

PARTIE 2E : DIVERSITÉ MORPHO-FONCTIONNELLE DES ANGIOSPERMES

Chapitre II-E2 : Développement des Angiospermes

II-E2-B Le développement de l'appareil reproducteur des Angiospermes

Introduction :

I. Mise en place des fleurs et des pièces florales

Le développement reproductif met en place la fleur par transition du méristème apical caulinaire en méristème reproducteur, inflorescentiel ou floral.

- Décrire l'évolution du méristème apical caulinaire végétatif en un méristème floral produisant des organes floraux.

Comparaison plant « adulte » / plantule → trois types de modifications : un allongement (croissance en longueur), un épaississement (croissance en diamètre) et la formation de nouveaux organes, feuilles, rameaux et racines latérales (ramifications).

1°) La transformation du méristème apical caulinaire en méristème floral ou inflorescentiel

a) Mise en place d'une inflorescence ; ex. d'*Arabidopsis thaliana*

Rappel stade végétatif : plante en rosette comportant de 6 (jours longs) à 12 (jours courts) phytomères aux entre-nœuds très courts

Une fois l'aptitude à fleurir acquise (maturité), le MAC se transforme en méristème inflorescentiel terminal qui produit une tige principale (hampe florale) dont les entre-nœuds s'allongent et trois méristèmes inflorescentiels axillaires, chacun formant à son tour un rameau supportant des méristèmes floraux (figure 1). L'inflorescence résultante est composée de type « grappe de grappes ».

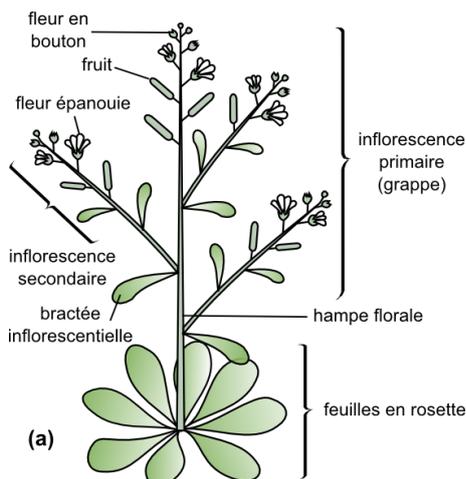


Figure 1 L'inflorescence composée d'*Arabidopsis thaliana*

b) Les transformations cytologiques du méristème apical caulinaire

Lors de la mise à fleur, la zonation fonctionnelle du MAC se transforme suite au changement radical de son activité mitotique.

Les cellules de la zone médullaire se vacuolisent. Celles de la zone centrale se divisent à présent au même rythme que celles de la zone périphérique et de façon synchrone ce qui induit la disparition des cellules « souches » qu'elles constituaient et à terme la mort du méristème. Parallèlement le métabolisme s'accélère ; la synthèse des ARN et des protéines augmente tout comme le nombre de mitochondries ; la duplication de l'ADN se généralise. Il en résulte une réorganisation de l'architecture de l'apex qui, de relativement plat au départ, passe à une forme bombée en mamelon avec une augmentation volumique plus ou moins importante qui caractérise le stade du **méristème préinflorescentiel** (dans le cas de la production d'une fleur isolée on le qualifie de méristème préfloral) (figure 2a).

Ce dernier se transforme alors en méristème inflorescentiel terminal par apparition d'ébauches inflorescentielles et florales sur les bords du bombement. Sont tout d'abord produits 3 feuilles modifiées ou bractées inflorescentielles avec, à leur aisselle, 3 méristèmes inflorescentiels axillaires (ils formeront à leur tour des boutons floraux) puis des méristèmes floraux de façon relativement continue (l'inflorescence est dite indéfinie). La zone médullaire forme l'axe de l'inflorescence ou hampe florale.

Au niveau de chaque méristème floral, la différenciation et la croissance des pièces florales engendrent un bouton floral qui s'épanouit à terme lors de l'ultime étape de la floraison (figures 2b, c et d).

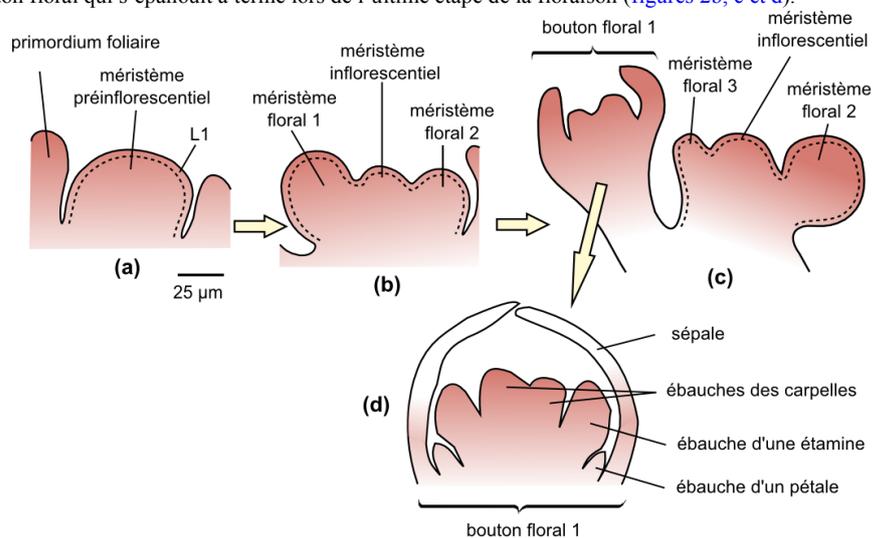


Figure 2 La transformation du méristème apical caulinaire lors de la transition de l'état végétatif à l'état reproducteur chez *Arabidopsis* ; coupes longitudinales à divers stades : (a) – méristème préfloral ; (b et c) – méristème inflorescentiel ; (d) détail d'un bouton floral. (le degré de coloration est proportionnel à l'activité mitotique)

2°) Les différentes étapes de la mise à fleur

Les nombreuses études menées sur la mise à fleur ont conduit à découper le passage de l'état végétatif à l'état reproducteur en quatre étapes qui sont :

1. **L'induction florale** : le déclenchement de la mise à fleur au niveau du méristème végétatif résulte de la réception de divers signaux produits par certains organes du plant sous l'action de facteurs internes (maturité du plant, état nutritionnel..) et externes. C'est à ce stade qu'agissent les facteurs climatiques comme les températures basses (vernalisation) et (ou) la photopériode (allongement ou raccourcissement des jours) mais également les ressources en eau (un stress hydrique modéré accélère la floraison de même qu'une carence en azote). Cette

étape, en général irréversible, est de durée fort variable. Les gènes impliqués à ce stade sont les gènes de perception qui déterminent la chronologie de la floraison (tableau 1).

2. **L'évocation florale** ou **virage floral** : elle correspond au changement de l'activité de l'apex caulinaire suite à l'intégration des signaux reçus avec une réorganisation de son architecture conduisant au **méristème préfloral** ou **préinflorescentiel**. Elle suppose une modification du contrôle génétique du méristème à savoir la levée de la répression par défaut de la floraison. Les gènes d'identité des méristèmes végétatifs sont inhibés alors que les gènes d'identité des méristèmes floraux ou gènes intégrateurs sont activés (tableau 1). Les cellules passent alors d'un état indéterminé à un état déterminé.

Remarque : le virage floral s'accompagne parfois de modifications de l'appareil végétatif comme la croissance des entre-noeuds des plantes en rosette ou montaison ; c'est le cas d'*Arabidopsis* ou encore du blé d'hiver.

3. **L'initiation** ou **organogenèse florale** : c'est l'étape au cours de laquelle apparaissent les ébauches des pièces florales ; chaque méristème floral devient bouton floral. Elle est sous le contrôle de gènes homéotiques notamment, les **gènes d'identité des organes floraux**.
4. La **floraison** proprement dite : elle correspond à la croissance et à la différenciation des pièces florales qui s'achève par l'épanouissement de la fleur. Cette dernière étape peut toutefois être reportée dans le temps suite à l'entrée en dormance (inaptitude endogène temporaire à se développer) du bourgeon floral (cas du lilas, du marronnier, de la tulipe ...etc. chez qui les bourgeons floraux sont mis en place au cours de l'été). Il faut alors un séjour au froid pour lever la dormance.

En résumé, le passage de l'état végétatif à l'état reproducteur du méristème apical caulinaire est caractérisé par une modification profonde de son activité avec généralisation et intensification de l'activité mitotique, accélération de son métabolisme. Il touche tout particulièrement la zone centrale et détermine ainsi la fin de son activité indéfinie. La mise en place de la fleur comporte quatre étapes qui sont l'induction florale, le virage floral, l'organogenèse florale et la floraison s.s.. Au cours de ces étapes, les cellules méristématiques à vocation végétative sont progressivement reprogrammées par levée d'inhibition du programme de floraison de manière à s'engager dans l'organogenèse florale.

II. Contrôle génétique de la mise à fleur ; les gènes de l'identité des pièces florales

Le développement floral et l'identité des organes floraux sont déterminés par des gènes, dont certains, comme chez les animaux, sont des gènes homéotiques, et impliquent des activations en cascade.

- identifier l'implication de certains gènes contrôlant cette transition en montrant leurs caractères homéotiques ;
- présenter un modèle de contrôle génétique de la détermination de l'identité des organes floraux.

Limite : seul l'exemple des fonctions ABCE dans le modèle Arabidopsis est étudié ; la nomenclature des gènes impliqués n'est pas exigible.

1°) Vue d'ensemble du contrôle génétique

Le contrôle génétique de la floraison mobilise diverses catégories de gènes (tableau 1) qui agissent en cascades.

TABLEAU 1 APERÇU DES DIVERSES CATEGORIES DE GENES CONTROLANT LA MISE A FLEUR

D'ARABIDOPSIS THALIANA			
Catégorie	Nom des gènes (forme sauvage)	Phénotype des mutants	Nature des protéines codées
Gènes de perception ou de chronologie de la floraison (induction)	FLOWERING LOCUS C (FLC)	Floraison accélérée	Facteur de transcription à boîte MADS
	CONSTANS (CO)	Retard de floraison en jours longs uniquement (perte de sensibilité à la photopériode)	Facteur de transcription (2 motifs en doigt de Zn)
	FLOWERING LOCUS T (FT)*	Retard de floraison en jours longs	Protéine diffusible (florigène)
Gènes d'identité du méristème floral ou gènes intégrateurs (évocation florale)	LEAFY (LFY)* ou APETALA 1 (AP1)	Fleurs remplacées par des pousses végétatives	Facteurs de transcription
	TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)	Production d'une seule fleur par le bourgeon terminal	Facteur de transcription
Gènes d'identité des organes floraux (organogénèse)	Gènes de la fonction A : APETALA 1/2 (AP1/AP2)	Fleurs sans sépales ni pétales	Facteurs de transcription à boîte MADS (exception faite de AP2)
	Gènes de la fonction B : APETALA 3 (AP3) – PISTILLATA (PI)	Fleurs sans pétales ni étamines	
	Gène de la fonction C : AGAMOUS (AG)	Fleurs stériles (ni étamines, ni carpelles)	Facteurs de transcription agissant en association avec les protéines des classes A, B et C
	Gènes de la fonction E : SEPALLATA 1-2-3-4 (SEP1-2-3-4)	Pertes des fonctions A, B et C	
Gènes de construction des organes floraux ou gènes réalisateurs (floraison s.s.)	Environ 25 gènes pour sépales et pétales Plus de 1000 gènes pour les étamines Environ 250 gènes pour les carpelles		

*Ces gènes correspondent aux gènes intégrateurs de divers signaux (endogènes et exogènes) qui induisent la floraison.

