'expression des gènes de la famille *KNOX1* dont fait partie *STM* et limite leur expression à la région méristématique. Des gènes s'expriment spécifiquement dans les zones frontières comme le gène **CUC2** déterminant ainsi la limite de l'organe.

3.2. Contrôle hormonal du fonctionnement du méristème apical caulinaire (MAC):

❖ Les cytokinines (CK) :

Les cytokinines (CK) stimulent la division cellulaire (Transition la phase G à la phase S, amorçant la réplication de la quantité D'ADN). Les CK produites dans l'apex du MAC et diffusent aux alentours via l'apoplasme. Ce qui contribue au maintien du MAC en stimulant STM ET KNOX par une synthèse de la protéine KNOX qui active la biosynthèse des cytokinines. KNOX et CK répriment la biosynthèse des gibbérellines (GA).

Le gène WUS stimulerait la voie de signalisation des hormones des CK (inhibe les régulateurs négatifs).

CK et GA antagonistes et s'inhibe mutuellement.

❖ Les auxines (AIA):

Le transport polarisé des auxines et leur gradient jouent un rôle important dans l'identité du site d'initiation du primordia foliaire et contrôlent ainsi l'arrangement des feuilles.

- l'auxine AIA, la mise en place du MAC et MAR (embryogénèse)
- AIA inhibe l'expression des gènes KNOX comme STM
- AIA active les gènes impliqués dans la différenciation (AS1, AS2).
- GA réduit l'activité des CK
- L'AIA Favorable à l'initiation d'organes.

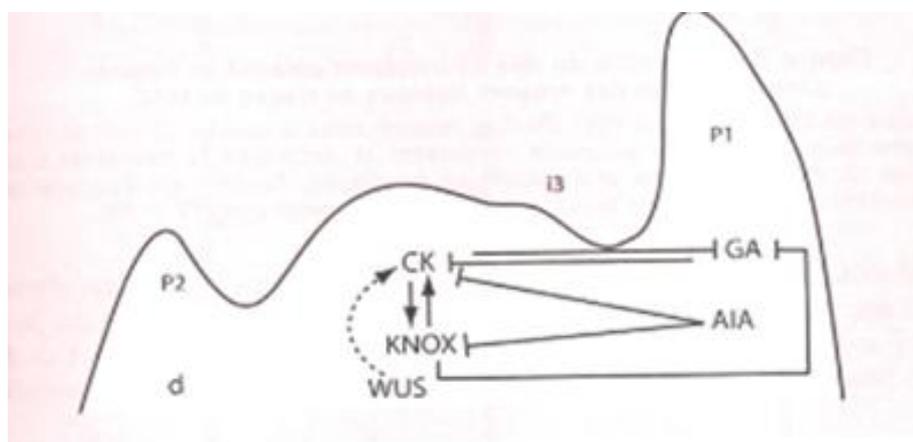


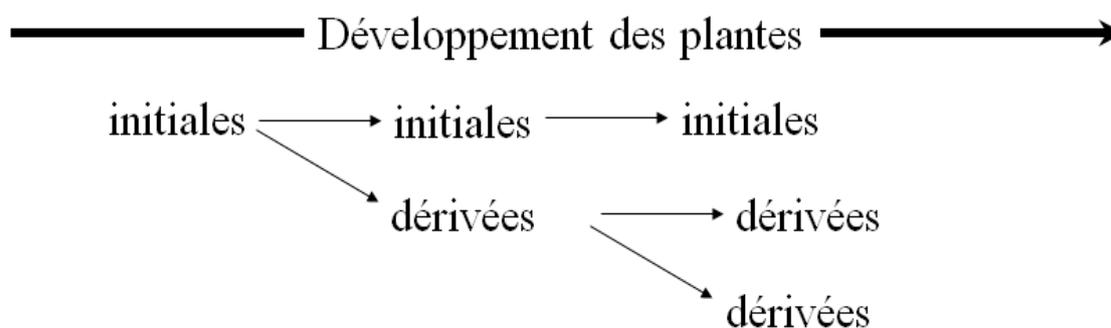
Fig.27: Contrôle hormonal du fonctionnement du méristème apical caulinaire.

3.3. Contrôle génétique du fonctionnement du MAR:

a. Organisation fonctionnelle du MAR:

Le **MAR** se forme au cours de l'embryogenèse. Les **initiales du MAR subissent des divisions cellulaires dans des plans prédictibles pour assurer la croissance primaire de la racine** mais **ne produisent pas de structures latérales**.

La **croissance primaire racinaire produit des tissus primaires organisés en cylindres concentriques: un épiderme, un tissu fondamental (écorce et endoderme) et la stèle (péricycle et des tissus vasculaires)**. Les cellules derrière le méristème s'allongent en poussant le bout de la racine à travers le sol.



➤ *Les initiales fonctionnelles:*

Elles sont réparties en **4 types d'initiales fonctionnelles** selon les tissus qu'elles produisent :

- Une initiale produira la columelle (**columella stem cell**)
- Une même initiale produira le tissu latéral de **la coiffe et l'épiderme**.
- Une même initiale produira l'écorce et l'endoderme (**cortical endodermal stem cell**)
- Une même initiale produira le péricycle et les tissus vasculaires (**stele stem cell**).

Chaque type d'initiales donne naissance à travers des profils mitotique précis à des cellules organisées en file cellulaires.

Dans cette file de cellules, on retrouve une relation entre la localisation spatiale des cellules et leur âge. Les jeunes cellules sont près de l'apex de la racine alors que les plus âgées sont situées dans la partie la plus distale. Les divisions cellulaires suivent un profil typique donnant naissance à des lignées cellulaires invariables.

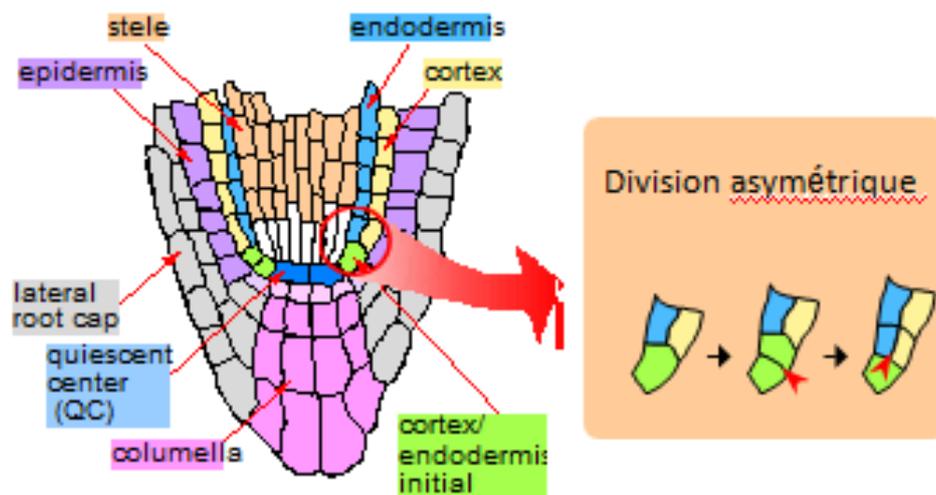


Fig.28: Les types cellulaires dans le MAR d'*Arabidopsis thaliana*.

Des ablations au laser montrent que le facteur déterminant de l'identité des cellules n'est pas liée au lignage cellulaire mais à leur position. Par exemple, si on élimine par ablation l'initiale corticale/endodermique. Une initiale du péricycle/stèle occupera la place libérée et subira le profil de divisions cellulaires caractéristiques d'une initiale corticale/endodermique qui donnera naissance à l'écorce et endoderme. **Le changement de position de l'initiale a changé sa destinée.**

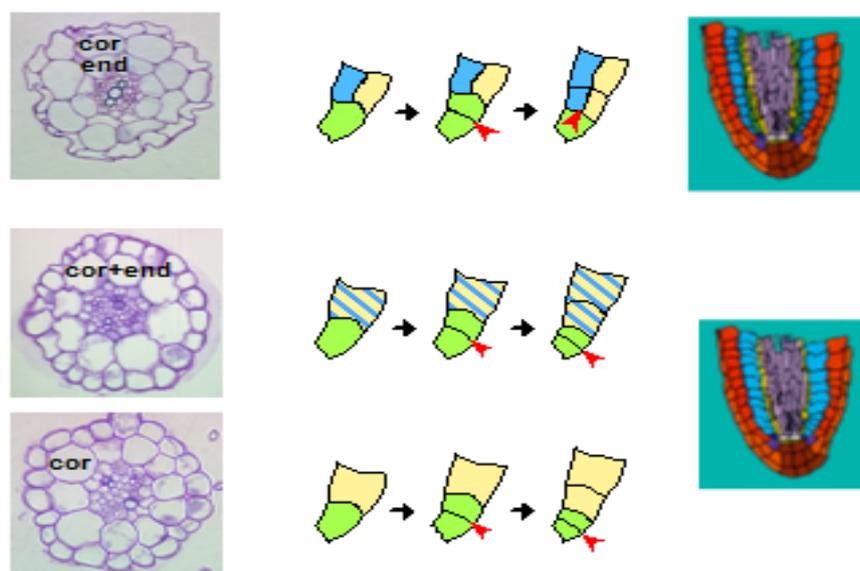


Fig.29: Deux mutants déficients dans la mise en place et la différenciation de l'endoderme.

– **Le centre quiescent (CQ):**

Il est constitué d'un petit groupe de cellules de **faible activité métabolique**. Il joue un **rôle important dans le maintien des initiales fonctionnelles**. Son ablation au laser entraîne la différenciation des initiales fonctionnelles qui étaient en contact. Le CQ **inhibe la différenciation des initiales fonctionnelles en contact** et de ce fait joue un rôle important dans le maintien de leur état indifférencié. Cette stratégie permet donc qu'après chaque division, une initiale donne naissance à une cellule fille en contact avec le CQ qui restera indifférenciée (l'initiale régénérée) et une cellule fille (la dérivée) déconnectée du CQ, qui pourra par conséquent se différencier. Le CQ se comporte comme des cellules souches avec ses divisions peu fréquentes dans le maintien des initiales fonctionnelles. Des divisions occasionnelles dans ce CQ vont permettre le renouvellement des initiales fonctionnelles qui ont été déplacées de leur position.

L'endoderme et l'écorce sont remplacés par une seule assise cellulaire chez les mutants *shortroot (shr)* et *scarecrow (scr)* perturbés dans leur organisation radiale. Dans *shr*, cette unique assise a des caractéristiques de l'écorce, donc SHR est requis pour spécifier l'identité endoderme. Dans *scr*, elle a des caractéristiques à la fois d'écorce et d'endoderme. SCR semble donc être impliqué dans la définition des divisions cellulaires qui génèrent les deux assises cellulaires. Les gènes *SCR* et *SHR* codent pour des facteurs de transcription de la famille GRAS. SHR active l'expression de SCR qui est nécessaire pour la division cellulaire de la cellule dérivée qui donnera naissance à l'écorce et l'endoderme.

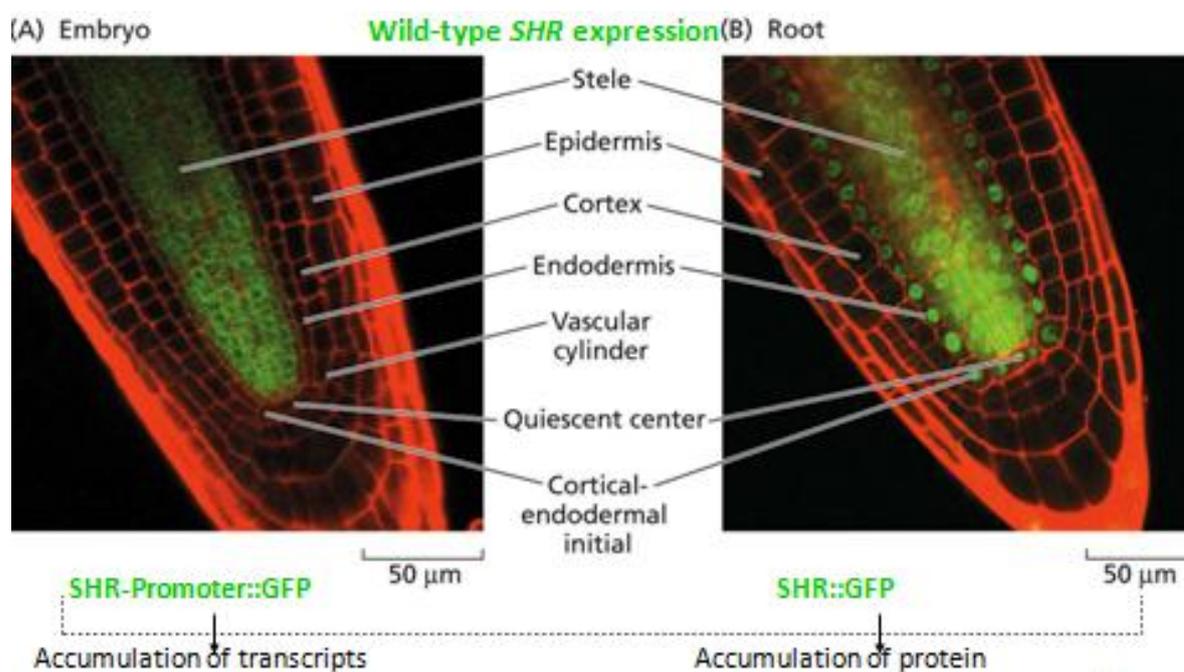


Fig.30 : Expression du gène SHR.