2°) Les gènes de l'identité des organes floraux : le système ABCE

Le déterminisme génétique de l'identité des pièces florales a été élucidé dans les années 1990 par E. Cohen et E. Meyerowitz. Ces chercheurs ont sélectionné et analysé parmi les nombreux mutants artificiels d'*Arabidopsis* ceux qui présentaient des altérations de la position des pièces florales comme des étamines à la place des sépales, des carpelles à la place des étamines ...etc., c'est-à-dire des **conversions homéotiques** ou remplacements d'un type d'organe par un autre (les pièces d'un verticille remplacent celles d'un autre verticille), à l'image des mutants homéotiques animaux que l'on rencontre chez la drosophile par exemple où les pièces d'un segment remplacent celles d'un autre segment (pattes à la place des antennes...etc).

a) Les enseignements de l'analyse des mutants ; les transformations homéotiques

Les fleurs d'*Arabidopsis* possèdent une organisation classique de fleurs de dicotylédones en 4 verticilles concentriques (sépales, pétales, étamines, carpelles) soit une structure de type S-P-E-C, avec alternance des pièces florales d'un verticille à l'autre. Ce sont des

fleurs de type 4 (4 pièces par verticille, pour les pièces stériles du moins), à symétrie axiale (actinomorphes), propres à la famille des Brassicacées (figure 3 - type sauvage).

Trois classes de mutants ont été plus particulièrement repérées (figure 3) :

- Les mutants de **classe A** chez lesquels les sépales et pétales sont remplacés par des carpelles et des étamines respectivement, soit une structure de type C-E-E-C ; cette classe comporte les mutants *apetala 1* (*ap1*) et *apetala 2* (*ap2*) ;
- Les mutants de **classe B** dont les fleurs ne possèdent ni pétales (remplacées par des carpelles) ni étamines (remplacées également par des carpelles), soit une structure de type S-C-C-S ; il s'agit des mutants *apetala 3* (*ap3*) et *pistillata* (*pi*) ;
- Le mutant de **classe C** ; il ne possède que des pièces stériles, étamines et carpelles étant remplacés par des pétales et des sépales respectivement ; sa structure est de type S-P-P-S et comporte en fait en son cœur une autre fleur stérile ; ces transformations sont dues au gène muté *agamous* (*ag*).

4 photos ; demande faite à l'INRA

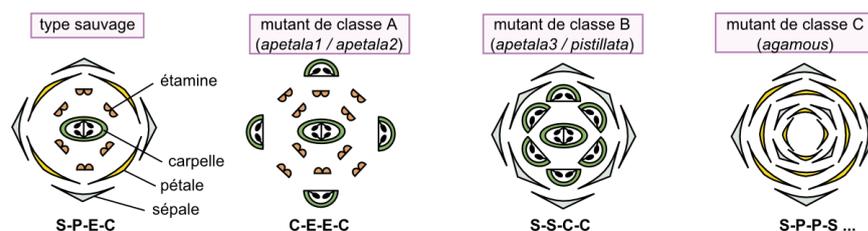


Figure 3 Architecture des fleurs de type sauvage et de divers mutants des gènes des classes A, B et C.

On constate ainsi que, dans chaque classe de mutants, ce sont deux verticilles adjacents qui sont simultanément touchés ce qui suggère que chaque classe de gène(s) contrôle l'identité des organes de deux verticilles adjacents :

- les gènes de la classe A contrôlent l'identité des sépales et des pétales ;
- les gènes de la classe B contrôlent l'identité des pétales et des étamines ;
- le gène de la classe C contrôle l'identité des étamines et des carpelles.

Les verticilles des pétales et des étamines sont par conséquent déterminés par la conjonction de 2 classes de gènes co-dominants alors que la détermination des sépales et des carpelles ne relève que d'une seule classe (A pour les sépales, C pour les carpelles). Le fait que les classes A et C se remplacent mutuellement (lorsque la classe A est mutée, il y a surexpression de la classe C avec production de carpelles à la place des sépales et inversement) suggère que ces deux classes s'inhibent réciproquement ou s'excluent mutuellement ; l'expression des gènes de classe A inhibe celle du gène de classe C et réciproquement si bien que lorsqu'une classe est mutée, il y a surexpression de l'autre classe qui la remplace ainsi.

b) le modèle initial ABC

Les données précédentes ont conduit E. Cohen et E. Meyerowitz à proposer un modèle faisant appel à 3 classes de gènes s'exprimant dans 3 champs concentriques en partie

Partie II/chapitre II.E-2B
 Montaigne/2BCPST/14-15
 chevauchants (figure 4) :

- les gènes de classe A s'expriment dans le champ le plus externe correspondant aux verticilles S (sépal) et P (pétale) ;
- les gènes de classe B s'expriment dans le champ médian correspondant aux verticilles P et E (étamines) ;
- le gène de classe C s'exprime dans le champ le plus interne, celui des carpelles (C).

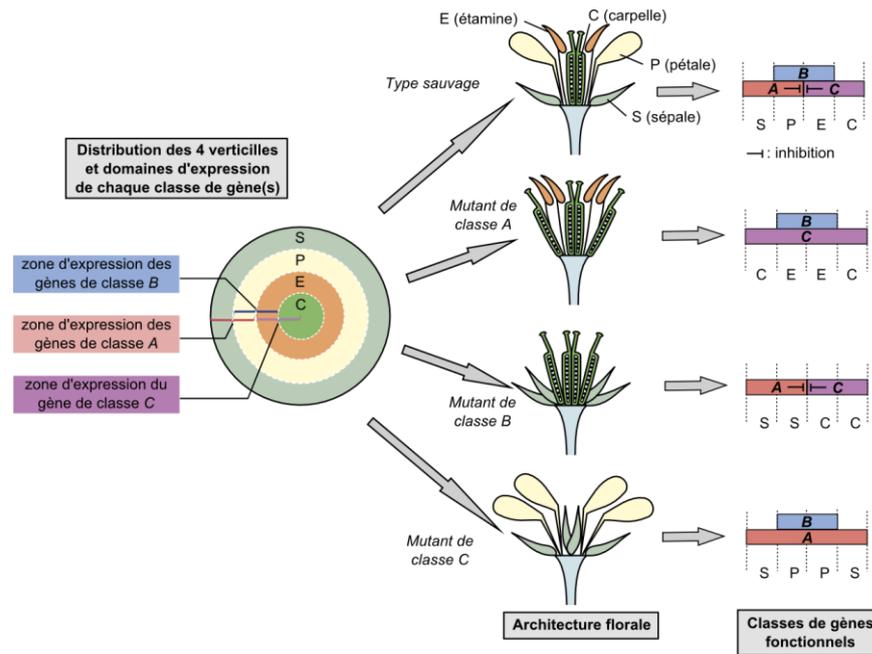


Figure 4 Le modèle ABC appliqué à la forme sauvage et aux mutants.

Sont ainsi expliquées les correspondances entre gène ou couple de gènes et chaque verticille. La validité de ce modèle est confirmée par l'étude des double mutants :

-le phénotype qui présente des carpelles sur les 4 verticilles (structure de type C-C-C-C) correspond au génotype (a,b,C) soit $(ap2,ap3/pi,AG)$;

le phénotype ne comportant que des sépales sur les 4 verticilles relève du génotype (A,b,c) soit $(AP2,ap3/pi,ag)$;

Quant au triple mutant (a,b,c) soit $(ap2,ap3/pi, ag)$, il ne présente que des feuilles au niveau des divers verticilles.

Une autre confirmation de ce modèle qui est venue en outre le préciser a été obtenue par identification et clonage des gènes des 3 classes, production de sondes radioactives complémentaires de l'ARNm de chaque gène et hybridation in situ au niveau de coupes longitudinales d'apex floraux, à divers stades de développement. Leur autoradiographie a ainsi permis d'identifier les territoires d'expression de chaque classe de gènes (figure 5). Au stade du bouton floral correspondant à l'initiation des quatre verticilles, on constate que le gène *API* de la classe A s'exprime uniquement au niveau des ébauches de sépales et de pétales, que les gènes *AP3* et *PI* (classe B) sont actifs au niveau des ébauches de

pétales et d'étamines, que le gène *AG* (classe C) l'est au niveau des ébauches des étamines et des carpelles. Par contre le gène *AP2* (classe A) s'exprime au niveau des 4 verticilles.

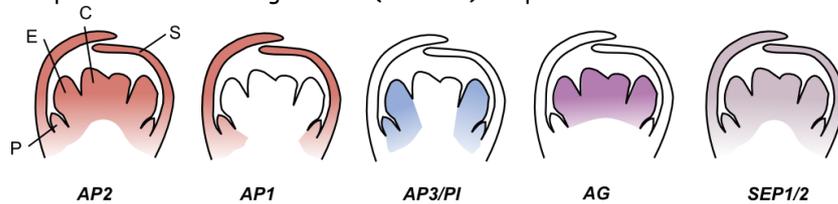


Figure 5 Domaines d'expression des gènes des classes A, B, C et E au stade du bouton floral chez *Arabidopsis thaliana*.

(Abréviations des ébauches de pièces florales : S = sépale ; P = pétale ; E = étamine ; C = carpelle)

c) le modèle révisé ABCE

Le modèle précédent est toutefois mis en défaut par le fait que la co-expression ectopique de gènes des classes A et B au sein de tissus végétatifs est incapable d'induire la formation de pétales. Cela signifie que les classes de gènes A, B et C sont certes nécessaires mais non suffisantes pour définir l'identité des pièces florales. Pour qu'elles soient efficaces, il faut qu'une autre catégorie de gènes s'exprime conjointement dans les 4 verticilles, les gènes *SEPALLATA* (*SEP1,2,3,4*) qui constituent la **classe E** (figure 8.6). Ainsi le quadruple mutant (*sep1,sep2,sep3,sep4*), pour lequel les gènes de classes A, B et C sont sauvages, ne présente que des feuilles, à l'image du triple mutant (a,b,c). Les simples mutants *sep1*, *sep2*, *sep3* et *sep4* entraînent une perte de fonction des gènes des classes A, B et C.

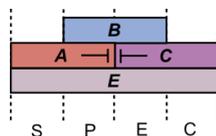


Figure 8.6 Le modèle ABCE.

L'hybridation in situ de sondes marquées complémentaires des ARNm de ces gènes permet d'établir le cadre spatio-temporelle de leur expression (figure 5).

Remarque : entre-temps, une autre catégorie de gènes déterminant l'identité des ovules et nommée classe D a été mise en évidence, suggérant que les ovules constitueraient un 5^e verticille (le simple mutant (d) possède des ébauches carpellaires à la place des ovules).

Ce modèle génétique de détermination de l'identité des pièces florales est retrouvé chez toutes les angiospermes où il est recherché (dicotylédones comme monocotylédones), avec une très bonne conservation des classes B et C et un certain nombre de variantes sur la classe A (de nombreux mutants du muflier, *Antirrhinum majus*, ont également servi à établir le modèle ABCE). On le considère comme universel.

Partie II/chapitre II.E-2B

Montagne/2BCPST/14-15

d) interprétation moléculaire

Les protéines codés par les gènes des classes *A*, *B* et *C* sont des facteurs de transcription qui répondent à une structure spécifique comportant :

- un domaine d'une soixantaine d'acides aminés, dénommé MADS ou boîte MADS (MADS est l'acronyme de 4 gènes codant ce motif), susceptible de se fixer à une séquence nucléotidique particulière des promoteurs des gènes cibles ;
- une région à la structure apparentée à celle de la kératine qui intervient dans les associations entre protéines (hétérodimérisation) ;
- une extrémité C-terminal qui participe à l'activation de la transcription.

Ces protéines ne sont véritablement fonctionnelles que sous forme de dimères associés en tétramères ou « quartés » avec les protéines SEP1,2,3,4 (qui ont valeur de coactivateurs), leur combinatoire induisant l'activation spécifique de certains gènes. Pour exemple, le tétramère (AP1-AP1-SEP-SEP) se forme dans le verticille 1 et détermine l'initiation des sépales. Par contre c'est un hétérodimère AP1-AP3-PI-SEP qui intervient au niveau du verticille 2 (pétales).

La protéine AP2 est également un facteur de transcription mais de structure différente. Le fait que le domaine d'expression du gène *AP2* couvre l'ensemble des 4 verticilles et que ce gène s'exprime très précocement, avant même l'apparition des ébauches de sépales, suggère que *AP2* est plus dédié à l'identité du méristème floral (étape du virage floral) plutôt qu'à l'identité des sépales et des pétales.

Enfin l'antagonisme entre gènes de classes *A* et *C* résulte du fait que la protéine AG est un facteur de transcription qui réprime l'expression de certains gènes de classe *A*.

Remarque : d'autres gènes que ceux déterminant l'identité des pièces florales interviennent également ; certains déterminent le nombre de pièces par verticille, d'autres la symétrie de la fleur.

En résumé, la transition de l'état végétatif à l'état reproducteur du méristème apical caulinaire est contrôlée par plusieurs catégories de gènes qui agissent en cascades. L'étude des mutants d'*Arabidopsis* montre que les gènes qui déterminent l'identité des organes floraux ont des caractères de gènes homéotiques. Ils correspondent à 3 classes principales *A*, *B* et *C* qui s'expriment dans des champs concentriques et en partie chevauchants. La combinatoire résultante détermine chaque verticille : les sépales sont déterminés par la classe *A*, les pétales par les classes *A* et *B*, les étamines par les classes *B* et *C*, les carpelles par la classe *C*. Leurs produits sont des facteurs de transcription qui activent à l'état de tétramères les gènes réalisateurs des organes floraux.

La mise en action des gènes de classes *A*, *B*, *C* et *E* suppose au préalable que le méristème végétatif ait été reprogrammé en méristème inflorescentiel ou floral, qu'il y ait donc eu induction florale. Cette étape peut être déclenchée de manière autonome, en fonction de la seule maturité du plant, mais, dans les régions à climats tempérées, elle est souvent soumise en plus au contrôle des facteurs climatiques, froid et photopériode principalement.

III. CONTROLE ENVIRONNEMENTAL DE LA FLORAISON : VERNALISATION ET PHOTOPERIODE

Dans les milieux tempérés, cette transition s'effectue en lien avec des facteurs environnementaux.

2.8.3.1 La vernalisation à travers l'exemple du blé d'hiver

- présenter l'action de facteurs environnementaux contrôlant le rythme saisonnier de la floraison.

On se limite à un exemple de l'effet de la vernalisation et de la photopériode.

- présenter l'existence d'un relai phytohormonal.

Le détail des phytohormones intervenant dans la floraison et leur mécanisme d'action ne sont pas exigibles.

a) Le cycle de développement du blé d'hiver, annuelle d'hiver

Un certain nombre d'espèces des régions tempérées ne sont aptes à fleurir qu'après le passage de l'hiver. Cela concerne en particulier les variétés ou écotypes d'hiver du blé ou du colza, appelés également annuelles d'hiver.

Semé à l'automne, le blé d'hiver germe et produit avant l'hiver le coléoptile, les premières feuilles et les premiers entre-nœuds qui demeurent très courts (figure 8.7a). Au stade 3 feuilles apparaissent à partir du sommet du second entre-nœud des bourgeons axillaires qui initient de nouvelles tiges ou talles. Cette étape du tallage s'échelonne entre janvier et mars, le nombre de talles étant fonction de la variété, de la densité des semis et de la fertilité du sol. En fin de tallage, courant mars, au stade 5 à 6 feuilles, l'apex de chaque talle change d'aspect ; il cesse de former des feuilles, s'allonge, se segmente en petites rides transversales, visibles au microscope. Ce stade (stade A) correspond à l'initiation florale. Le tallage cesse alors, les petites rides de l'apex se transforment en ébauches d'épillets et les entre-nœuds débutent leur allongement (stade B). Celui-ci s'accélère brutalement et, en une trentaine de jours (courant avril-début mai), chaque talle atteint sa taille définitive par allongement des entre-nœuds. Cet allongement spectaculaire constitue l'étape de **montaison** (stade C) ; il résulte de la conjonction de l'activité mitotique de méristèmes intercalaires situés au niveau de chaque nœud, dormants jusqu'alors, et du grandissement cellulaire au sein de chaque entre-nœud. Le développement de l'épi au niveau de l'apex se poursuit durant ce temps mais il demeure caché au sein des gaines des dernières feuilles. L'étape ultérieure ou **épiaison** correspond à l'achèvement de la formation des épillets, à l'émergence de l'épi d'épillets et à la fécondation. Il s'agit de la floraison à proprement parler.

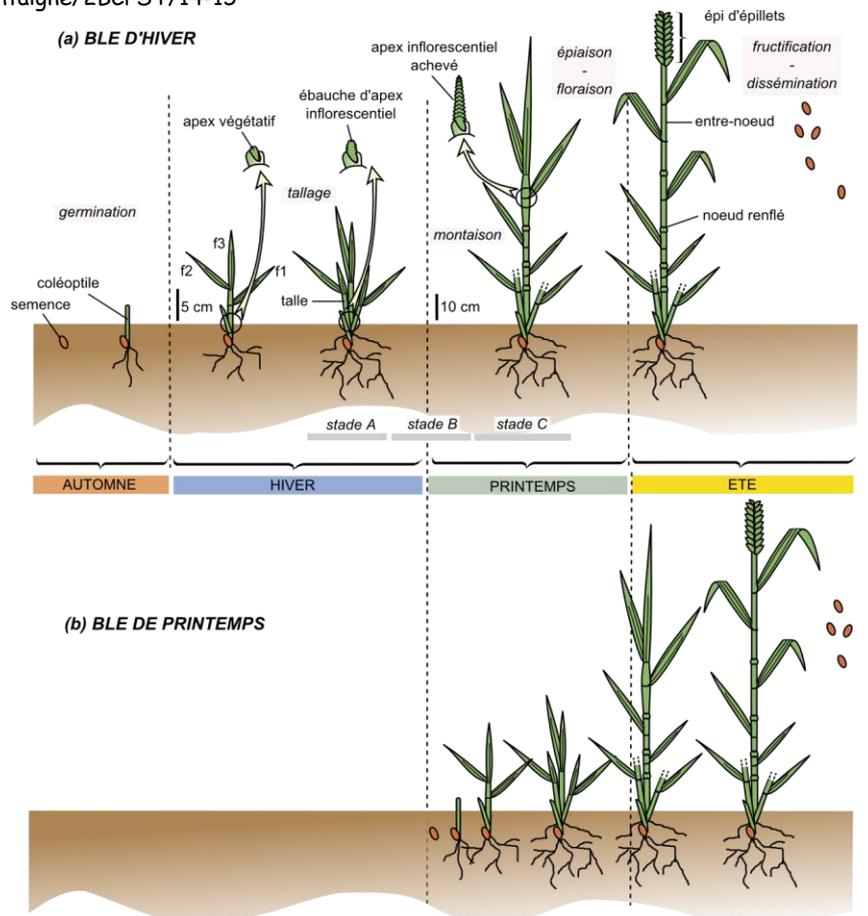


Figure 8.7 Les cycles de développement du blé d'hiver (a) et du blé de printemps (b).

La même variété, semée au printemps, ne dépasse pas le stade du tallage et doit passer l'hiver pour achever celui-ci, connaître la montaison, l'épiaison et la fructification. Par contre, sous serre et sans passage au froid, il est possible d'aboutir à la floraison mais après un délai de nombreux mois.