Le gène *SCR* est exprimé dans les initiales (fonctionnelles et CQ) et dans l'endoderme comme attendu. Mais les transcrits du gène *SHR* se trouvent localisés dans la stèle au lieu de l'endoderme et les initiales. Une fusion traductionnelle montre que la protéine de fusion SHR-GFP est présente dans l'endoderme et le CQ, ce qui signifie que la protéine SHR synthétisée dans la stèle migre vers l'endoderme où elle active l'expression de SCR et contrôle ainsi l'organisation radiale de la racine.

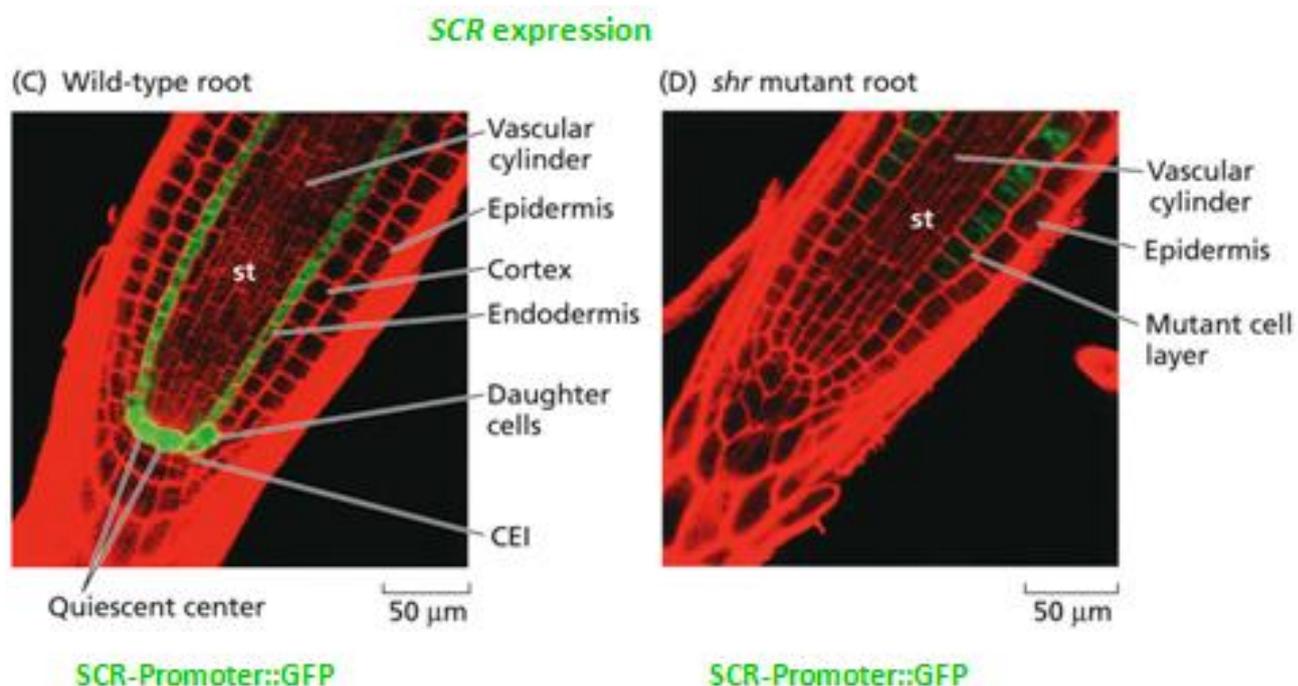


Fig.31: SCR and SHR control tissue patterning during root development.

3.4. Les signaux d'informations de position dans le MAR.

– Nature du signal positionnel:

L'**auxine** qui contrôle les divisions et l'élongation cellulaire dans les racines, est un bon candidat pour ce signal. En effet, cette phytohormone joue un rôle important dans le fonctionnement du MAR. **Le couplage promoteur de gènes inducible par l'auxine avec le gène rapporteur GUS montre une forte activité GUS et donc visualise une forte accumulation d'auxine au niveau du cœur du MAR. L'accumulation maximale d'auxine dans l'apex racinaire est donc nécessaire et suffisante pour induire le profil d'organisation racinaire.**

Dans les racines, le principal flux de l'auxine provient de la partie aérienne de la plante via les tissus vasculaires. **AUX1** et **PIN** sont des classes de protéines d'influx et d'efflux d'auxine respectivement et sont impliquées dans son transport polarisé. Ce flux vertical résulte en une accumulation maximale d'auxine dans le MAR qui reste inaltérée durant le développement normal de la racine. **L'accumulation d'auxine est plus forte dans les initiales, de la columelle et le centre quiescent (CQ).**

L'auxine est ensuite transportée vers les couches externes par différentes protéines **PIN**. Une partie de cette auxine peut également revenir vers les couches internes et retourner vers le MAR. Ce serait un moyen de **maintenir un niveau d'auxine élevé au niveau du centre du MAR**.

Les protéines SCR et SHR sont localisées dans le **CQ** et leurs mutations entraînent la désorganisation du **CQ** avec perte progressive des cellules initiales. **SHR et SCR** sont donc impliqués dans le contrôle de l'identité et le maintien du **CQ**. **SHR est exprimé dans la stèle et la protéine migre dans l'endoderme mais également dans le CQ où elle active l'expression de SCR**. **SHR** en effet constitue un signal positionnel, relayé par **SCR** et d'autres produits de gènes inconnus, qui permet le contrôle de l'identité du **CQ** et des initiales.

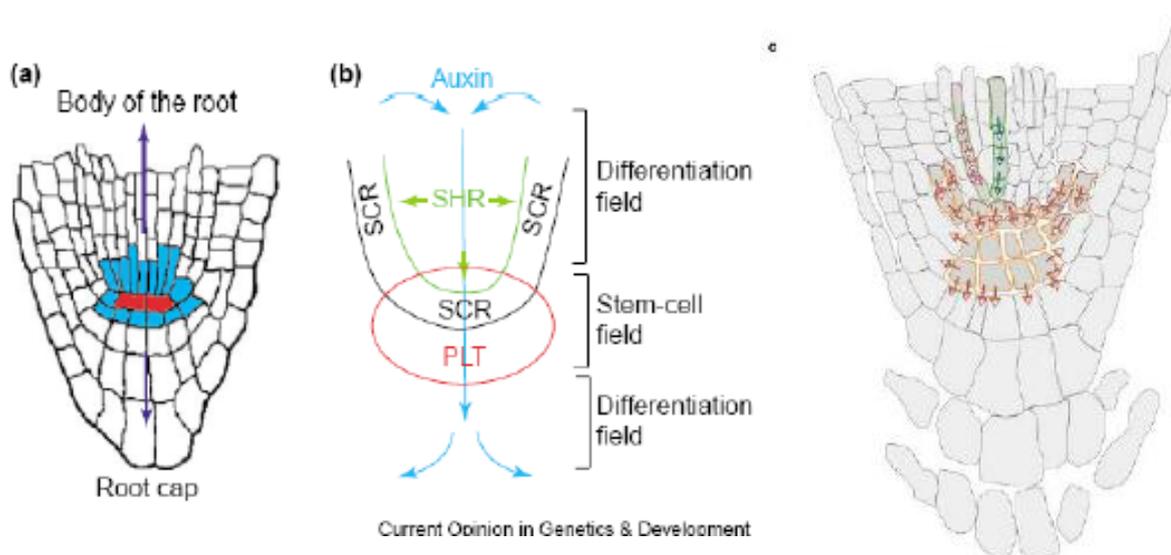


Fig. 32: Méristème apical racinaire: signal positionnel

PLETHORA (PLT) 1 et 2, facteurs de transcription de la **famille AP2 (APETALA2)** jouent également un rôle clé dans la régulation de l'identité des initiales. **Ils agissent dans une voie indépendante mais parallèle à celle de SHR et SCR**. Les deux gènes s'expriment dans le CQ et les initiales. On remarque une intersection dans les domaines d'expression des gènes **PLT** et ceux de **SCR** définis par le mouvement de la

protéine **SHR**, intersection supposée contrôler la localisation du **CQ** et par conséquent celle des initiales.

Le modèle proposé pour expliquer le contrôle de l'identité des initiales et du potentiel de différenciation de leurs cellules filles préconise que **la protéine SHR produite dans la stèle au centre de la racine, migre dans les cellules voisines où elle active l'expression de la protéine SCR. L'auxine provenant de la partie aérienne s'accumule dans le MAR où elle contrôle l'expression des gènes PLT.** L'expression de *PLT* se fait selon un gradient qui mime celui de l'accumulation de l'auxine dans l'apex racinaire.

CHAPITRE.4

LA DIFFERENCIATION DES TISSUS CONDUCTEURS

1. Le cambium et les tissus conducteurs:

Les tissus conducteurs des plantes sont le xylème, conducteur de la sève brute et le phloème, conducteur de la sève élaborée. Ils sont formés d'autres types cellulaires. Nous décrivons la différenciation des éléments conducteurs pour chaque type de tissu.

1.1. L'organisation du cambium:

Les différents éléments conducteurs sont issus de:

*Procambium: méristème primaire qui donne des tissus conducteurs primaires;

*Cambium: méristème secondaire ou zone génératrice libéro-ligneuse qui produit exclusivement des tissus conducteurs secondaires. Cette zone est issue du procambium. Le passage de ce dernier en cambium se fait par de nombreuses divisions périclines.

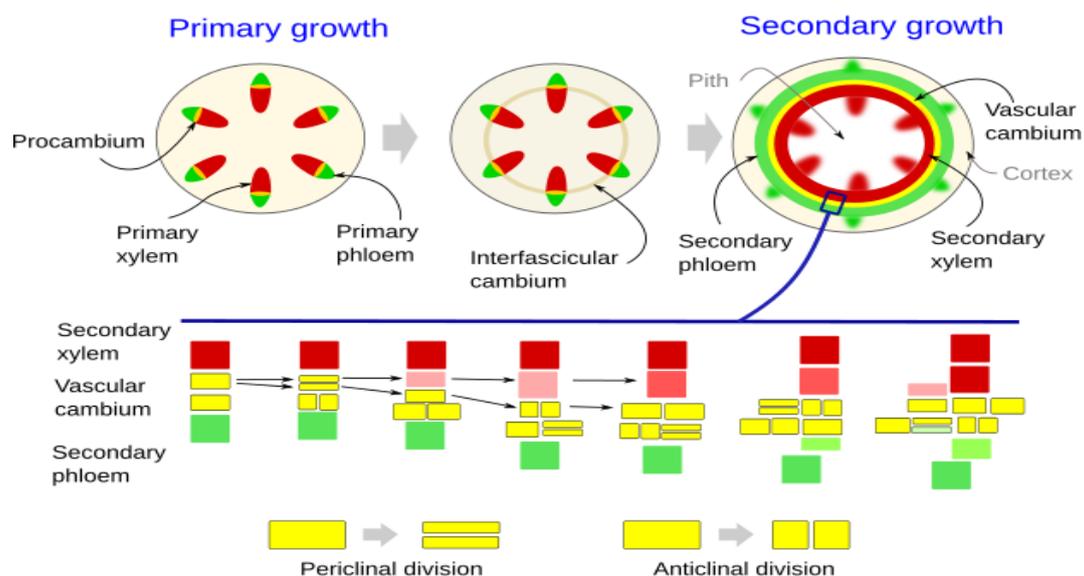


Fig.33: Transformation de la croissance primaire à la croissance secondaire par l'activité du méristème du cambium vasculaire, qui résulte des méristèmes procambium (cambium fasciculaire) et interfasciculaire.

Le cambium assure à la fois:

- Une croissance en épaisseur
- Renouvellement régulier du phloème et du xylème.
- En plus d'être un méristème histogène, le cambium constitue un pont de communication entre le xylème et le phloème.

À l'heure actuelle, seules les Dicotylédones, les Gymnospermes et un genre de Fougères le *Botrychium*, possèdent un cambium.

Le cambium est présent dans:

- Les axes (tiges), racines
- Les feuilles persistantes (telles les aiguilles de conifères)
- Absent dans les feuilles caduques.

1.1.1. Caractères cytologiques du cambium :

Le cambium est une couche large de une à quelques cellules vivantes appelées initiales.

Les cellules initiales sont entourées d'une paroi primaire fine (0,1-1 μm) et ont un diamètre étroit. Elles sont capables de se diviser, donnant ainsi naissance aux nouvelles cellules du bois (xylème secondaire) et du phloème secondaire.

Les autres caractères cytologiques du cambium sont:

- *Cytoplasme très dense et riche en ribosomes et en réticulum rugueux
- * Petites mitochondries et plastes sont peu différenciés (proplaste)

Les cellules initiales sont constituées de deux catégories de cellules; initiales fusiformes et initiales radiales.

a. Les initiales fusiformes

Les initiales fusiformes sont longues et de formes effilées au fuseau aux extrémités (entre 0,4 et 4 mm de longueur, 30 μm de largeur et 5-10 μm de diamètre), majoritaires (60-90%). Ces initiales sont à l'origine du système vertical.