Par comparaison, une variété dite de printemps, boucle son cycle de développement sur l'année de son semis (figure 8.7b) mais en étant moins précoce et souvent moins productive qu'une variété d'hiver (moindre tallage notamment). Elle ne peut être semée en automne car elle ne résiste pas au froid hivernal. Le passage au froid hivernal provoque donc un changement de l'activité du méristème apical caulinaire qui, de végétatif, devient reproducteur. Cette acquisition de l'aptitude à fleurir par action du froid est nommée **vernalisation** (du latin *vernus*, printanier) car c'est à la fin de l'hiver que le froid agit.

b) Les caractères de la vernalisation :

Comparaison de la réponse à la vernalisation du blé d'hiver et du blé de printemps

Il est possible chez le blé de reproduire la vernalisation en laboratoire à partir de semences à condition qu'elles soient imbibées et aient débuté leur germination. Afin de tester l'influence de la durée de vernalisation, divers lots de semences de 2 variétés, l'une d'hiver (variété A - figure 8.8), l'autre de printemps (variété B - figure 8.8), sont imbibés durant 24h00 à température ambiante et traités au froid

Partie II/chapitre II.E-2B

Montagne/2BCPST/14-15

humide ($2^{\circ} \pm 1^{\circ}C$) à des temps différents de manière à les mettre en culture simultanément dès la fin de leur traitement. La culture de tous les lots se déroule sous serre et en éclairage continu de façon à supprimer toute influence éventuelle de la photopériode. Dans chaque expérience, 3 plants par variété sont utilisés et chaque expérience est répétée 3 fois. Le nombre de jours jusqu'à l'épiaison est déterminé en fonction de la durée du traitement de vernalisation.

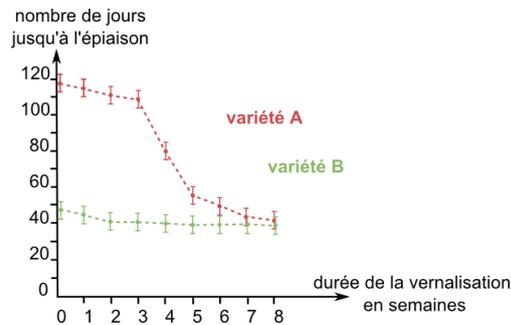


Figure 8.8 Délai jusqu'à l'épiaison de 2 variétés de blé en fonction de la durée du traitement de vernalisation.

L'erreur standard de la moyenne est de 9 jours pour les 2 variétés.

On constate que pour les 2 variétés la vernalisation accélère l'épiaison mais dans le cas de la variété de printemps, l'accélération est peu significative compte tenu de l'erreur standard alors que dans le cas de la variété d'hiver elle est très significative ; le délai de l'épiaison est ramené à 40 jours au bout de 5 à 6 semaines de traitement soit un chiffre comparable à celui de la variété de printemps. Ainsi **la réponse à la vernalisation est de nature quantitative**, la floraison étant d'autant plus rapide que la vernalisation a été longue. En conditions naturelles, c'est la somme de jours froids qui importe. Toutefois la vernalisation n'est théoriquement pas obligatoire pour le blé d'hiver puisque les lots non traités atteignent l'épiaison au bout de 110 à 120 jours soit près de 4 mois et encore en éclairage continu. Cela signifie que dans les conditions naturelles la vernalisation est obligatoire pour les variétés d'hiver.

Remarque : la vernalisation est de fait réversible. Si des semences partiellement vernalisées sont immédiatement exposées durant quelques jours à des températures de l'ordre de 20 à 25°C, l'effet de la vernalisation est atténué voire supprimé (il y a dévernalisation dans ce cas). Ces semences peuvent toutefois être à nouveau vernalisées par un traitement au froid humide.

Besoins de vernalisation en fonction des espèces

Les besoins de vernalisation des plantes sont extrêmement variables entre espèces et entre variétés d'une même espèce. Le tableau 8.2 fournit un rapide aperçu des 3 catégories de plantes, celles à vernalisation absolue, celles à vernalisation facultative et celles qui sont indifférentes.

TABLEAU 8.2 CLASSIFICATION DES ESPECES EN FONCTION DE LEUR BESOIN OU NON DE VERNALISATION

EN CONDITIONS NATURELLES.		
Catégorie	Conditions de la floraison	Exemples
Vernalisation obligatoire dans les conditions naturelles	Long séjour au froid humide	Céréales d'hiver, colza d'hiver, betterave, carotte cultivée, céleri, choux, benoîte
Vernalisation facultative dans les conditions naturelles	Un séjour au froid, pas obligatoirement long, accélère la floraison	Certaines variétés de seigle, laitue ...
Espèces indifférentes	Floraison autonome, sans besoin de séjour au froid	Céréales de printemps, tabac, tomate, muflier, lilas, cerisier, rosier....

La température de vernalisation peut également fluctuer. Si l'optimum thermique est en général compris entre +1 et +7°C (une température inférieure à 0°C est inopérante car, pour être vernalisé, l'apex doit

Commentaire [PP1]: Je comprends mais cette phrase est ambiguë ; dans les conditions naturelles l'épiaison des variétés d'hiver exige la vernalisation

Commentaire [JMD2]: il n'y en effet rien d'évident à cette conclusion. Je dirais pour ma part, « cependant, dans les conditions naturelles (éclairage non continu), l'épiaison des variétés d'hiver exige la vernalisation ».

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

présenter une activité métabolique minimale), dans le cas de l'olivier, il est de l'ordre de +10/+12°C. Ce besoin qui est obligatoire dans ce cas détermine l'aire de répartition de cette espèce qui ne peut se développer ni dans les régions à hiver trop froid, ni dans les régions à hiver trop doux d'où le fait qu'elle soit inféodée au bassin méditerranéen.

Remarque : l'aptitude à fleurir est acquise dans certains cas par un traitement à la chaleur. Cette thermoinduction concerne des plantes à bulbes (tulipe, narcisse, jacinthe..) et les arbres fruitiers. Elle est suivie d'une entrée en dormance des bourgeons, laquelle est levée par un traitement au froid.

Maturité de vernalisation

L'exemple précédent du blé d'hiver montre que la vernalisation peut intervenir dès le stade de la plantule, au sein du grain. Ce n'est en rien une règle, les plantes bisannuelles étant par exemple vernalisables à la fin de la première année lorsque leur appareil foliaire est à l'état de rosette.

c) Les mécanismes de la vernalisation

Le cas des plantes bisannuelles notamment permet de déterminer un des sites de perception de la vernalisation. Ainsi la greffe d'une feuille d'un plant de betterave vernalisé sur un plant porte-greffe non vernalisé entraîne la floraison de ce dernier (figure 8.9). C'est donc dans ce cas la feuille qui est l'organe de perception du froid et qui émet une information à destination de l'apex caulinaire. Cette information, dénommée historiquement « vernaline », n'a pu être isolée et caractérisée que très récemment, à partir d'écotypes d'hiver d'*Arabidopsis*, nécessitant une vernalisation. Elle s'est révélée correspondre en fait au florigène, signal qui intervient également dans le photopériodisme (§ 8.3.2d).

L'exemple des céréales d'hiver, vernalisables au stade de semences, montre que la perception du froid peut se réaliser dès le stade de la plantule, au niveau de l'apex directement.

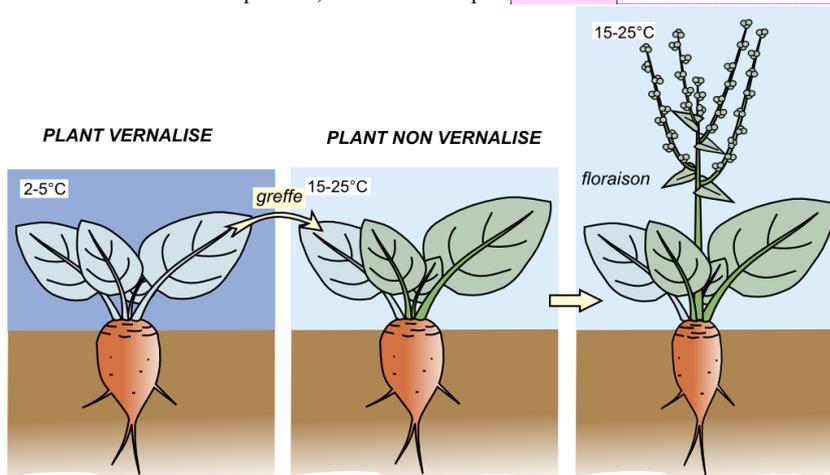


Figure 8.9 Expérience de greffe entre un plant de betterave vernalisé et un plant non vernalisé.

ENCART 8.2

Le contrôle génétique de la vernalisation des céréales

Les études génétiques ont permis d'identifier 3 gènes notés *VRN1*, *VRN2*, *VRN3* (*VRN* pour *VERNALIZATION*) qui déterminent le besoin de vernalisation des céréales (blé ou orge). Ils interviennent comme suit :

- le gène *VRN1* sous ses formes d'allèles dominants active l'induction florale ; il code un facteur de transcription à boîte MADS, apparenté au facteur API ; son niveau d'expression s'accroît progressivement au cours de la vernalisation ;

Commentaire [JF3]: La littérature est un peu déroutante sur ce point entre ceux qui affirment que c'est le MAC qui subit directement la vernalisation (florigène court-circuité dans ce cas) –cf Morot-Gaudry et ceux qui insistent sur les feuilles et donc l'intervention du florigène (doc Stéphane et Trends in Science). Je pense qu'il y a bien les 2 possibilités. Ce que confirme le schéma de synthèse de Kobayashi et Weigel-2007

Commentaire [PP4]: Parler de messenger chimique

Commentaire [JMD5]: en effet je remplacerais le terme « signal » par « messenger chimique »

Commentaire [JMD6]: est-ce valable pour un apex sans ébauches foliaires ou déjà avec qq ébauches ? car dans ce dernier cas, les ébauches foliaires pourraient être comparables à des feuilles... il me semble que pour le blé, sous le coléoptile de l'embryon, se cachent déjà qq ébauches ?

- le gène *VRN2* est un répresseur de la floraison qui la retarde tant que la vernalisation n'est pas réalisée ; il code une protéine à doigt de zinc qui est capable de se lier à certaines séquences de l'ADN (les séquences ou boîtes CCAAT des promoteurs de certains gènes) et qui inhibe l'expression de *VRN3* ; son niveau d'expression décroît au cours de la vernalisation (et en jours longs par ailleurs - § 8.3.2a) ;

- le gène *VRN3* est orthologue du gène *FLOWERING LOCUS T (FT)* d'*Arabidopsis* ; il code une petite protéine diffusible qui se révèle être une composante du florigène : le gène est essentiellement exprimé au niveau des feuilles ; la protéine FT migre ensuite au sein du phloème jusqu'à l'apex où elle induit en coopération avec d'autres facteurs l'expression des gènes d'identité du méristème floral (*API* par exemple), activant ainsi l'induction florale.

A l'automne et durant l'hiver, l'activité de *VRN2* réprime l'expression de *VRN3(FT)* mais les basses températures hivernales stimulent peu à peu la transcription de *VRN1* qui inhibe progressivement *VRN2* et lève ainsi la répression exercée sur *VRN3(FT)* (en synergie avec la photopériode à savoir le rallongement des jours). L'induction florale est alors réalisée (figure 8.10).

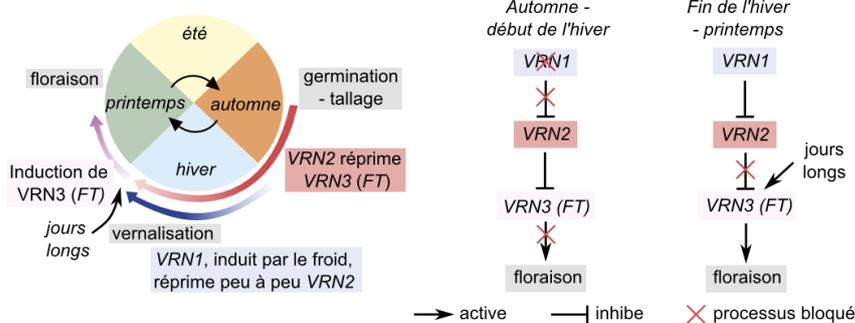


Figure 8.10 Evolution du contrôle génétique de la floraison des céréales d'hiver lors de la vernalisation.

Chez *Arabidopsis* (écotypes d'hiver), c'est le gène *FLOWERING LOCUS C (FLC)* qui inhibe initialement le gène *FT*. Cette répression, levée progressivement par un séjour au froid, relève de processus épigénétiques (Voir Biologie 1ère année - § 18.5.2). Il y a tout d'abord production d'ARN *FLC* anti-sens qui bloque la traduction de l'ARNm *FLC*. Dans un second temps, la désacétylation et la méthylation des histones du nucléofilament au niveau du gène *FLC* rendent peu à peu le gène silencieux par suite du remodelage local de la chromatine qui passe d'un état d'euchromatine (gène accessible à la transcription) à un état d'hétérochromatine (gène inaccessible). Cet état est ensuite conservé après le traitement (on parle alors de « mémoire de vernalisation »).

Par ailleurs un autre mécanisme épigénétique intervient lors du traitement au froid ; il s'agit de la déméthylation de l'ADN (les cytosines en particulier). En effet, l'utilisation d'un agent hypométylant de l'ADN, la 5-azacytidine, déclenche la floraison et mime ainsi la vernalisation. Cette déméthylation influence également l'état de la chromatine et rendrait plus accessible aux facteurs de transcription un certain nombre de loci, accélérant ainsi l'induction florale.

C'est donc toute une cascade de modifications épigénétiques qui enclenche peu à peu la répression du gène *FLC* et le réveil d'autres gènes dont *FT*. Ce processus quantitatif est ainsi mémorisé au sein des nouvelles générations cellulaires qui à terme engendreront les organes floraux dans le cas où c'est le MAC qui subit directement la vernalisation. Par contre les transformations des histones ne sont pas conservées lors de la méiose (gamétogenèse) et ne sont donc pas transmissibles aux générations nouvelles.

Les variétés de printemps qui n'ont pas besoin de vernalisation possèdent de fait des versions mutées de *VRN2* (céréales) ou un gène *FLC* silencieux (*Arabidopsis*).

Commentaire [PP7]: Comprendront-ils ce terme ?

a) La mise en évidence des effets de la photopériode ; ex. des céréales

Dans les zones tempérées, une des informations intégrées par les plantes est la variation de la durée du jour ou plus précisément de la période éclairée dite **héméropériode (photophase ?)** par rapport à la période obscure ou **nyctipériode (scotophase ?)**. Cette photopériodicité journalière oscille entre 9h00 environ d'héméropériode l'hiver et 16h00 l'été vers 45° de latitude. Les réponses du végétal à la photopériode constituent le photopériodisme. Elles sont en général de 3 types, le type « jours longs » ou JL pour les espèces dont la floraison est induite par l'allongement de l'héméropériode, le type « jours courts » ou JC dans le cas inverse, et enfin le type « plantes indifférentes » (§ 8.3.2b). La sensibilité à la photopériode est assez répandue au sein des espèces des zones tempérées ; elle traduit le fait que la variation de la durée jour/nuite est le paramètre le plus fiable du changement de saison pour un végétal. Voyons à travers l'exemple du blé les effets de la photopériode sur le cycle de développement.

Exercice :

Les variables environnementales qui affectent le développement des blés sont le froid hivernal et la photopériode sous forme d'allongement de l'héméropériode au printemps. Deux variétés de blé (notées A et B – figure 8.11) sont testées en plein champ, avec la même conduite des cultures (identité de la densité des semis, de l'apport en engrais et des traitements phytosanitaires). Pour chacune, 2 lots de semences sont préparés, l'un sans vernalisation mais avec simple hydratation durant 24h00 (lot V₀), l'autre par hydratation et traitement au froid humide durant 50 jours (lot V₅₀). La mise en culture au champ est réalisée au même moment pour les 2 lots. Quatre traitements photopériodiques sont alors appliqués à ces cultures : le premier correspond à la photopériode naturelle (PN), le second à un allongement de 2h00 de l'héméropériode naturelle (PN+2), le troisième à un allongement de 4h00 (PN+4) et le quatrième à un allongement de 6h00 (PN+6).

Tous les 3 jours, un échantillonnage représentatif de chaque population est réalisé afin de déterminer le stade de développement des plants prélevés. Trois stades sont retenus :

- le stade 1 avant l'initiation florale soit avant l'apparition des premières ébauches florales au niveau du primordium inflorescentiel ;
- le stade 2, de l'apparition des premières ébauches florales à l'achèvement de la différenciation de l'épi, avant la montaison ;
- le stade 3, de la montaison à l'épiaison.

Chaque étape du développement nécessitant un certain cumul de température, c'est la température moyenne cumulée (base 0°C) sur la durée à partir du jour d'ensemencement soit $\Sigma(T_{\text{moyenne}} \text{ journalière})$ en °C.jour qui sert de paramètre au lieu du temps calendaire (nombre de jours)(figure 8.11).

Par ailleurs, à la fin de l'expérimentation soit au bout de 2500°C.jour, le pourcentage de plants fertiles (épis fertiles lors de la floraison) de chaque lot est déterminé. Le tableau 8.3 regroupe ces résultats.

TABLEAU 8.3 POURCENTAGE DE PLANTS A EPIS FERTILES PAR RAPPORT AU NOMBRE TOTAL DE PLANTS.

Vernalisation	Traitement		Variété A	Variété B
		Photopériode		
V ₅₀		PN+0	100	100
		PN+2	100	100
		PN+4	100	100
		PN+6	100	100
V ₀		PN+0	24	100
		PN+2	31	100
		PN+4	40	100
		PN+6	53	100

- 1- Que dire des effets de la vernalisation sur les divers stades de développement et sur la proportion finale de plants fertiles?
- 2- Même question à propos du photopériodisme.
- 3- Comment qualifier les écotypes A et B ? Conclure sur leur comportement vis-à-vis de la photopériode.

Commentaire [PP8]: Donner les deux

Commentaire [JMD9]: OK PP

Commentaire [JMD10]: aux variations de la photopériode

Commentaire [PP11]: Il faudrait peut-être un peu moduler ; la thermopériode est aussi importante, notamment lors d'acquisition de dormances

Commentaire [JMD12]: ajout d'un espace avant 2

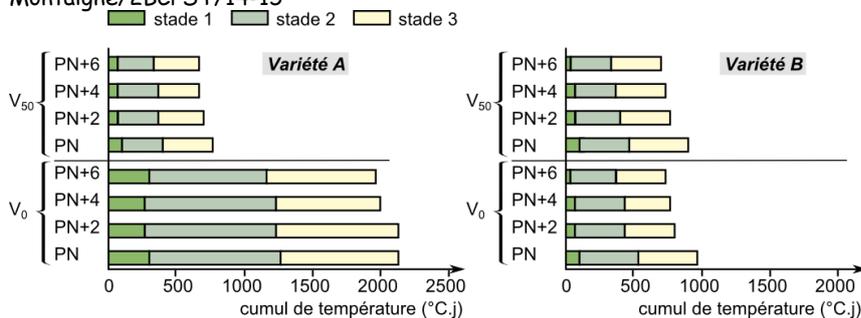


Figure 8.11 Effets du traitement photopériodique et de la vernalisation sur le développement de 2 variétés de blé.

Corrigé

- 1- L'effet de la vernalisation est déduit de la comparaison des lots soumis aux mêmes conditions de photopériode. Dans le cas de la variété A, le traitement au froid raccourcit tous les stades du développement et davantage le stade 1 que les 2 autres. La réduction en durée du cycle global est de plus de 50%. La conséquence est que tous les plants produisent des épis fertiles alors que sans vernalisation le pourcentage ne dépasse pas 50%. Pour ce qui concerne la variété B, la vernalisation n'a pas d'effet significatif et tous les plants produisent des épis fertiles quelles que soient les conditions de traitement.
- 2- Selon le même principe de raisonnement (prendre en compte la variation d'un seul paramètre, la photopériode à présent), on observe sur la variété A que l'allongement de l'héméroperiode raccourcit le cycle total mais de façon modeste par rapport à la vernalisation (de l'ordre de 10% si on compare (PN) et (PN+6)). Cet effet est comparable sur les lots vernalisé et non vernalisé ; il se conjugue donc à celui de la vernalisation. Par contre, pour le lot non vernalisé, l'effet de la photopériode est important puisqu'il permet de doubler le pourcentage de plants à épis fertiles, compensant en partie l'absence de vernalisation. En ce qui concerne la variété B, l'effet de la photopériode sur la longueur de chaque stade est du même ordre de grandeur (-10% à -20%) et, à la floraison, 100% des plants sont fertiles.
- 3- L'écotype A qui est très sensible à la vernalisation est donc un écotype d'hiver ; l'écotype B qui lui est insensible à la vernalisation est un écotype de printemps. L'écotype A est par ailleurs plus sensible à la photopériode (en se référant à la proportion d'épis fertiles) que l'écotype B qui trouve dans les conditions naturelles les conditions optimales de mise à fleur. Les 2 écotypes sont des variétés préférées de « jours longs » (le photopériodisme n'est pas obligatoire mais il accélère la floraison). Cet exemple illustre ainsi le caractère multifactoriel du contrôle de la floraison.