De petites vacuoles arrondies peuvent se rencontrer dans les extrémités des cellules fusiformes.

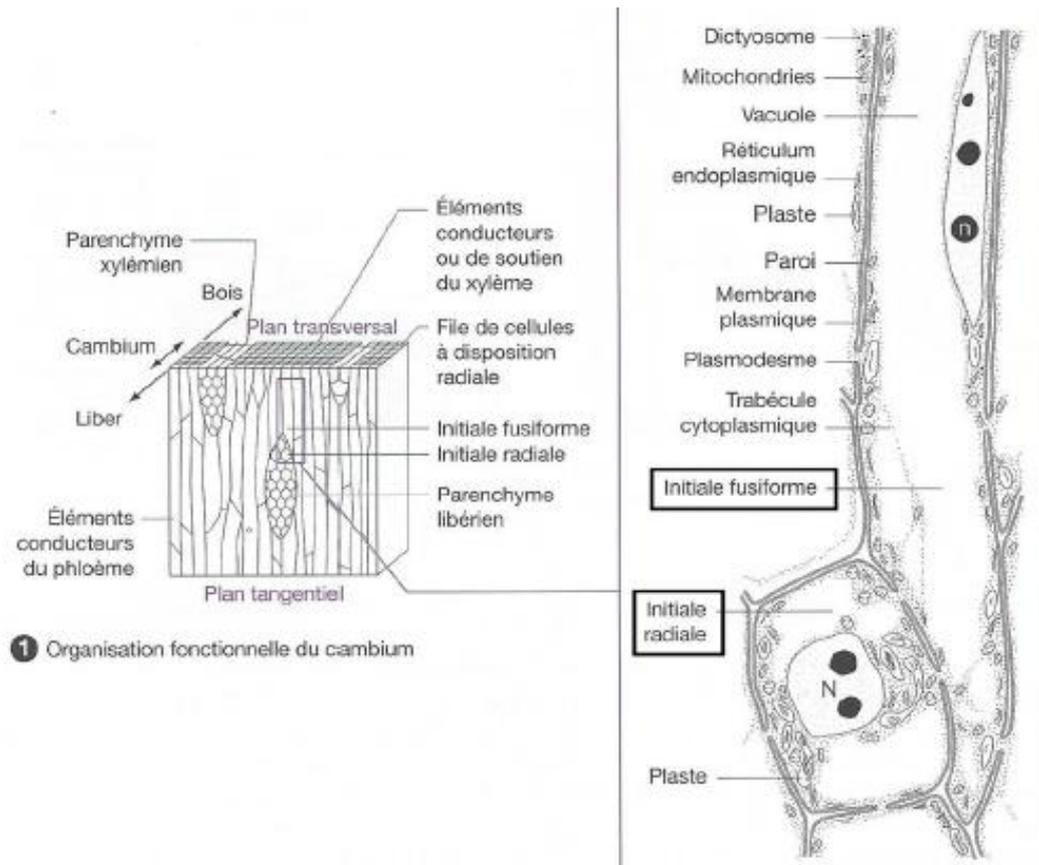


Fig. 34: Cytologie d'une cellule cambiale.

b. Les initiales radiales :

Les initiales radiales sont courtes et isodiamétriques (environ 40 μm de longueur et de diamètre), minoritaires (10-40%), à l'origine des éléments radiaux (système horizontal de tissus conducteurs qui a un rôle de fournir les solutés de manière radiale). Ces initiales s'allongent radialement.

Cette structure originale présente un double avantage:

*Les initiales radiales et les rayons qui en dérivent assurent à chaque niveau la communication entre le phloème et xylème; en particulier les transferts de nutriments.

*Les tissus conducteurs issus du cambium, sont donc constitués par l'entrecroisement de systèmes verticaux et horizontaux, présentant de propriétés mécaniques particulières.

- le **système vertical** formé par des cellules allongées verticalement issues des initiales fusiformes. Ce système comporte tous les éléments spécialisés dans la conduction à longue distance et dans le soutien : xylème et phloème secondaires, les fibres et les parenchymes dits verticaux.
- le **système horizontal** formé de cellules courtes ou de rayons issus des initiales radiales, essentiellement du parenchyme de réserve. Les rayons en dérivant assurent partout la communication entre xylème et phloème secondaires.

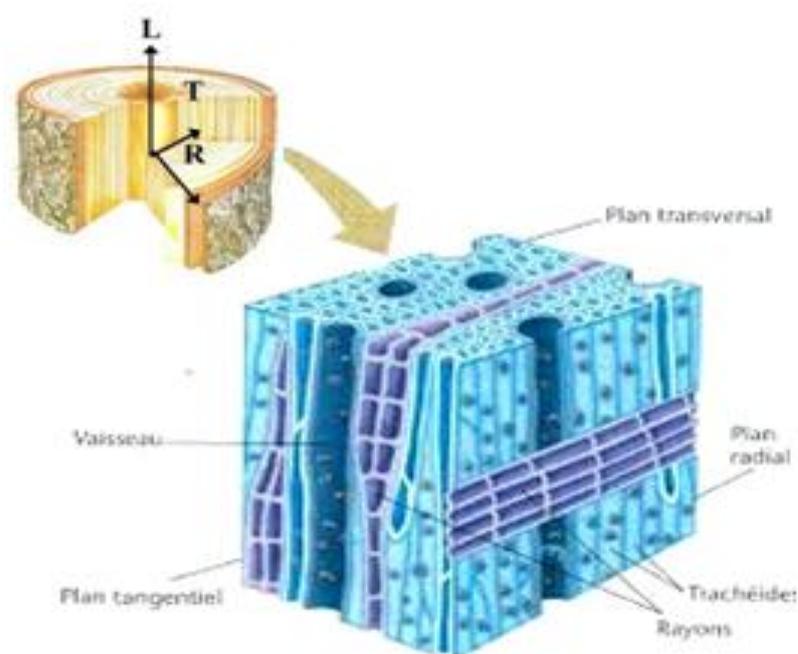


Fig.35: Bloc diagramme montrant l'organisation du Bois.

Il existe trois types de divisions cellulaires à l'origine de l'activité et du renouvellement du cambium:

1-les divisions périclines; 2-pseudotransverses; 3- et anticlines.

Les divisions périclines donnent des cellules mères du xylème ou du phloème, respectivement à l'intérieur et l'extérieur du cylindre cambial. Le passage du procambium en cambium nécessite de nombreuses divisions périclines.

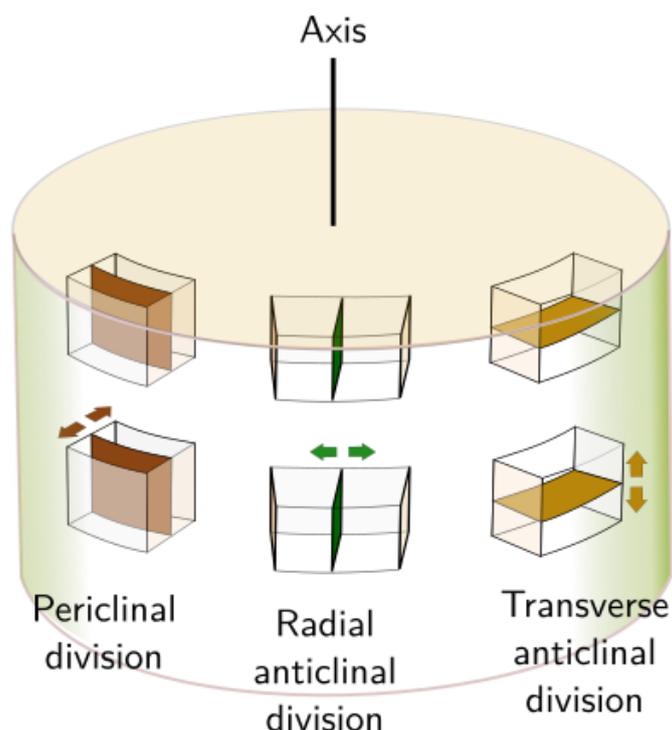


Fig. 36: La polarité des divisions nucléaires des initiales du cambium vasculaire.

c. La cyclicité de l'activité cambiale donne naissance aux cernes de croissance

En zone tempérée, le cambium n'est actif que du printemps à l'automne, lorsque les conditions sont favorables, et s'arrête pendant l'hiver. Cette activité cyclique de l'activité du cambium, couplée à la croissance en hauteur de l'arbre, se traduit par l'empilement de cônes de bois dans le tronc qui, en section transversale, forment les cernes annuels de croissance.

Des formations libéro-ligneuses, elles sont toujours beaucoup plus importantes et plus profondes que les formations du périoderme. Elles se trouvent aussi bien dans la tige que dans les racines, elles sont de deux :

- Le liber : est disposé vers l'extérieur, sa formation centrifuge, est rythmique et donne des couches concentriques mince de cellules aplaties, elles ressemblent à des feuilles d'un livre, d'où le nom de liber.
- Le bois se développe vers l'extérieur, il a une croissance rythmique centripète, synchronisée avec les saisons.

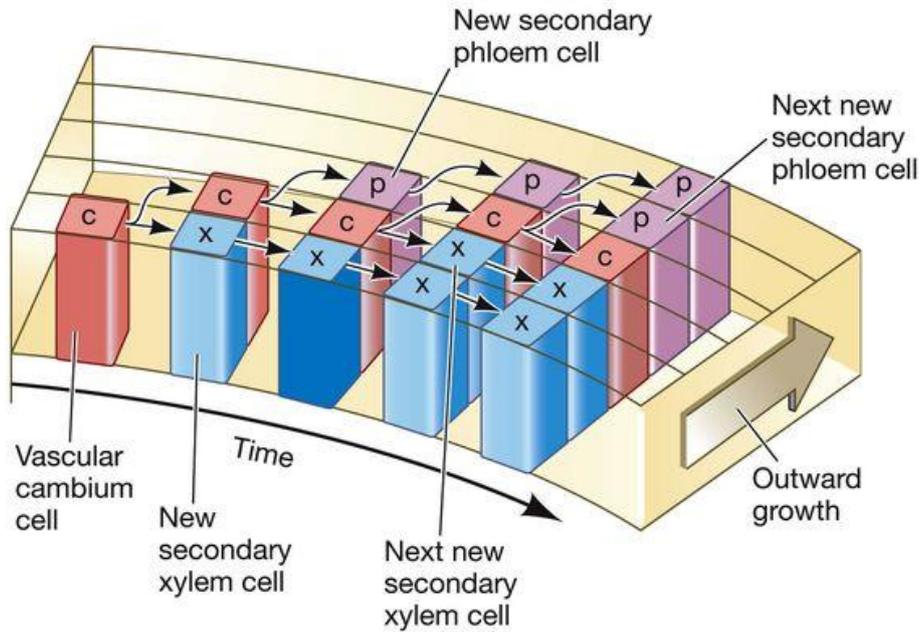


Fig. 37: La croissance secondaire du cambium vasculaire

1.2. Le xylème :

1.2.1. Structure du xylème

Le xylème est un tissu complexe dont les constituants sont :

- Éléments conducteurs: vaisseaux ou trachéides (vaisseaux primitifs, vaisseaux imparfaits). Ces éléments se trouvent dans le système axial;
- Cellules à rôle de soutien: fibres. Ces éléments se trouvent dans le système axial;
- Cellules parenchymateuses.

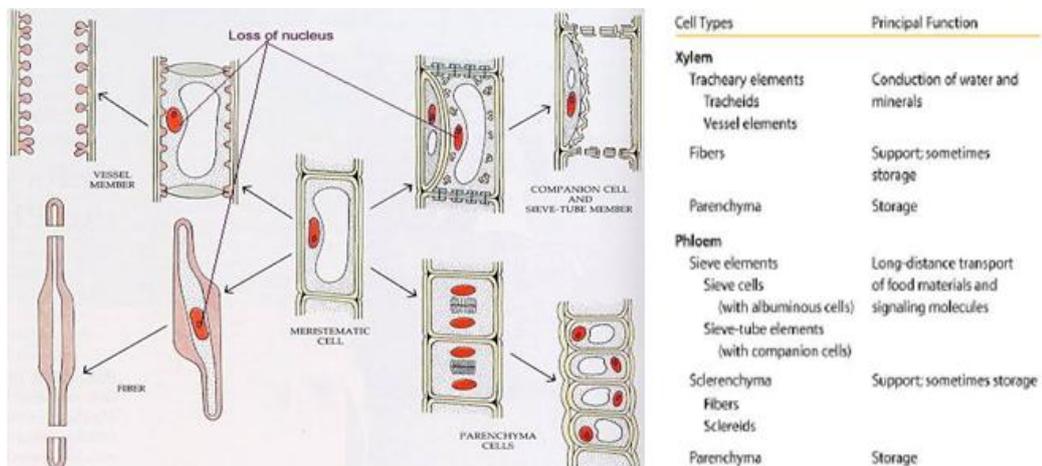


Fig. 38: Les types cellulaires de xylème et de phloème.

a. Vaisseaux :

Ce sont des éléments plus spécialisés que les trachéides et mieux adaptés au rôle de conduction seulement. Les trachéides jouent le rôle de soutien et de conduction en même temps.

Les vaisseaux sont caractéristiques des végétaux vasculaires les plus évolués tels que les Angiospermes.

Ils sont de longs tubes (afin de ne pas gêner la circulation de la sève, de quelques cm à 10 m), formés par un empilement de petits cylindres (assemblage de plusieurs cellules différenciées accolées les unes aux autres en longues files longitudinales), aux parois transversales, partiellement ou totalement perforées.

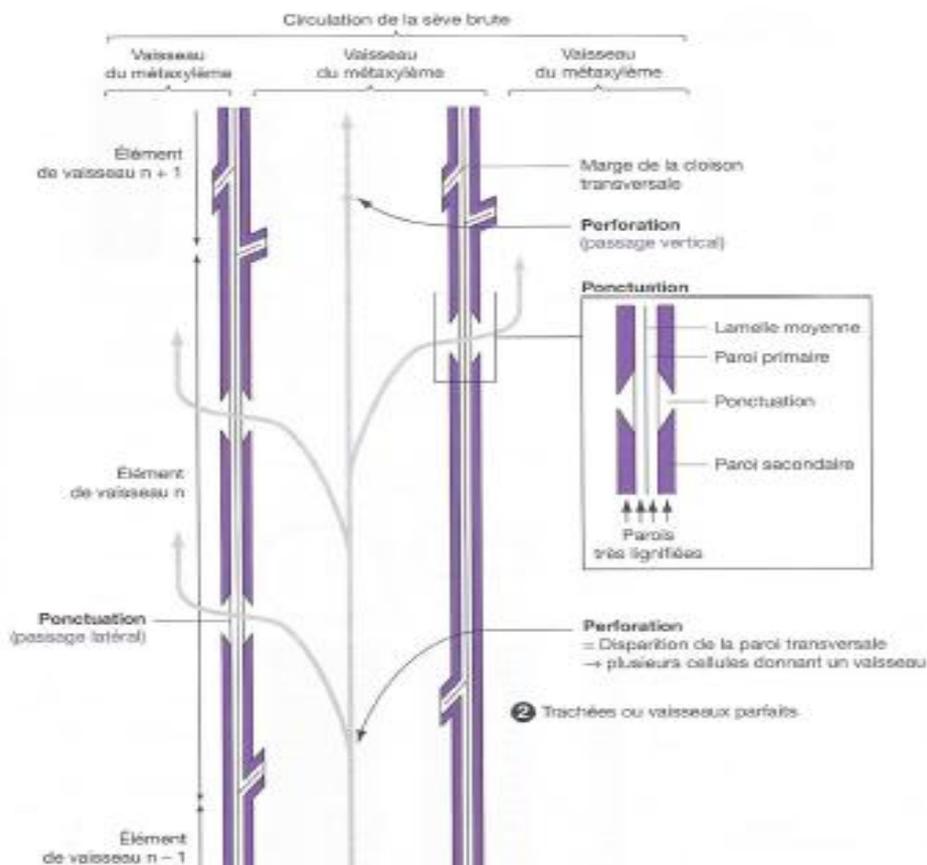


Fig.39: Trachées (vaisseaux parfaits) avec des punctuations.

- **Types de perforations:**

La perforation forme donc un tube creux, rigide, limité par des parois terminales qui ne se perforent pas. La distance entre chaque deux perforation successive forme un élément de vaisseau. Les perforations faisant directement communiquer entre les différents éléments du vaisseau.

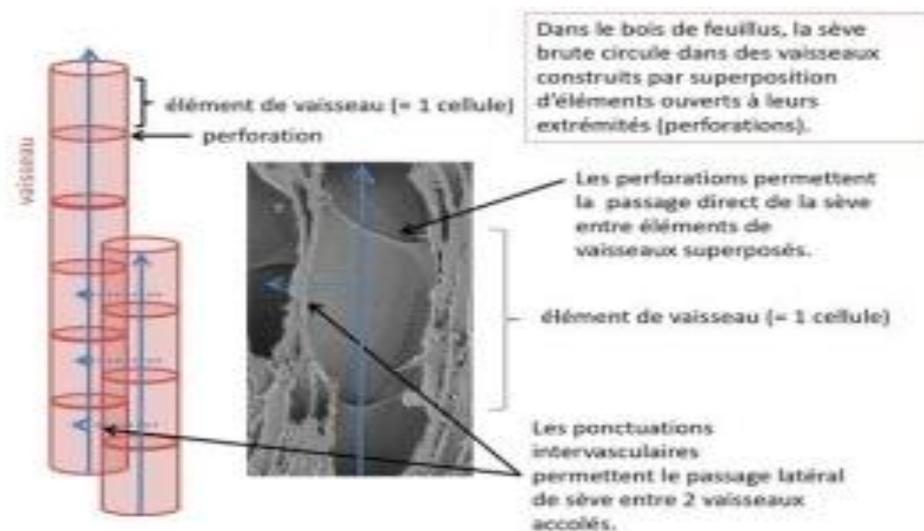


Fig.40 : Perforations dans les vaisseaux.

- **Les ponctuations:**

Sur les parois des éléments vasculaires, au niveau de zones circulaires appelées ponctuations, la paroi secondaire n'est pas déposée et, non seulement la lamelle moyenne et la paroi primaire ne sont pas lignifiées, mais elles sont partiellement hydrolysées et forment la membrane de la ponctuation. Observée de face, cette membrane de ponctuation peut ressembler à un filet, structure caractéristique de l'armature cellulosique de la paroi primaire. Entre deux trachéides ou deux vaisseaux accolés latéralement, la sève brute pourra circuler de l'un à l'autre en passant « entre les mailles du filet ».

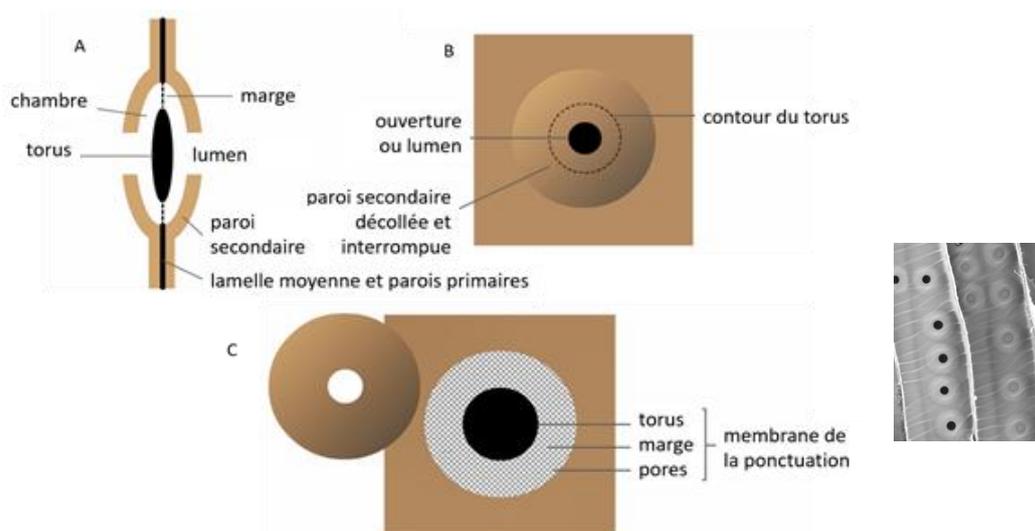


Fig.41: Représentation schématique d'une ponctuation aréolée : en A sur une coupe tangentielle, en B et C sur une coupe radiale. En C, la paroi secondaire est enlevée, pour montrer la paroi primaire sous jacente.

a. Trachéides

Les trachéides sont des caractéristiques généralement des végétaux vasculaires moins évolués tels que les Ptéridophytes, les Gymnospermes et les plantes primitives.

Les trachéides généralement sont plus allongées et plus étroites que les vaisseaux (aux extrémités effilées en biseau) dont les cloisons transversales, toujours très obliques et persistantes. Elles sont aussi dépourvues de protoplasme lorsqu'elles sont complètement différenciées. Leurs parois secondaires ont une texture hélicoïdale tristratifiée. Elles sont peu épaisses par rapport à celles de vaisseaux mais lignifiées, ce qui permet la circulation rapide de l'eau.

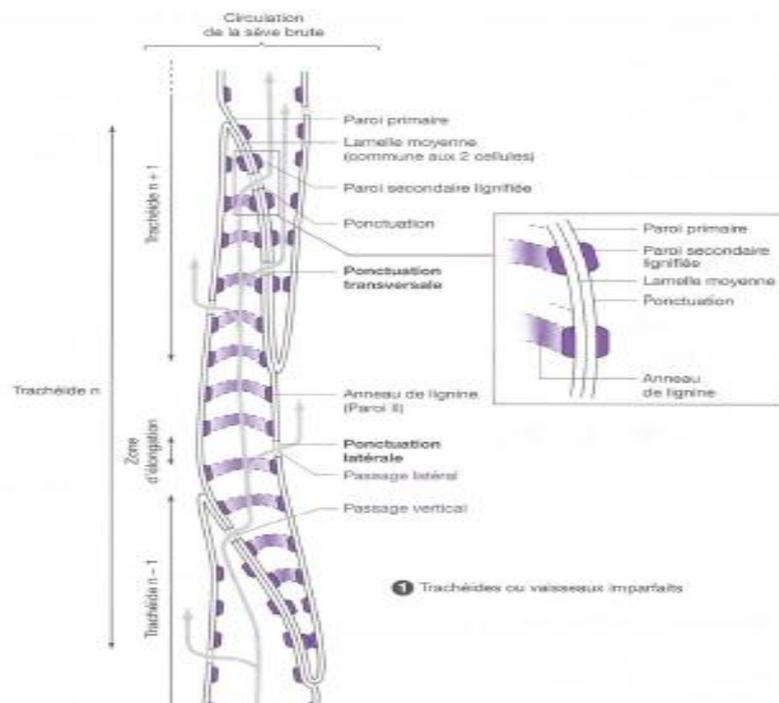


Fig.42: Trachéides (vaisseaux imparfaits).

Contrairement à un vaisseau, la trachéide est issue d'une seule cellule. Elle a des parois terminales persistantes, non perforées et communiquent entre elles au niveau de ponctuations (ponctuations aérolées) qui permettant également de faire circuler la sève d'une trachéide à une cellule de parenchyme (ponctuations de champs de croisement).

b. Fibres

Ce sont des cellules allongées étroites dont les extrémités sont effilées à différentes formes (de 0,3 à 6 mm, selon les espèces), à cloisons transversales très obliques qui ont principalement un rôle de soutien, peu ou pas de rôle conducteur.

Les fibres sont à parois lignifiées plus épaisses que celles des éléments conducteurs. Elles possèdent des ponctuations bordées, peu nombreuses et de petite taille.

Les fibres sont des éléments morts dépourvus de protoplasme, constituent une proportion très importante du bois des Angiospermes (50 à 80%). Chez le bois de Gymnospermes, y'a peu de fibres. Elles sont exploitées industriellement pour la fabrication de textile (Lin: *Linum usitatissimum*) et papier (Alfa: *Stipa tenacissima*).

d. Cellules de parenchyme

Elles sont à durée de vie variable et mal connue, au moins plusieurs années: chez les arbres 5-10 ans. Elles sont de deux types: cellules à réserves, cellules de contact.

e. Cellules à réserve

Elles sont formées de cellules vivantes à parois cellululosiques (le plus souvent dans le xylème primaire et plantes herbacées) ou lignifiées (chez les arbres et arbustes).

Les cellules de parenchyme sont largement vacuolisées et dans les tiges herbacées et les rameaux jeunes possèdent de chloroplastes. Chez les plantes pérennantes, le parenchyme a surtout pour rôle d'accumuler des réserves (amidon, lipides, protéines, sucres...etc.). Ses cellules communiquent entre elles par des ponctuations simples. Il est constitué de deux types:

*Le parenchyme ligneux "vertical" ou "longitudinal": Il est constitué de cellules vivantes allongées dans le même sens que les éléments conducteurs.

* Le parenchyme ligneux "horizontal" ou transversal: Il n'existe que dans le xylème secondaire (dérivant des initiales radiales du cambium). Il est constitué de cellules dont l'allongement est perpendiculaire à celui des éléments conducteurs. Il est organisé en "rayons ligneux" qui prolongent, à travers le cambium, les rayons libériens.