Compétences 1.1 et 3.1

b) les diverses réponses des plantes à la photopériode

Les exigences photopériodiques des plantes relèvent de 3 catégories (comme indiqué précédemment) dont quelques exemples sont reportés dans le [tableau 8.4](#). Les plantes de « jours longs » (JL) ne fleurissent que si l'héméroperiode est supérieure à une valeur critique HC, comprise entre 10h00 et 14h00 selon les espèces ; **cette condition est dite inductrice**. A l'inverse les plantes de « jours courts » (JC) ne fleurissent que si l'héméroperiode est inférieure à la période critique qui oscille entre 10h00 et 13h00. Ce qui importe n'est donc pas la durée absolue de l'héméroperiode mais sa valeur par rapport à l'héméroperiode critique ; pour une même durée, une espèce peut aussi bien appartenir à l'une ou à l'autre catégorie. Par ailleurs, pour chacune, il est possible de distinguer des espèces dites « absolues », incapables de fleurir si les conditions photopériodiques inductrices ne sont pas présentes, et des espèces préférées pour lesquelles le traitement photopériodique inducteur est facultatif mais accélère la floraison. Quant aux plantes indifférentes, elles fleurissent en toute condition photopériodique à partir du moment où la photopériode assure une photosynthèse suffisante (minimum trophique de l'ordre de 5 à 6h00) ce qui est également valable pour les deux autres catégories.

TABLEAU 8.4 CLASSIFICATION DES PLANTES EN FONCTION DU PHOTOPERIODISME.

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

Catégorie	Exemples (héméropériode critique en h)
Plantes de « jours longs »	Radis, jusquiame (10h), moutarde, épinard (13h)..... Céréales de printemps, betterave, vesce, arabette...
Plantes de « jours courts »	Chrysanthème (14h), cosmos (13h), poinsettia (10h), tabac (variété Maryland Mammoth – 13h), kalanchoe (12h), lampourde (15,5h).. Soja....
Plantes indifférentes	Tomate, pois, tabac (la plupart des variétés), maïs, tournesol, haricot..

Les plantes préférées sont en grisé.

Les cas de la lampourde de Pennsylvanie (*Xanthium pennsylvanicum* - JC), de l'épinard (JL) et de la moutarde (JL) sont assez singuliers puisqu'un traitement photopériodique d'un seul cycle de 24h00 sur des plants « adultes » suffit à induire la floraison ce qui justifie leur usage expérimental. Il faut par contre 2 à 4 cycles pour le soja ou plus d'une dizaine de cycles pour le chrysanthème ; ceci montre que l'induction photopériodique est un processus quantitatif, cumulatif, et non un phénomène du tout ou rien.

c) Les plantes mesurent la durée de la nyctipériode

Les chercheurs Hammer et Bonner (1938) se sont très tôt interrogés sur l'aptitude des plantes à mesurer l'héméropériode et/ou la nyctipériode. Pour ce faire, en utilisant la lampourde (espèce de JC), ils ont tout d'abord déterminé les conditions inductrices sur un cycle de 24h00 puis modifié la longueur du cycle tout en conservant le rapport de durée entre héméropériode et nyctipériode (figure 8.12 – série 1). Ils ont ensuite interrompu, en conditions théoriquement inductrices, la nyctipériode par un court éclaircissement quelques heures après le début de celle-ci ; ils ont enfin procédé de même pour l'héméropériode, en conditions non inductrices cette fois-ci, en l'interrompant par une période obscure assez brève (figure 8.12 – série 2).

Les résultats de la première série d'expériences montrent que ce ne sont pas les durées relatives de l'héméropériode et de la nyctipériode (période diurne plus courte que la période nocturne – situations (b), (c) et (d) qui importent ni la durée absolue de l'héméropériode (elle est identique dans les expériences (a) et (d) pour des effets opposés). On peut donc supposer que c'est la durée absolue de la nyctipériode qui est le paramètre mesuré par la plante à savoir une durée supérieure à 8h30, condition réalisée dans les situations (b) et (d) de la série 1.

La seconde série d'expériences fait apparaître l'importance de la continuité de la nyctipériode (expériences (f) et (g)) à la différence de l'héméropériode dont l'interruption ne modifie pas le résultat (expérience (h)). Les conditions inductrices correspondent donc à une **nyctipériode continue** de durée supérieure ou égale à 8h30 sur cet exemple.

Commentaire [JMD13]: montre que, pour ces derniers cas, l'induction...

Ce n'est en effet pas vrai pour ceux dont un traitement d'un seul cycle suffit...

Partie II/chapitre II.E-2B
Montagne/2BCPST/14-15

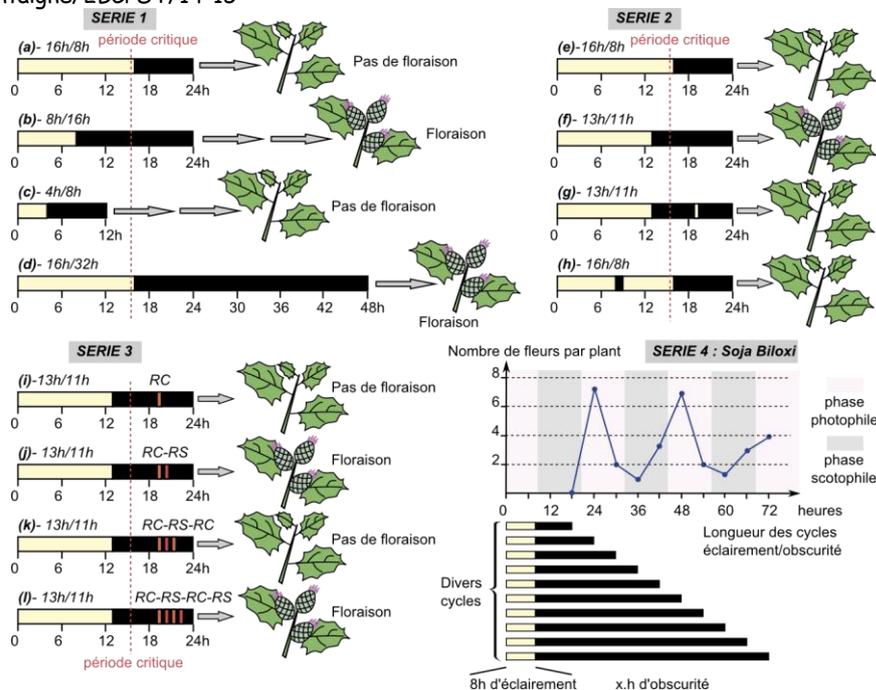


Figure 8.12 Effets des conditions photopériodiques sur la floraison de la lampoupe (*Xanthium*) (séries 1 à 3) et du soja (*Glycine max* – variété Biloxi) (série 4).

Des résultats identiques ont été obtenus sur les plantes de JL pour lesquelles la nyctipériode ne doit pas dépasser une valeur critique pour être inductrice à moins qu'une interruption par une brève période éclairée ne soit dispensée.

Comme constaté, un court éclairage (dit « flash lumineux », d'intensité en général fort modeste (quelques $W.m^{-2}$ à quelques dizaines de $W.m^{-2}$ - l'intensité lumineuse moyenne en plein jour est de plusieurs centaines de $W.m^{-2}$), dispensé en nyctipériode, inverse l'effet photopériodique. Ce fait permet de tester l'influence de la longueur d'onde (figure 8.12 – série 3). Ainsi, on constata que le bleu était peu efficace, que le rouge clair ($560nm < \lambda < 680nm$) était très efficace au contraire (expériences (i) et (k)), et que son effet était totalement annulé par le rouge sombre ($700nm < \lambda < 760nm$) si ce dernier était distribué très rapidement après l'exposition au rouge clair (expériences (j) et (l)). Cette dualité qui intervient également lors de la germination des akènes de laitue (elles nécessitent de la lumière qui assure la levée de dormance) fut à l'origine de la découverte de photorécepteurs d'un nouveau type, les **phytochromes** (§ 8.3c).

Par ailleurs il a été observé, sur certaines espèces de chénopode ou de soja par exemple, plantes de JC, que la sensibilité de la plante durant la nyctipériode variait grandement. Ainsi, lorsque de jeunes plants sont cultivés en conditions photopériodiques différant par la longueur de la période d'obscurité (période d'éclairage de 8h00 suivie d'une période sombre de durée variable), la floraison n'est optimale que pour certaines durées de la nyctipériode qui présentent un pas d'environ 24h00 (figure 8.12 – série 4). De même l'application d'un « flash lumineux » à des temps variables sur une période d'obscurité de 72h00 fait apparaître une sensibilité des plants de JC selon un cycle d'environ 24h00 soit une alternance de phases dites « photophiles » lors desquelles la lumière a un effet inducteur et de phases dites « scotophiles » au cours desquelles la lumière est sans effet ou a un effet inhibiteur (à l'inverse, pour les plantes de JL, la lumière serait sans effet ou inhibitrice en phase « photophile » et inductrice en phase « scotophile » ce qui soulève l'ambiguïté de ce vocabulaire proposé par Bünning en 1936). Ce comportement a conduit les chercheurs à émettre l'hypothèse d'un contrôle endogène de la sensibilité « nocturne » par une **horloge interne** à rythme circadien (encart 8.3) ; quand le flash lumineux est délivré

en phase sensible, il inhibe la floraison des plantes de JC et il stimule la floraison des plantes de JL. Seule la coïncidence entre ce rythme endogène et le signal photopériodique induit la floraison.

ENCART 8.3

Horloge biologique

Les plantes sont capables de mesurer de façon extrêmement précise la durée des périodes d'éclairement et d'obscurité. Dans l'exemple de la lampourde dont la période critique est de 15h30, un éclairement de 16h00 empêche la floraison alors qu'un éclairement de 15h00 l'induit. Pour expliquer une telle aptitude, on fait appel à l'existence d'un rythme endogène de sensibilité à la lumière déterminé par une horloge interne dont la périodicité est d'environ 24h00 et à la coïncidence (superposition) ou non entre ce rythme et les conditions photopériodiques relevant du milieu extérieur.

La modélisation la plus simple d'une horloge biologique entraînée par la photopériode fait intervenir 3 composantes :

- 1- une voie d'entrée qui transmet l'information liée aux variations quotidiennes de l'alternance lumière/obscurité et entraîne l'horloge ;
- 2- un oscillateur central qui génère le rythme ;
- 3- une voie de sortie qui impose l'activité rythmique à un certain nombre de processus biologiques.

Le fonctionnement de l'oscillateur central est fondé sur au moins une boucle de rétrocontrôle négatif entre deux groupes de gènes. Deux gènes « nocturnes » s'expriment rythmiquement avec un pic d'activité en fin de nuit ; leurs produits inhibent l'expression d'un gène « diurne » dont la protéine codée est elle-même un activateur des gènes « nocturnes ». La concentration de cette dernière diminuant, le niveau de transcription des gènes « nocturnes » décroît tout comme la concentration de leurs produits, régulièrement dégradés. Cela libère alors l'expression du gène « diurne » qui réactive les gènes « nocturnes », relançant ainsi un nouveau cycle.

La voie d'entrée ajuste (synchronise) quotidiennement ce rythme oscillant avec le rythme externe soit l'alternance lumière/obscurité par un signal, la transition nuit/aube et(ou) la transition soir/nuit. Elle mobilise divers pigments, phytochromes et cryptochromes (pigments qui absorbent dans le bleu).