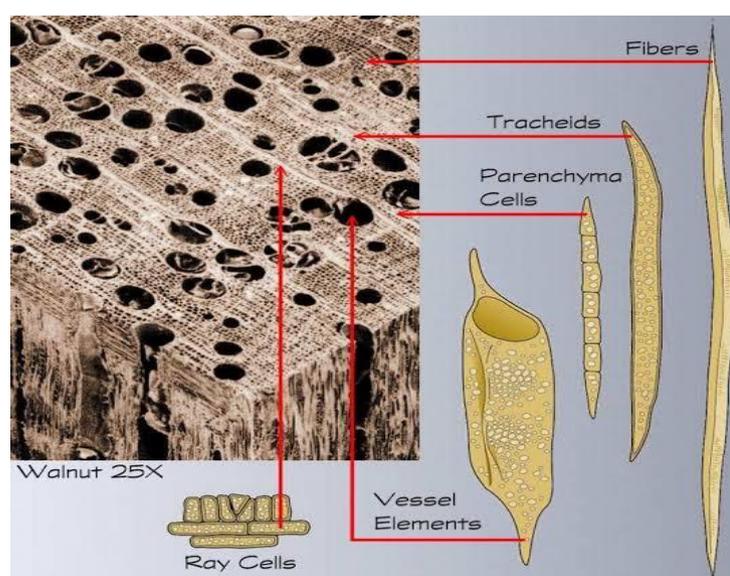


Fig.43: Eléments constituant le xylème.

f. Cellules de contact:

Elles n'accumulent pas de réserves. Elles sont vivantes et communiquent avec les éléments conducteurs par des ponctuations de type semi bordé (la paroi secondaire forme un rebord sur un coté); à ce niveau la paroi primaire, non lignifiée, est dépourvue de plasmodesmes.

Les cellules de contact appartiennent aussi bien au système vertical qu'au système horizontal. Elles possèdent un cytoplasme dense, de nombreuses mitochondries et vacuoles. Leur paroi peut rester cellulosique ou acquérir des épaissements secondaires et se lignifier.

*Rôle de la cellule de contact

* Les cellules de contact participent aux transferts latéraux de substances de la sève brute qui passent ensuite dans les éléments conducteurs.

*Elles contrôlent également le pH de la sève brute par l'intermédiaire d'une pompe à protons.

1.2.2. Types de xylème

a. Xylème primaire: Protoxylème + métaxylème

Les espèces qui présentent le xylème primaire durant toute leur vie sont généralement les Monocotylédones, les Ptéridophytes et les plantes primitives.

a. 1. Protoxylème (Pôle ligneux) :

Il assure un transfert peu développé. Sa structure est assez uniforme. C'est le xylème antérieur au métaxylème, composé de trachéides dont les parois peu lignifiées, sont annelées ou spiralées (petites cellules), et qui se différencient dans le sens radial centrifuge pendant la croissance de l'organe de la plante auquel il appartient.

Ces cellules sont accompagnées de parenchyme vertical qui se lignifie souvent tardivement. Le protoxylème, en générale, très vacuolisé. On le trouve lorsque la croissance de l'organe n'est pas encore achevée.

a.2. Métaxylème

Il assure un transfert bien développé. Il est moins vacuolisé (plus de mitose). Il est formé par des grosses cellules par rapport à celles du protoxylème. Il est différencié

quand la croissance de l'organe est terminée, composé de vaisseaux aux parois fortement lignifiées, réticulées ou ponctuées. Chez les Angiospermes, les premiers vaisseaux du métaxylème, sont rayés ou réticulés, les plus récents, en générale, ponctués.

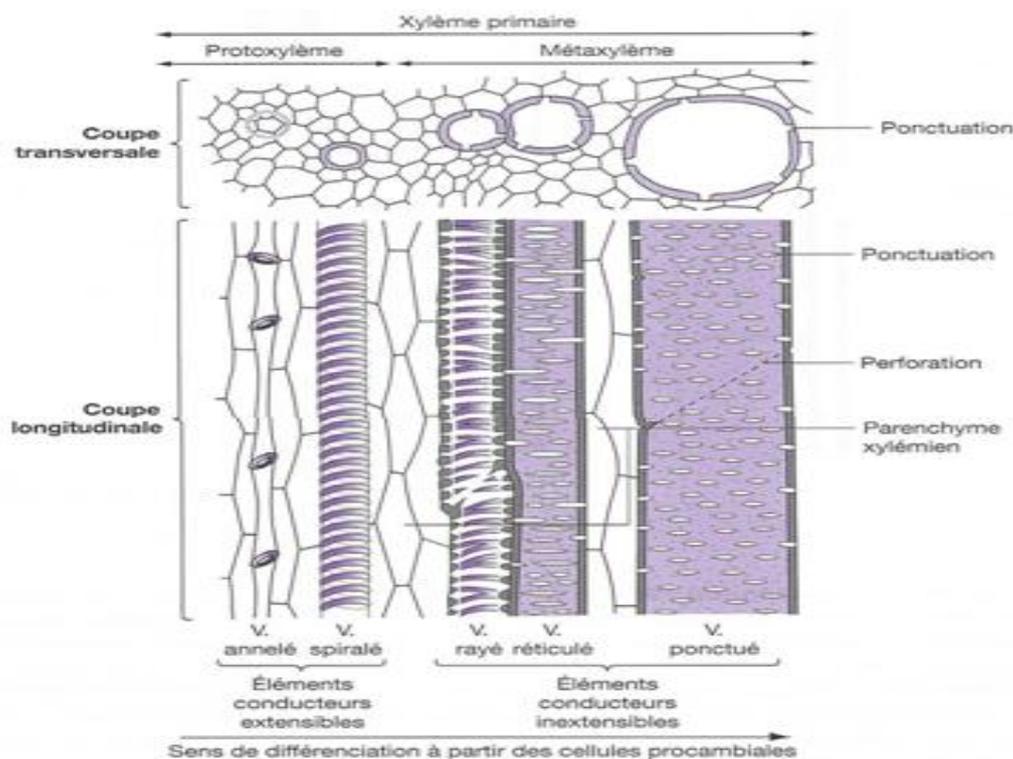


Fig. 44: Diversité des vaisseaux vrais et Trachéides.

Les cellules de contact sont toujours présentes et le parenchyme vertical est souvent abondant. Les fibres sont rares, parfois groupées à la limite de métaxylème.

Chez les Conifères (Gymnospermes), les trachéides sont aréolées (portent des ponctuations aréolées). Le parenchyme vertical et les cellules de contact sont présents mais peu abondants. Des canaux sécréteurs peuvent exister.

Comme les vaisseaux, il existe des trachéides annelées, spiralées, rayées et ponctuées.

Selon la forme et la structure de la ponctuation, on distingue deux types de trachéides (t); T. scalariformes et T. aréolées

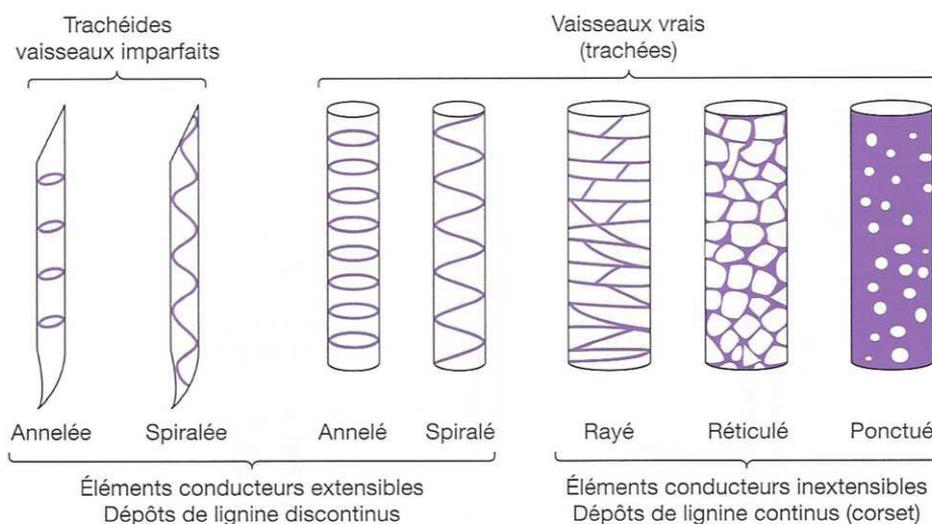


Fig.45 : Diversités des types d'éléments conducteurs

b. Xylème secondaire (ou bois)

Le xylème secondaire est de deux types :

*Les bois homoxylés (homos, semblable; xylos, bois) des Gymnospermes qui est reconnu grâce à la constitution presque uniforme de leur système vertical.

*Le bois des Angiospermes est dit hétéroxylé (hétéros, différent) car son système vertical comporte différents types cellulaires.

1.2.3. Différenciation du xylème:

La différenciation des cellules conductrices et de support du xylème, comporte de nombreux événements biochimiques, morphologiques et génétiques. Ainsi, **quatre étapes** majeures peuvent être distinguées: **la division, l'expansion cellulaire**, suivie de **la formation de la paroi cellulaire secondaire épaisse** et de **la mort programmée de la cellule**.

Les différentes phases de la différenciation d'élément de vaisseau à partir d'une cellule procambiale ou cambiale (initiale fusiforme) sont caractérisés par:

a. Accroissement en volume:

Une augmentation importante de dimensions cellulaires, à la fois en longueur et en diamètre dans le xylème primaire, en diamètre seulement dans le xylème secondaire. Elle est accompagnée d'un accroissement du volume vacuolaire, en noyau et des nucléoles.

Le moteur de cet accroissement est l'augmentation du volume vacuolaire, provoquée par l'entrée d'eau dans la cellule. La paroi primaire s'étire d'autant plus facilement que son squelette cellulosique est peu développé. Parallèlement le noyau s'accroît en volume et son contenu en ADN augmente par endoréplication.

La synthèse d'ARN s'accroît également et les nucléoles deviennent volumineux. Ceci traduit une intense activité métabolique. C'est durant cette phase que sont produits les ARN ribosomiaux et messagers ainsi qu'une partie des enzymes nécessaires aux étapes suivantes de la différenciation. En effet le noyau, une fois l'accroissement en volume de la cellule est terminé, va très vite dégénérer. L'arrêt de la croissance diamétrale du futur vaisseau est marqué par la reprise de la biosynthèse de la cellulose de la paroi primaire et le début d'une phase d'intense d'activité golgienne (début de croissance diamétrale du 2^e vaisseau).

La pression interne de la cellule, ou turgescence, permet l'expansion longitudinale et radiale. De ce fait, l'élongation cellulaire nécessite le relâchement du réseau pariétal entre la cellulose et l'hémicellulose.

Le processus de relâchement pariétal fait intervenir des enzymes comme les expansines, qui se lient à la paroi via la cellulose pour rompre et déplacer les liaisons non-covalentes entre les constituants de la paroi et des enzymes de lyse pariétale de type « xyloglucane endotransglycosylases (XET) » et « endoglucanases (EG) » qui clivent aussi les xyloglucanes.

Une fois la taille définitive de la cellule atteinte la paroi primaire subit une rigidification et l'expansion s'arrête.

Ce phénomène impliquerait potentiellement des modifications de la composition pariétale, une augmentation des liaisons covalentes ou encore une diminution des processus de relâchement pariétal.

b. Formation de la paroi secondaire et lignification:

Après l'élongation de la cellule, la paroi secondaire se met en place de façon dynamique et séquentielle de l'extérieur vers l'intérieur avec le dépôt de trois sous-couches (S1, S2 et S3).

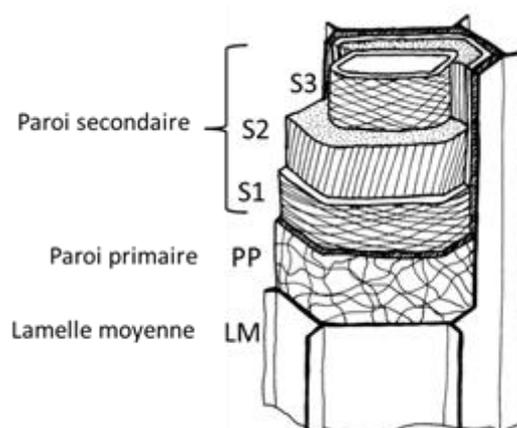


Fig.46: Structure multicouche de la paroi d'une cellule de bois.

La lignine (polymère carboné) est un complexe hétéropolymère phénolique, essentiel pour la structure de la paroi secondaire et formé de trois monomères de monolignols reliés entre eux par des processus d'oxydation.

La construction de la paroi secondaire débute par un dépôt de matériel polysidique, lié à l'activité golgienne. Elle est marquée par:

- L'arrêt de la production de pectines synthétases et donc la disparition de la voie de biosynthèse des pectines;
- Une augmentation des xylane-synthétases, d'où la formation d'hémicellulose riche en xylose;
- Une forte activité des cellulose-synthétases; les molécules de cellulose hautement polymérisés, sont disposées en faisceaux très serrés, à structure pseudo cristalline;

-Une forte activité d'hémicellulose.

-L'imprégnation de lignines s'accomplit toujours avec un certain retard par rapport au dépôt des polysides.

La construction de la paroi secondaire nécessite la synthèse ou l'activation de nombreuses enzymes qui interviennent dans sa biosynthèse. À ce moment la dégénérescence nucléaire est déjà bien avancée.

Le réticulum endoplasmique est alors très développé, ce qui n'est pas pour surprendre puisque une grande partie des enzymes impliquées dans la synthèse de la lignine sont localisées dans le réticulum endoplasmique.

UDP-G (uridine diphosphoglucose) est un précurseur de la synthèse des composants de la paroi. À l'aide des enzymes, le glucose de l'UDP-G est mis sur une chaîne de cellulose (polymère de glucose constitué de chaînes linéaires de beta-1,4-D-glucanes synthétisées et arrangées en microfibrilles par des complexes appelés rosettes composés de six unités, contenant chacune six cellulose synthases) ou converti en sucres d'hémicellulose (polysaccharides homo-ou hétéropolymériques, constitués d'une chaîne centrale de résidus beta-D-1,4-pyranosyl avec de courtes chaînes latérales de résidus glycosyl (xylose, galactose et fucose)), dans le plasmalemme.

La biosynthèse des hémicelluloses est réalisée au niveau de l'appareil de Golgi par des enzymes de type «glycane synthase» et «glycosyltransférase». Avant d'être intégrées à la paroi, les hémicelluloses sont transportées vers la paroi via des vésicules de sécrétion.

c. Autolyse du cytoplasme et hydrolyse partielle des parois cellulosiques

La dégénérescence nucléaire débute dès la fin de l'accroissement en volume du futur élément de vaisseau.

Le noyau devient lobé, la chromatine disparaît. Le nucléole se dissocie. Finalement, l'enveloppe nucléaire se déchire et le contenu du noyau se mêle à celui du cytoplasme.

La fin de la lignification est le signal de l'autolyse du cytoplasme. À ce moment, de nombreux Dictyosomes sont observés, dont les vésicules ne contiennent plus de précurseurs des polyosides pariétaux, mais des hydrolases. Les systèmes membranaires régressent, les mitochondries et l'appareil de Golgi restant les derniers organites reconnaissables dans un vaisseau en fin de différenciation.

L'hydrolyse des parois terminales (pour la formation de perforations) est réalisée par des enzymes (hémicellulase, cellulase et pectinase) qui attaquent les pectines acides, cellulose et les hémicelluloses, constituants majeurs de ces parois.

La fin de la formation de la paroi secondaire s'enclenche avec le dépôt de lignines dans le maillage de microfibrilles de cellulose suivi de la mort cellulaire programmée (MCP).

La mort cellulaire concerne spécifiquement les trachéides ou vaisseau et suit un déroulement identique pour toutes, ce qui indique que ce processus est régulé par un programme développemental. De plus, il s'agit d'un processus actif qui conduit la cellule à élever le niveau d'expression des gènes qui conduisent à sa propre destruction.

La MCP commence avec la rupture du tonoplaste par autolyse entraînant la libération du contenu vacuolaire dans le cytoplasme. Des enzymes hydrolytiques dont des cystéines protéases, sérines protéases et nucléases sont ensuite libérées pour digérer les autres organites cellulaires à paroi simple (appareil de Golgi et réticulum endoplasmique) puis double (chloroplastes, mitochondries et noyau).

➤ **Différenciation des autres types cellulaires (fibres, parenchyme et trachéides)**

*La différenciation des trachéides est similaire à celle des vaisseaux. Elle s'en distingue toutefois par:

- Une élongation plus importante et un accroissement diamétral plus faible;
- L'absence d'hydrolyse complète des parois terminales; les parois primaires des

ponctuations subissent toutefois une hydrolyse partielle.

*Les cellules du parenchyme vasculaire n'augmentent pas sensiblement de volume (la cellule mère se recloisonne souvent).

Les cellules de parenchyme demeurent vivantes, parfois durant de nombreuses années.

*Les fibres s'allongent par croissance intrusive. Le noyau persiste ou dégénère tardivement chez certaines fibres.

Les modalités de mise en place des parois secondaires et de la lignification sont semblables à celles des vaisseaux. La différenciation pariétale n'est pas automatiquement suivie d'une autolyse de cytoplasme.

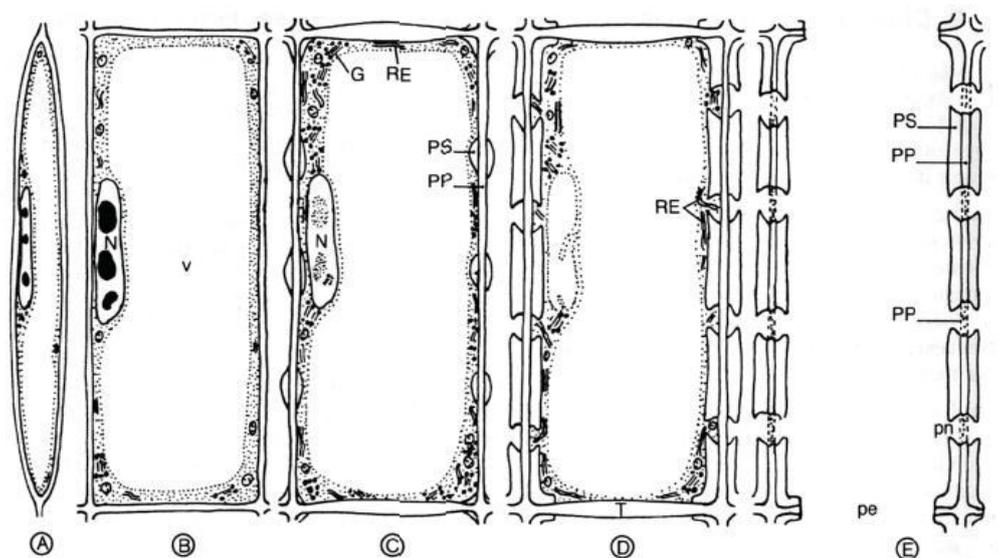


Fig. 47: Différenciation d'un vaisseau à partir d'une initiale fusiforme.

- A) Cellule cambiale
- B) Accroissement du volume cellulaire et nucléaire. v : vacuole.
- C) Début de la formation des épaissements secondaires (PS) ; grande (G) ; le noyau (N) ; commence à dégénérer. PP, paroi primaire ; RE réticulum endoplasmique.
- D) La paroi terminale (T) apparaît gonflée ; parois secondaires en cours de lignification ; réticulum (RE) encore abondant ; fin de la dégénérescence nucléaire.
- E) Vaisseau complètement différencié. Le cytoplasme et la paroi terminale ont été hydrolysés (pe, perforation).
- F) La paroi primaire (PP) est partiellement hydrolysée dans les ponctuations (Pn).

1.3. Le phloème:

1.3.1. Composition du phloème

Comme le xylème, le phloème est un tissu complexe, qui conduit la sève dite élaborée ou nutritive (riche en sucres, des organes photosynthétiques) vers les autres organes pour assurer leur croissance ou permettre la mise en réserve.

Le phloème est composé de:

*Tubes criblés constitués de cellules allongées, vivantes mais ayant perdu leur noyau, dont les cloisons transversales sont perforées et au travers desquelles circule la sève.

Entre ces cellules se trouvent des cellules plus petites; cellules compagnes, vivantes et nucléées, qui participent principalement au contrôle des échanges entre tubes criblés et organes végétaux.

*Cellules lignifiées, les sclérides et des cellules parenchymateuses pouvant accumuler des composés organiques (sucres, etc.)

*Fibres (soutien).

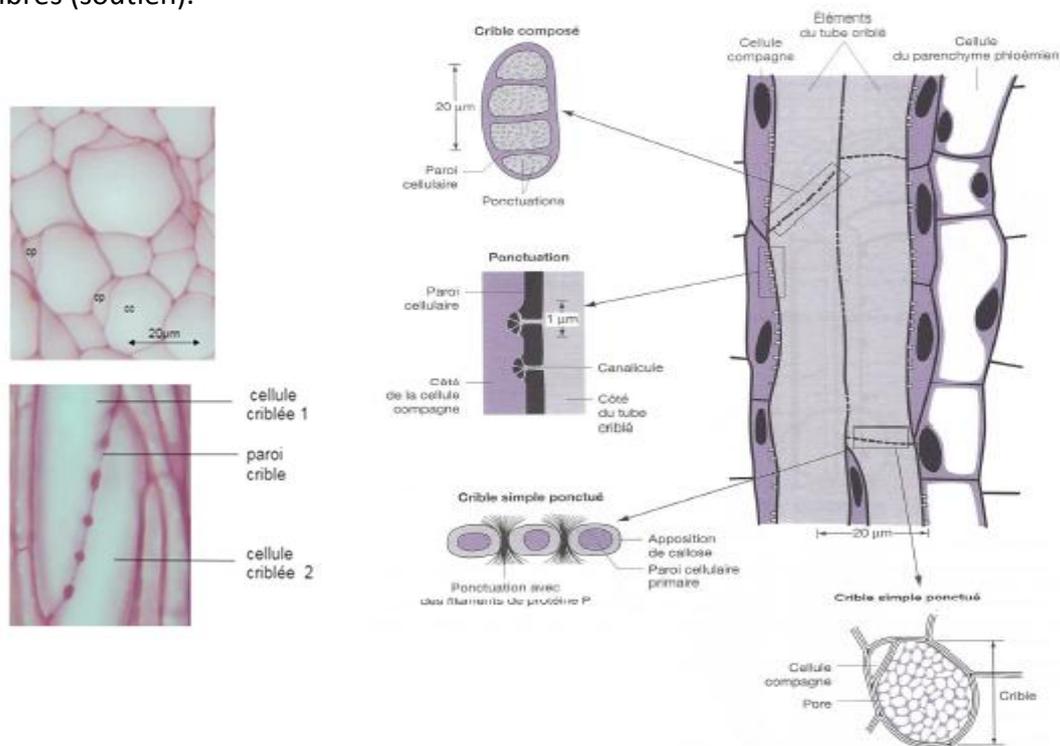


Fig. 48: Organisation du phloème.

a. Les cellules conductrices de la sève élaborée (éléments criblés):

Les cellules criblées demeurent vivantes bien qu'ayant perdu la majeure partie de leurs constituants. Elles conservent leur membrane plasmique, un petit nombre de saccules de RE lisse, quelques mitochondries et quelques plastes dépourvus de thylakoïdes, renfermant soit des grains d'amidon, soit des inclusions protéiques. D'autres ensembles protéiques sont souvent présents dans la lumière des éléments conducteurs. Ils forment des «globules réfringents» chez divers Ptéridophytes. Chez la plupart des Angiospermes, ils constituent soit un réseau filamenteux, soit des faisceaux pseudocristallins, appelés protéines phloémiennes ou *protéines P*. Deux hypothèses sont proposées concernant leur rôle:

- Elles interviennent dans la régulation du flux de sève élaborée;
- Elles interviennent dans le transport des macromolécules par rétention ou facilitation de leur translocation dans les tubes criblés; c'est-à-dire elles interviennent dans le transport à longue distance et la signalisation via le phloème.

Les *protéines P* présentent une activité de lectine qui est un globule membranaire qui se lie spécifiquement aux glucides; ce sont des protéines de reconnaissance de la séquence spécifique des résidus glucidiques.

Le plasmalemme (la membrane), les mitochondries et le RE demeurent, au moins en partie, fonctionnels puisque des activités enzymatiques ont pu y être mises en évidence.

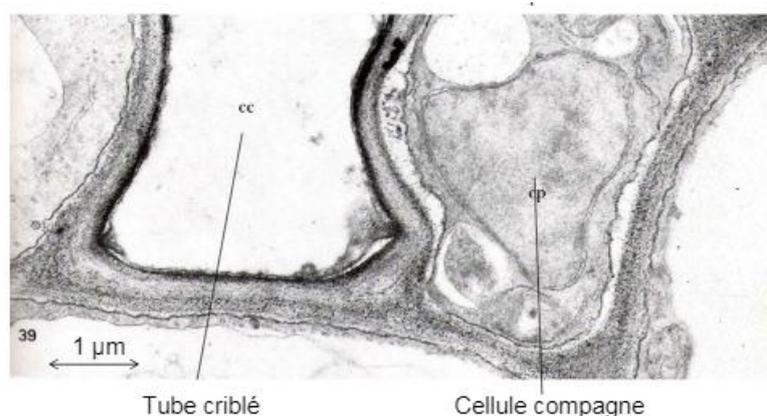


Fig.49: Ultrastructure de cellules de phloème.

La perforation des cloisons transversales ou pores sont regroupés en plages, vues de face, ressemblent à des cribles, d'où le nom d'éléments criblés donné à ces cellules. Celles-ci sont disposées en files interrompues. Leurs parois terminales, transformées en cribles, permettent à toutes les cellules d'une même file de communiquer entre elles. Ce sont les vaisseaux du phloème (tubes criblés) qui sont responsables de la distribution de la sève élaborée, riche en sucres et en acides aminés. Ils sont constitués de cellules allongées sans noyau, présentant de nombreux trous (cribles) ce qui a pour effet:

- De ralentir considérablement la descente de la sève;
- De favoriser le passage de la sève d'un tube à l'autre et de permettre une distribution homogène dans l'ensemble de la plante. Ce transport se fait par un déplacement descendant ou latéral.

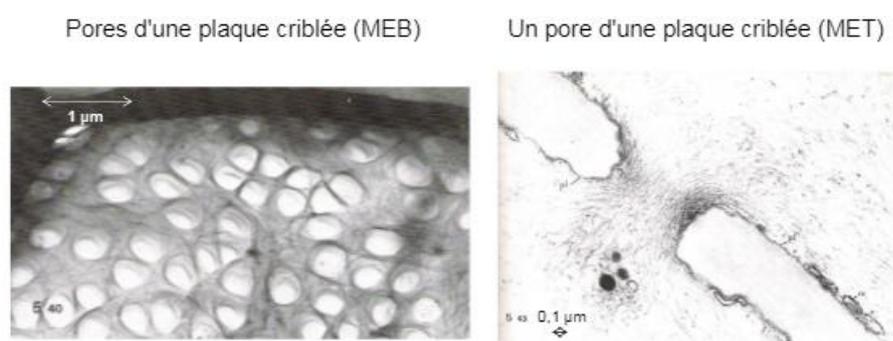


Fig.50 : les perforations ou pores regroupés en plages.