La voie aval implique dans le cadre de la floraison le gène *CONSTANS* (*CO*) dont la transcription est régie par l'horloge circadienne (encart 8.4).

Ce rythme endogène serait relativement indépendant de la photopériode et les deux phases, « photophile » et « scotophile », seraient de durée sensiblement égale. L'induction de la floraison résulterait de la coïncidence ou non entre les périodes de sensibilité déterminées par l'horloge biologique interne et la photopériode tributaire de la progression des saisons. Ainsi, lorsque l'héméroperiode déborde sur la phase « scotophile » (situation correspondant au printemps et au début de l'été), elle induirait la floraison des plantes de JL et inhiberait celle des plantes de JC.

Commentaire [PP14]: schématiser

A partir de là, on a cherché à déterminer le lieu de perception de la photopériode ; s'agit-il du méristème lui-même ou des feuilles, organes photorécepteurs par excellence ?

d) la physiologie du photopériodisme

Un mécanisme de communication

Lorsqu'un plant de lampourde est placé en conditions non inductrices (photopériode supérieure à la période critique) hormis une seule feuille qui est traitée en conditions inductrices, le plant fleurit (figure 8.13a). Par contre, un plant privé de toutes ses feuilles est insensible à tout traitement inducteur (figure 8.13b). Le site de perception de la photopériode est donc la feuille et elle-ci produit un message chimique à destination de l'apex. Cette corrélation est démontrée par des expériences de greffe. En effet un plant de lampourde (plant donneur) placé en conditions inductrices (JC) relié à un autre plant (plant receveur) lui-même traité en conditions inhibitrices (JL) provoque la floraison de ce dernier (figure 8.13c). C'est ce type d'expériences qui a conduit Chaïlakhyan dès 1936 à dénommer hormone florigène

Commentaire [PP15]: je ne conteste pas ; mais comment s'en rend-on compte car vit-il suffisamment longtemps

Commentaire [PP16]: qui

Commentaire [JMD17]: qui pourrait produire ... apex (hypothèse explicative). Cette hypothèse est validée par des expériences de greffe :

Commentaire [PP18]: conclusion avant la démonstration

ou **florigène** le facteur inducteur.

Le transfert de ce message chimique se fait par le biais de la sève élaborée, au sein du phloème. Diverses expériences le démontrent : l'élimination d'un anneau de ce tissu, son altération par chauffage abolissent le transfert. Celui-ci se réalise à la même vitesse que le transfert des oses par la sève élaborée ; il est ainsi d'autant plus long que la feuille induite est éloignée de l'apex.

Commentaire [PP19]: idem 25

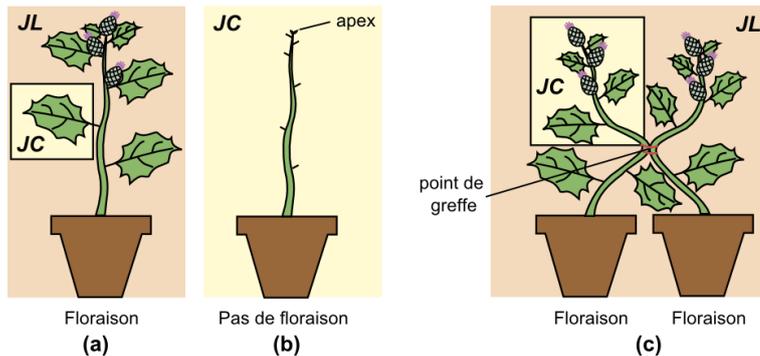


Figure 8.13 Différentes expériences sur plants de lampourde : (a)- traitement inducteur d'une seule feuille ; (b)- traitement inducteur d'un plant privé de feuilles ; (c) greffe entre plant induit et plant non induit.

Il est possible par ailleurs de réaliser des greffes entre plantes de JL et plantes de JC (figure 8.14). Ainsi la greffe d'un rameau de lampourde (astérocée de JC) placé en conditions non inductrices (JL) sur un plant receveur de rudbeckia (astérocée de JL) lui-même en conditions inductrices (JL) détermine la floraison du greffon. Cela laisserait supposer le caractère systémique du florigène, inducteur de la floraison des plantes de JC comme des plantes de JL. Toutefois ce type d'expériences ne réussit pas toujours ; lorsque plants donneur et receveur relèvent du même genre (espèces à comportements photopériodiques opposés) ou de genres voisins comme c'est le cas pour la lampourde et le rudbeckia, les résultats sont concluants. Dans le cas contraire, les résultats sont plus disparates, suggérant l'intervention d'autres composants dont les teneurs augmentent dans la sève élaborée suite à l'induction des feuilles (saccharose et phytohormones).

Commentaire [JMD20]: difficulté pour les étudiants à maîtriser le sens de ce terme.

Commentaire [JMD21]: d'autres mécanismes, comme par exemple d'autres molécules dont les teneurs

Commentaire [PP22]: on ne comprend pas bien en quoi cela suggère

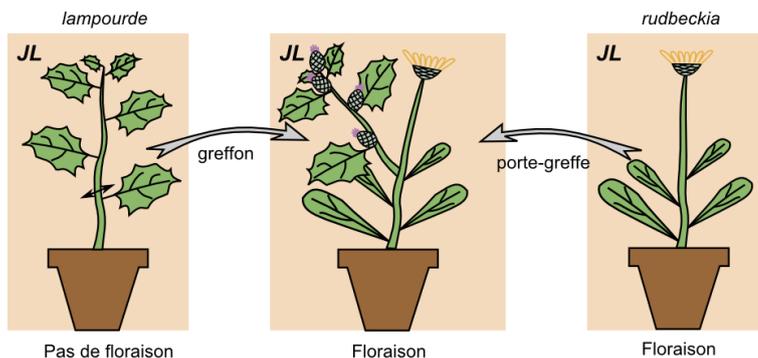


Figure 8.14 Expérience de greffe entre plant induit de rudbeckia (plante de JL) et plant non induit de lampourde (plante de JC).

La nature du florigène

Les recherches sur la nature du florigène sont demeurées vaines jusqu'assez récemment, conduisant d'ailleurs à mettre en doute son existence et à supposer l'intervention de plusieurs facteurs comprenant

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

des oses (saccharose) et des hormones végétales comme les cytokinines, hormones d'origine racinaire qui activent la division cellulaire, ou les gibbérellines qui, dans certains cas, se substituent au traitement photopériodique et induisent la floraison.

Les choses ont changé à partir de 2007 avec la découverte chez *Arabidopsis* (l'arabette présente un comportement de plante préférente de JL) du gène *FLOWERING LOCUS T (FT)* qui s'exprime dans les feuilles, plus particulièrement au niveau des veines mineures, au sein des cellules compagnes du phloème, et qui code la protéine FT, petite protéine de 20 kDa. En conditions inductrices, FT migre des feuilles à l'apex via la sève élaborée du phloème et s'associe avec un facteur de transcription à glissière à leucine FD (*FLOWERING LOCUS D*). Le couple FT/FD induit alors l'expression de gènes contrôlant l'identité du méristème floral comme AP1 (figure de synthèse).

Les modalités d'expression du gène FT au sein des feuilles sont abordées dans l'encart 8.4.

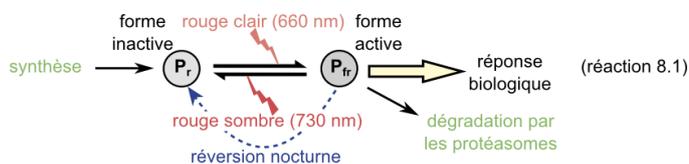
Remarque : le florigène n'est pas à proprement parler une hormone même s'il en partage le fait d'agir à distance après transport. En effet alors qu'une phytohormone agit indirectement sur ses cibles cellulaires par le biais de relais aux niveaux plasmique et/ou intracellulaire, en étant reconnue par des récepteurs spécifiques, le florigène court-circuite en quelque sorte ces étapes en étant un acteur direct du contrôle de l'expression des gènes. Cela suppose notamment qu'il puisse circuler sans traverser de membranes plasmiques ce qui est possible dans les tissus végétaux grâce à la voie symplasmique qui permet aux cellules d'être en relation directe via les plasmodesmes.

Au final, il importe de souligner la convergence du photopériodisme et de la vernalisation qui aboutissent tous deux à utiliser un même facteur inducteur, le florigène, et ainsi à additionner, compléter leurs effets. Le gène FT joue le rôle d'intégrateur des signaux du photopériodisme et de la vernalisation.

L'intervention du phytochrome en tant que photorécepteur

La dualité des éclaircissements rouge clair et rouge sombre est caractéristique d'un type de pigments, le phytochrome. Il s'agit d'un homodimère constitué de l'association de 2 chromoprotéines (120 kDa environ soit un peu plus de 1100 acides aminés par protomère), chacune comportant un hème tétrapyrrolique linéaire ou chromophore. Chaque protomère ou apoprotéine possède une partie N-terminal qui lie de manière covalente le chromophore et une partie C-terminal nécessaire à la dimérisation, à fonction catalytique (de kinase) et possédant deux motifs de localisation nucléaire (figure 8.15a). Cette dernière région est plus variable ce qui détermine divers types de phytochromes (cinq, notés de A à E). L'homodimère existe sous deux formes interconvertibles suite à l'absorption de lumière, la forme P_r (r pour *red*) qui absorbe le rouge clair (maximum à 660 nm) et la forme P_{fr} (fr pour *far red* ou rouge lointain) qui absorbe le rouge sombre (maximum à 730 nm) (figure 8.15b). La photoconversion tient à l'isomérisation du chromophore dont le carbone 15 passe d'une forme *cis* à une forme *trans* ce qui induit un coude de l'ordre de 30° qui se répercute sur la conformation de l'apoprotéine.

C'est la forme P_{fr} qui est active c'est-à-dire celle qui est obtenue par photoconversion de la forme P_r lors de l'absorption du rouge clair (RC). La forme P_{fr} retourne à la forme P_r selon deux modes, l'absorption du rouge sombre (RS) le jour (l'énergie requise est néanmoins bien plus élevée que dans le premier cas) et la réversion enzymatique à l'obscurité ; ce dernier processus permet la régénération de la sensibilité à la photopériode du plant en fin de nuit (réaction 8.1). En lumière naturelle (rapport RC/RS supérieur à 1), la proportion de P_{fr} est de l'ordre de 80 à 90% du phytochrome total.



Sous sa forme active, le phytochrome s'autophosphorylerait et serait susceptible de pénétrer dans le noyau où il interagirait avec certaines protéines inhibitrices de la transcription. Toutefois les données sur cette question dépassent largement le cadre de cet ouvrage en raison de la complexité des processus soumis à la lumière (ils varient en fonction de l'intensité de l'éclairement) et des nombreuses formes de phytochromes en jeu, chacune ayant des actions et une stabilité spécifiques.