On distingue deux types de cellules conductrices:

- Les tubes criblés dont les cribles terminaux (simples ou composés) ont des pores plus larges que ceux présents sur les parois latérales.
- Les cellules criblées dont les cribles latéraux et terminaux sont semblables.

En outre, Les cellules conductrices communiquent entre elles par des plasmodesmes plus ou moins élargis formant de petites perforations ou pores de 0,3 à 2,5 µM de diamètre, parfois bordés d'une mince couche de callose.

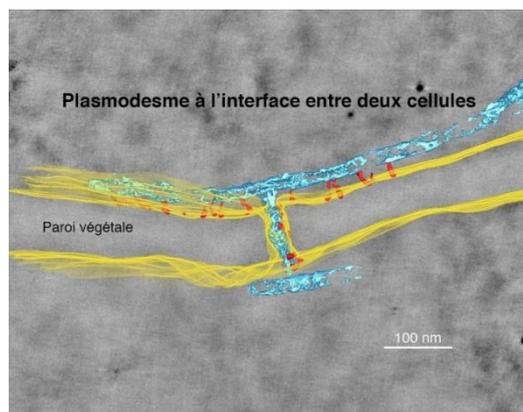


Fig. 51 : structure 3D d'un plasmodesme.

b. Cellules de contact:

Les cellules de contact sont des cellules spécialisées directement reliées aux éléments criblés, caractérisées par un cytoplasme très dense, de nombreuses mitochondries, de petites vacuoles.

Chez les Angiospermes, elles dérivent de la même cellule mère que l'élément criblé et sont appelées cellules compagnes (car elles accompagnent l'élément criblé). Elles communiquent avec les tubes criblés par des plasmodesmes digités (plasmodesmes branchus; plasmodesmes spéciaux. Il a été suggéré qu'ils jouent un rôle important dans la circulation de la sève élaborée).

Chez les Gymnospermes, les cellules de contact dérivent du parenchyme. Dans le phloème secondaire, par exemple, on ne les trouve qu'au niveau des rayons libériens.

Chez les Ptéridophytes, il n'existe pas de cellules de contact spécialisées, distinctes du parenchyme.

***Rôle des cellules compagnes**

Elles jouent deux rôles importants dans la constitution de la sève brute:

-Elles permettent de collecter activement les assimilats provenant des cellules du mésophylle par des transports actifs secondaires et les concentrent dans leur cytoplasme;

-Elles transfèrent ces assimilât par des plasmodesmes aux cellules qui composent les tubes criblés.

Les composés de la sève élaborée empruntant la voie symplasmique, sont transférés tout d'abord dans les cellules compagnes puis dans les tubes criblés. Ce phénomène constitue le chargement du phloème. Ce processus a lieu le jour, mais également la nuit à partir de la dégradation de l'amidon stocké (sucre de réserve).

c. Le parenchyme

À l'exception de ses parois non lignifiées, il présente des caractères assez semblables à celui du xylème. Dans la tige, les plastes ont souvent des thylakoïdes développées et sont donc capables de photosynthèse. Chez les plantes pérennantes, ce parenchyme accumule des réserves.

d. Fibres

Elles sont lignifiées ou non. Les fibres lignifiées sont souvent développées chez les arbres. Certaines plantes herbacées possèdent en abondance des fibres non lignifiées ou peu lignifiées, qui sont exploitées pour l'industrie textile ou papetière. Citons le Lin (*Linum usitatissimum*), le Chanvre (*Cannabis sativa* L.), la Ramie (*Boehmeria nivea*), le Jute (*Corchorus capsularis*) L, etc.

e. Les cellules sécrétrices

Elles peuvent être groupées en canaux sécréteurs dont le secrétât renferme, entre autres composés, des terpènes volatils. C'est le cas par exemple des Ombellifères dont diverses espèces sont recherchées comme condiments (persil (*Petroselinum crispum*), cerfeuil (*Anthriscus cerefolium* (L.)), coriandre (*Coriandrum sativum*), céleri (*Apium graveolens* L.), fenouil (*Foeniculum officinale*), angélique (*Angelica archangelica*), etc.).

D'autres familles sont caractérisées par la présence de laticifères dont le produit de sécrétion ou latex (d'aspect souvent laiteux, d'où son nom) s'accumule à l'intérieur de la cellule, soit dans le cytoplasme, soit dans la vacuole. Citons l'exemple de l'Hévéa dont le latex, riche en polyterpènes, donnant le caoutchouc.

1.3.2. Différenciation d'un élément criblé et d'une cellule compagne:

Les éléments du tube criblé et les cellules compagnes **dérivent d'une même cellule mère et se développent en même temps**, elles possèdent de nombreuses connexions cytoplasmiques. Les cellules compagnes fournissent au tube criblé diverses substances produites par des fonctions métaboliques qui ont été réduites ou complètement perdues lors de leur différenciation.

La cellule mère, se divise pour donner le futur élément criblé contenant une grosse vacuole et la future cellule compagne. Des corpuscules d'une protéine appelée protéine P, se forment dans le cytoplasme et la vacuole commence à se fragmenter.

Le noyau commence à dégénérer et le tonoplaste se rompt complètement. Les plasmodesmes des parois transversales **s'entourent de callose de chaque côté de la paroi terminale**, indiquant les futurs **sites des pores de la plage criblée**. Les **corpuscules de la protéine P** se désagrègent en tapissant la paroi. La cellule compagne (CC) a acquis ses caractéristiques (cytoplasme dense, petites vacuoles, nombreuses mitochondries, etc...). Le noyau et le cytoplasme de l'élément criblé (EC) continuent leur dégénérescence. Les cribles se percent pour former les pores dans les parois terminales. A maturité, le protoplaste de l'élément criblé a perdu le noyau et la vacuole. Les plaquettes de callose disparaissent lors de l'élargissement des pores. L'élément criblé mature contient également du réticulum endoplasmique lisse, des mitochondries et des plastides.

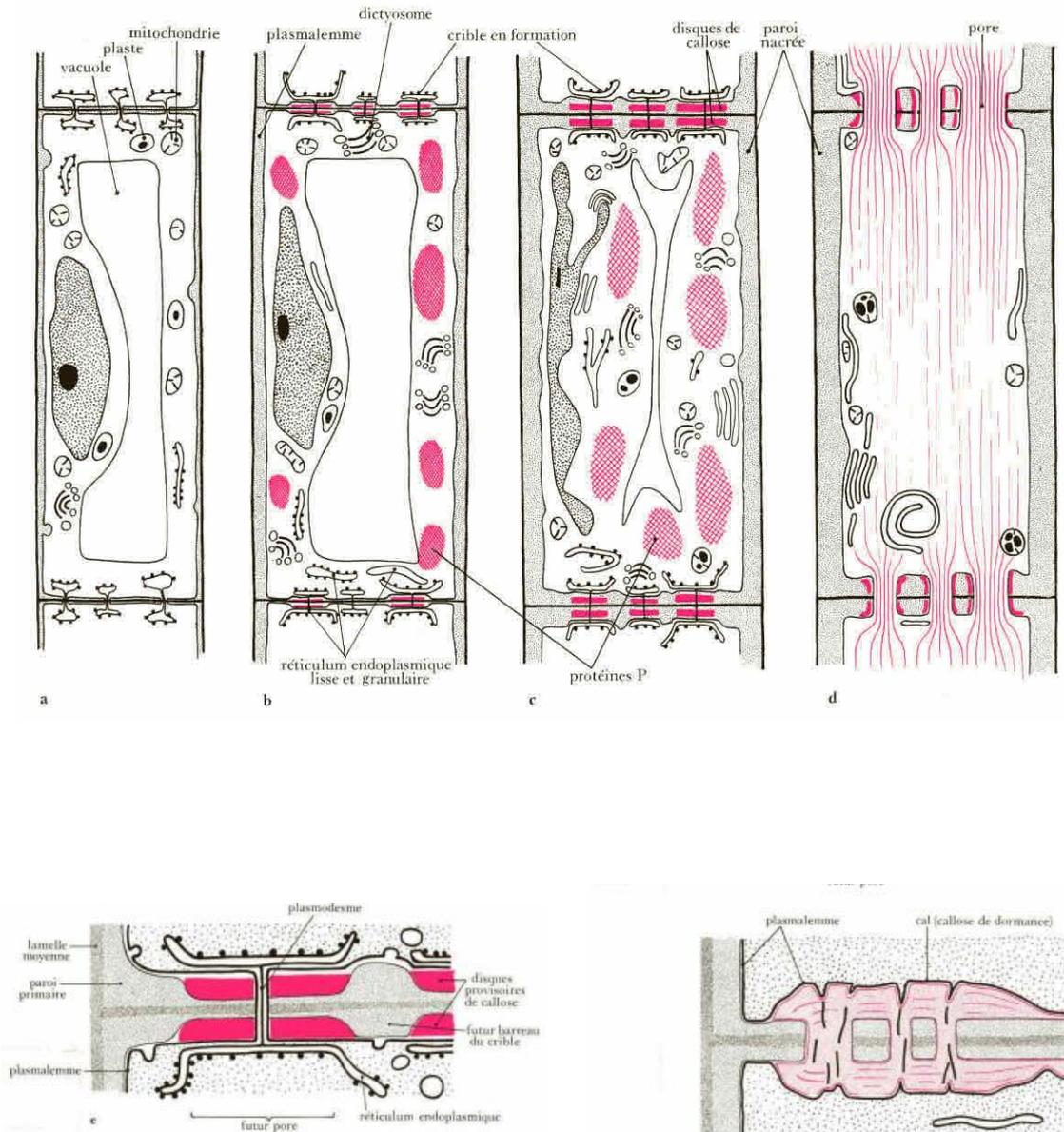


Fig.52: Résumé schématique de la différenciation d'une cellule criblée.

a-d) Étapes successives.

e) Détail correspondant à la formation d'un crible dans une cellule jeune.

f) Obturation du crible et arrêt de la conduction de sève en hiver, par un bouchon de callose en fin de végétation

2. La mise en place d'un patron de développement (xylème/phloème):

Le maintien du caractère **pluripotent** des cellules cambiales est indispensable pour une l'activité méristématique continue du cambium.

En général, la polarité adaxiale-abaxiale (**bilatérale**) est visible d'un point de vue morphologique et anatomique et elle reflète la fonction des deux faces. **La face adaxiale (supérieure ou ventrale)** est spécialisée dans la capture de la lumière pour réaliser la photosynthèse en collaboration avec la face **abaxiale (inférieure ou dorsale)**. Cette dernière est spécialisée dans les échanges gazeux.

La différenciation vasculaire résulte en un modèle d'organisation tissulaire dans lequel le xylème, le cambium et le phloème occupent des positions radiales spécifiques dans les organes et les tiges en développement. **Le phloème se forme généralement à la face de la population de cellules cambiales orientée vers la surface abaxiale de la feuille et à la surface orientée vers l'extérieur de la tige,** tandis que **le xylème se forme dans la position de surface adaxiale orientée vers l'intérieur dans les feuilles et les tiges,** respectivement.

2.1. Contrôle génétique de la mise en place du patron xylème/phloème:

Les facteurs qui déterminent la polarité radiale du cambium vasculaire ne sont pas entièrement compris, mais les gradients différentiels de plusieurs hormones végétales (**cytokinine, gibbérelline et auxine**) à travers le cambium sont supposés jouer un **rôle à la fois dans la prolifération des cellules du cambium et dans détermination du destin cellulaire de la cellule phloème / xylème.**

Les familles de gènes **KAN** et **HD-ZIP** jouent plusieurs **rôles dans la formation et à la structuration des tissus vasculaires.** Des régulateurs importants de la polarité abaxiale / adaxiale globale de tous les organes latéraux des pousses, ainsi que de la structuration radiale des tissus vasculaires.

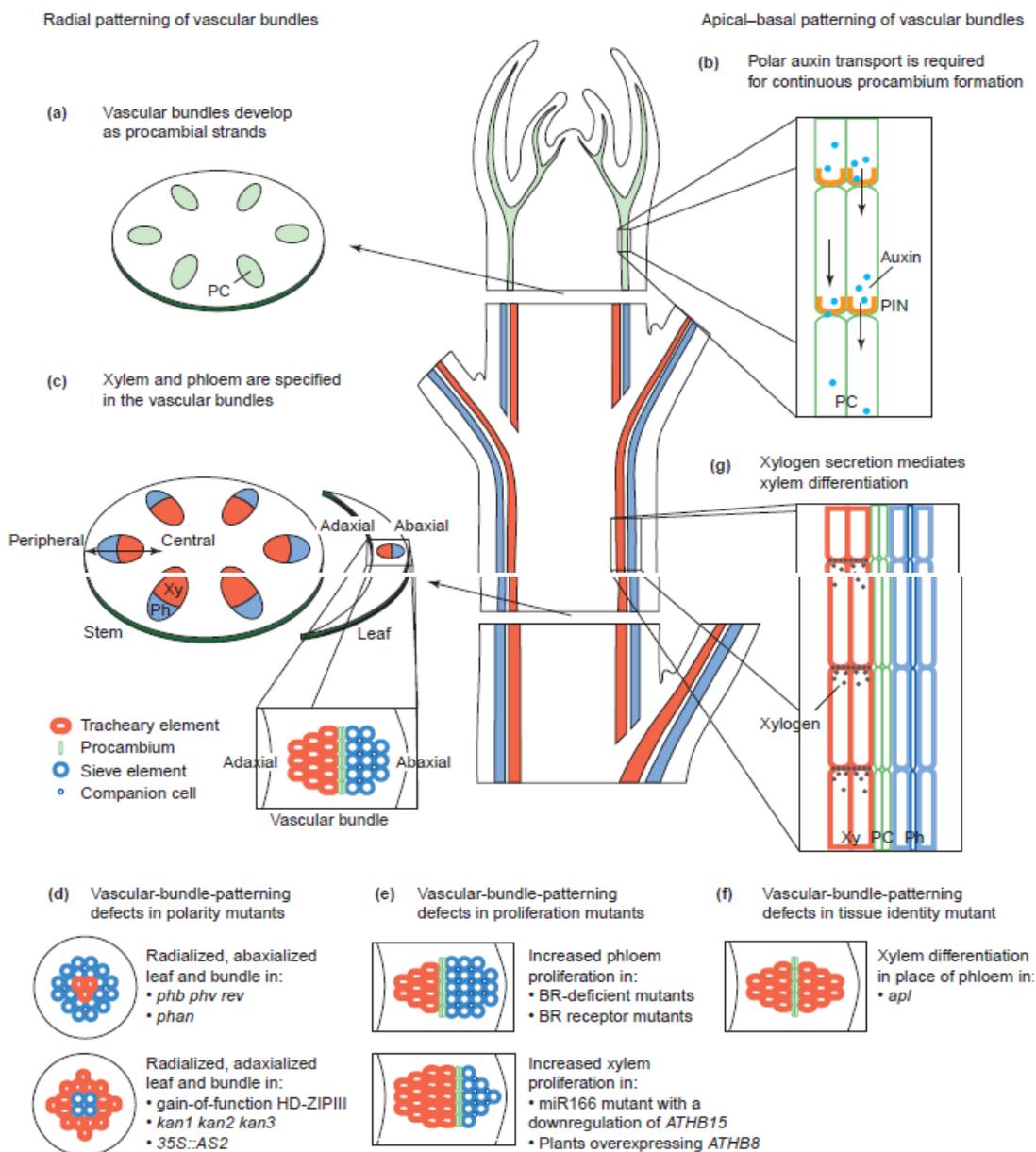


Fig. 53: Mise en place d'un patron de développement : xylème/phloème.

Différents FT sont impliqués dans la différenciation du système vasculaire. Nous citons les FT appartenant à la famille des ARFs (Auxin Response Family), dont certains ont une expression inductible par l'auxine.

Les gènes **KANADI (KAN)** exprimés par le phloème restreignent la PAT au cambium et aux régions en développement du xylème, tandis que les gènes **HD-ZIP influencent positivement la PAT** et favorisent le développement du xylème.

Le FT de type HD-ZIP de classe III, ATHB8, est requis pour le développement du procambium et la différenciation des tissus vasculaires chez Arabidopsis. Son expression est induite par le FT de type ARF (Auxin Response Factor), MONOPTEROS (MP), suite à la perception de l'auxine.

Le FT de type GARP, **KANADI 1 (AtKAN1)**, exprimé dans le phloème, a un rôle antagoniste aux FT de type HD-ZIP de classe III dans la régulation de la différenciation des cellules du xylème, en réponse à l'auxine.

- **Mutants: abaxialisation ou adaxialisation des organes latéraux**
- **Mutant rev, phb, phv : phloème entoure le xylème**
- **Mutants kan: xylème entoure le phloème**
- **Expression ectopique : phénotype inverse des mutants des gènes antagonistes**
p.e. 35S-KAN = rev, phb, phv
→ **équilibre (antagonisme)**

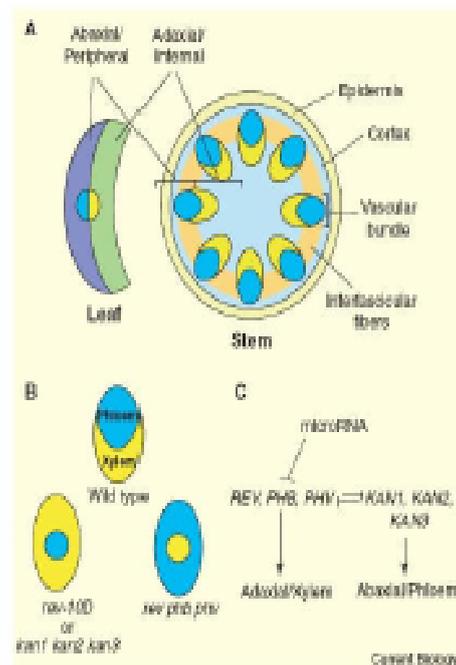


Fig. 54: La régulation génétique du patron xylème/phloème (l'antagonisme entre les gènes HD-ZIPIII et les gènes KANADI).

L'antagonisme entre les gènes HD-ZIPIII et les gènes KANADI contrôle la mise en place du patron xylème/phloème. Mutants: abaxialisation ou adaxialisation des organes latéraux ; **Mutant rev, phb, phv : phloème entoure le xylème** Remarques: - Signal pour développement du xylème (xylogène) - Gènes PHB, PHV et REV: **famille HD-ZIPIII** **Mutants kan: xylème entoure le phloème** Expression ectopique : phénotype inverse des mutants des gènes antagonistes 35S-KAN = rev, phb, phv équilibre (antagonisme).

Les régulateurs endogènes de la formation du xylème peuvent être des hormones végétales (ou phytohormones, auxines, cytokinines, éthylène, gibbérellines et acide abscissique), des brassinostéroïdes, des oligosaccharides ou encore des peptides

L'auxine est le mieux caractérisé dans la différenciation vasculaire. Le rôle de celle-ci, acide 3-indole-acétique (AIA ou IAA), dans la différenciation des tissus vasculaire a été bien illustré, La mise en place du système vasculaire dépend de transport polarisé de l'auxine. L'observation de l'élévation des niveaux d'expression des gènes liés à la synthèse de l'auxine a également été corrélée avec des niveaux d'auxine dans les cellules cambiales en division et les cellules mères du xylème.

Les études fonctionnelles suggèrent que la voie de signalisation des cytokinines régule à la fois le maintien et la prolifération du cambium. Une certaine proportion dans la combinaison auxine et cytokinine est suffisante pour induire la différenciation des éléments trachéaires mais insuffisante quand l'une de ces deux hormones est absente.

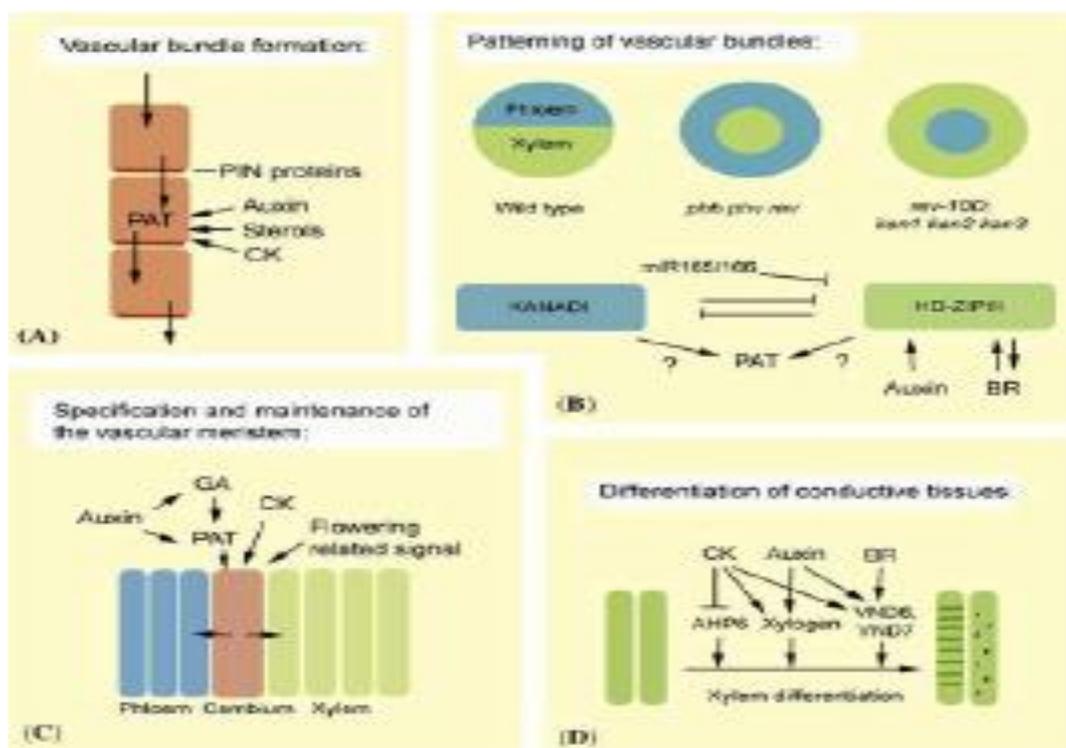


Fig.55: Relations hormones- gènes dans le développement du système vasculaire.

OUVRAGES UTILISES

Aloni, R. (1987). Differentiation of vascular tissues. Annual review of plant physiology, 38(1), 179-204.

Bishopp, A., Help, H., El-Showk, S., Weijers, D., Scheres, B., Friml, J., ... & Helariutta, Y. (2011). A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots. Current Biology, 21(11), 917-926.

Camefort H. (1996). Morphologie des végétaux vasculaires. Cytologie, anatomie, adaptation. 2e Ed. DOIN, Paris, 432 p.

Carlsbecker, A., & Helariutta, Y. (2005). Phloem and xylem specification: pieces of the puzzle emerge. Current opinion in plant biology, 8(5), 512-517.

DEMALSY P. et FELLER M. J. (1990). Les plantes à graines : Structure, Biologie, Développement. Ed. Armand - Colin. 305 p.HELLER R., ESNAULT R., LANE C. (2000).

Di Laurenzio, L., Wysocka-Diller, J., Malamy, J. E., Pysh, L., Helariutta, Y., Freshour, G., ... & Benfey, P. N. (1996). The SCARECROW gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the Arabidopsis root. Cell, 86(3), 423-433.

Dinneny, J. R., & Yanofsky, M. F. (2004). Vascular patterning: xylem or phloem?. Current biology, 14(3), R112-R114.

Fiasson, Jean. "R. Heller.—Abrégé de physiologie végétale. Tome II. Développement." Publications de la Société Linnéenne de Lyon 48.4 (1979): 196-197.
Fiasson, Jean. "R. Heller.—Physiologie végétale. Tome II. Développement." Publications de la Société Linnéenne de Lyon 51.8 (1982): 245-245.

Heller, René. Physiologie végétale. No. 581.1 HEL. 1984.

Hopkins (2003). In: Dusotoit-Coucaud A. 2009.

Jouannet, V., Brackmann, K., & Greb, T. (2015). (Pro) cambium formation and proliferation: two sides of the same coin?. Current opinion in plant biology, 23, 54-60.

Lehesranta, S. J., Lichtenberger, R., & Helariutta, Y. (2010). Cell-to-cell communication in vascular morphogenesis. Current opinion in plant biology, 13(1), 59-65.

McManus, M. T., & Veit, B. E. (Eds.). (2002). Meristematic tissues in plant growth and development. CRC Press.

MOROT-GAUDRY J. F., PRAT R., BOHN-COURSEAU I., JULLIEN M. (2012). Biologie végétale : Croissance et développement, Ed. Dunod. 256 p.

Morot-Gaudry J.F., Moreau F., Prat R., Maurel C. & Sentenac H. (2017). Biologie végétale: Nutrition et métabolisme. 3e Ed. Dunod, paris, 240P.

Physiologie végétale, Ed. Dunod. 357 p.

Reinhardt, D. (2003). Vascular patterning: more than just auxin?. *Current Biology*, 13(12), R485-R487.

Robert D. & Catesson A. M. (1990). Organisation Végétative Biologie Végétale. Tome 2. Ed. Doin, Paris, 356p.

ROLAND J. C, ROLAND F. (2001). Biologie Végétale - Volume 2, Organisation Des Plantes à Fleurs, 8ème Édition, Ed. Dunod, 156 p.

Schoof, Heiko, et al. "The stem cell population of Arabidopsis shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes." *Cell* 100.6 (2000): 635-644.

Schuetz, M., Smith, R., & Ellis, B. (2013). Xylem tissue specification, patterning, and differentiation mechanisms. *Journal of experimental botany*, 64(1), 11-31.

Sharma, V. K., Carles, C., & Fletcher, J. C. (2003). Maintenance of stem cell populations in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(suppl 1), 11823-11829.

Williams, L., & Fletcher, J. C. (2005). Stem cell regulation in the Arabidopsis shoot apical meristem. *Current opinion in plant biology*, 8(6), 582-586.