Commentaire [PP23]: Un nouvel essor intervient

Commentaire [JMD24]: rectif

Commentaire [PP25]: Le lien est-il évident ?

Commentaire [JMD26]: en effet, on ne voit pas si facilement (coté élève) en quoi cela suppose... si ce n'est faire appel à sa nature protéique

Commentaire [PP27]: linéaire

Commentaire [JMD28]: pas évident pour l'élève car une radiation RS est moins énergétique qu'une radiation RC...

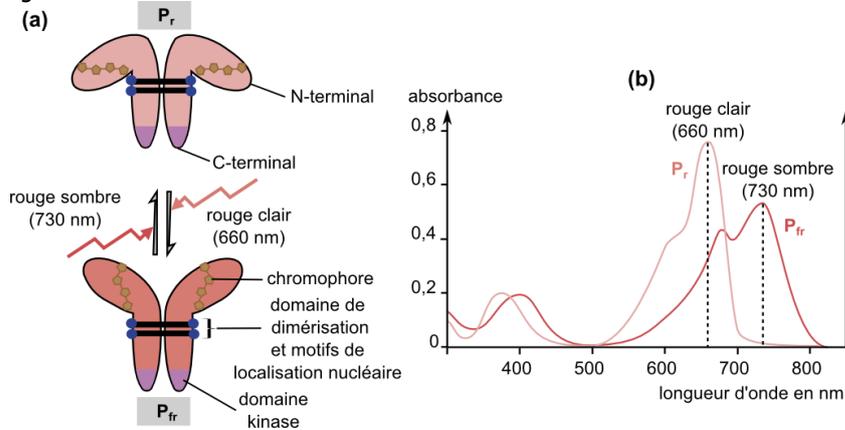


Figure 8.15 Modèle structural des deux formes P_r (forme inactive) et P_{fr} (forme active) du phytochrome (a) et spectres d'absorption (b).

ENCART 8.4

Aperçu des mécanismes moléculaires du photopériodisme

L'étude de mutants d'*Arabidopsis* présentant des retards ou des avances de floraison par rapport à la forme sauvage a permis d'isoler un certain nombre de gènes impliqués dans le comportement photopériodique. Ainsi le gène *CONSTANS* (*CO*) qui s'exprime dans les cellules compagnes du phloème foliaire présente-t-il une activité selon un cycle circadienne, contrôlée par l'horloge interne et relativement indépendante de l'héméroperiode. Son ARNm est abondant la nuit, chute au lever du jour et redevient abondant en fin d'après-midi, au bout d'un peu plus d'une dizaine d'heures de lumière (figure 8.16). Toutefois les concentrations en protéine *CO* ne suivent pas exactement cette évolution car elles sont dépendantes, en plus de la traduction, d'un processus de dégradation par la voie des protéasomes (Voir Biologie 1ère année – encart 7.1). Celle-ci est importante la nuit et au lever du jour (elle est induite par le phytochrome B), empêchant toute accumulation de protéine *CO* sur ces périodes. Par contre, au-delà d'une dizaine d'heures d'éclairement et si le jour est assez long, la protéine s'accumule par suite de l'accélération de la transcription, sous l'action d'autres photorécepteurs comme le phytochrome A et les cryptochromes, et d'une stabilisation de la protéine par la lumière (répression de la protéolyse). Dans le cas contraire (période diurne plus courte), le pic de protéine *CO* n'apparaît pas car la protéolyse n'est pas réprimée à l'obscurité.

La teneur en protéine *CO* est donc dépendante de la production rythmique d'ARNm *CO* et de la stabilisation de la protéine par la lumière.

Ainsi, dans le cas des plantes de JL, si la période d'éclairement est suffisamment longue pour que la protéine *CO* puisse s'accumuler en fin de jour, il y a induction de la floraison. Si par contre elle est plus courte, la protéine *CO* ne s'accumule pas et la plante ne peut fleurir. Pour ce qui concerne les plantes de JC, lorsque la période diurne s'achève avant le relèvement de la transcription du gène *CO* et l'accumulation de la protéine correspondante, il y a au contraire induction de la floraison car, dans ce cas, la protéine *CO* joue le rôle d'un inhibiteur de la floraison ; son absence est requise pour permettre aux plantes de fleurir.

Commentaire [PP29]: virgules indispensables

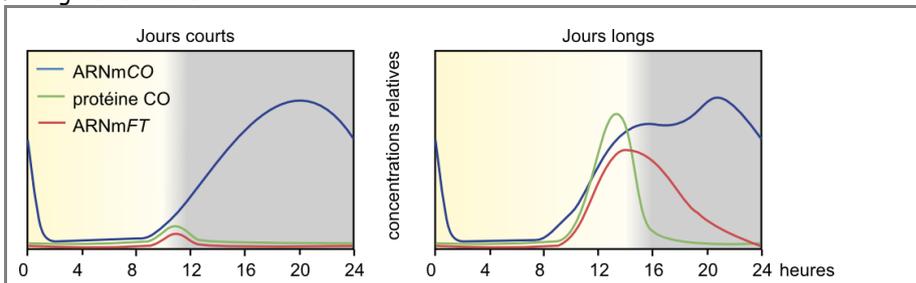


Figure 8.16 Evolution des teneurs en ARNmCO, en protéine CO et en ARNmFT sur un cycle de 24h00, en jours courts et en jours longs.

La protéine CO est un facteur de transcription à doigts de zinc qui intervient avec d'autres facteurs au sein de complexes de transcription. Une de ses cibles est le gène *FT* qui code la protéine FT ou florigène. Dans le cas des plantes de JL, la protéine CO active en fin de période lumineuse la transcription du gène *FT* au sein des cellules-compagnes du phloème de la feuille. Le florigène ainsi produit est véhiculé par la sève élaborée et induit la floraison au niveau des apex caulinaires (figure 8.17). Dans le cas des plantes de JC, la protéine CO inhiberait au contraire l'expression de ce gène. Cette inhibition n'intervenant qu'en jours longs, la floraison se déroule en jours courts, une fois la maturité du plant acquise, soit en général en milieu d'été. Il faut envisager dans ce cas l'intervention d'autres facteurs inducteurs du gène *FT* qui restent à identifier

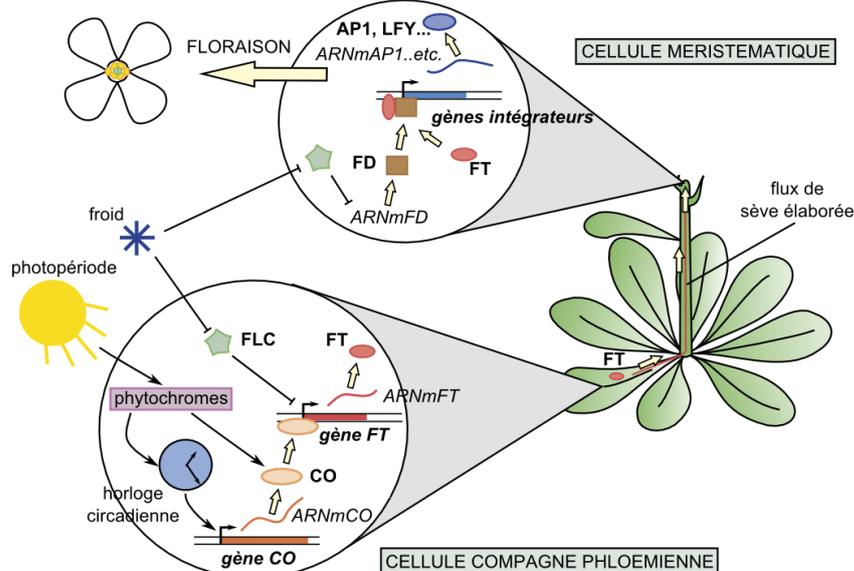


Figure 8.17 Mécanismes de l'induction florale sous l'effet conjugué du froid et de la photopériode dans le cas des plantes de JL (modèle *Arabidopsis*).

Ainsi est illustré le principe d'économie du vivant qui, avec les mêmes agents régulateurs (la protéine CO et le florigène ici), parvient à des effets opposés.

Photopériodisme et répartition des espèces.

Les plantes de JL fleurissent en général au printemps et au début de l'été, les plantes de JC en milieu

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

d'été, lorsque les jours commencent à raccourcir.

La question du photopériodisme est surtout cruciale pour les variétés d'origine tropicale comme le soja ou le sorgho qui ont un comportement de JC et qui sont cultivées aux plus hautes latitudes, dans des régions où le raccourcissement des jours intervient trop tardivement pour permettre l'achèvement du cycle de végétation et la production des semences. Leur acclimatation à ces régions a nécessité la sélection de cultivars moins sensibles au photopériodisme.

Photopériodisme et vernalisation

Les exigences de vernalisation et de photopériodisme sont fort inégales. Elles ne sont pas nécessaires à beaucoup d'espèces ou ne font qu'accélérer la floraison. En ce qui concerne les plantes bisannuelles et les annuelles d'hiver, le besoin de vernalisation est souvent complété par un comportement photopériodique de JL qui accélère la floraison, sans être pour autant indispensable.

En résumé, la floraison à un moment bien précis de l'année de nombre d'espèces des zones tempérées tient au fait qu'elle est contrôlée par les variations de certains paramètres climatiques. Le passage au froid modéré ou vernalisation est ainsi quasi-indispensable aux annuelles d'hiver et aux bisannuelles pour induire la floraison dès le printemps venu. Il s'agit d'un processus quantitatif, proportionnel au temps, qui repose sur des modifications épigénétiques de la chromatine aboutissant à la répression d'un gène inhibiteur de la floraison. Ces transformations sont ensuite mémorisées au niveau des cellules. Les modifications saisonnières de la durée du jour par rapport à la nuit ou photopériode sont le second paramètre détecté par un certain nombre d'espèces qui calquent ainsi leur floraison sur l'allongement des jours (plantes de JL) ou son raccourcissement (plantes de JC). La photopériode est perçue au niveau des feuilles par un système de mesure du temps ou horloge biologique ; la durée d'éclairement est inductrice si elle est supérieure (plantes de JL) ou inférieure (plantes de JC) à une période critique qui varie selon les espèces. L'induction fait intervenir une protéine diffusible, le florigène, qui, produite par les feuilles, migre au sein du phloème jusqu'au méristème où elle active un certain nombre de gènes d'identité du méristème floral.

L'architecture du méristème apical caulinaire

Etudes sur *Arabidopsis thaliana* (brassicacée) →

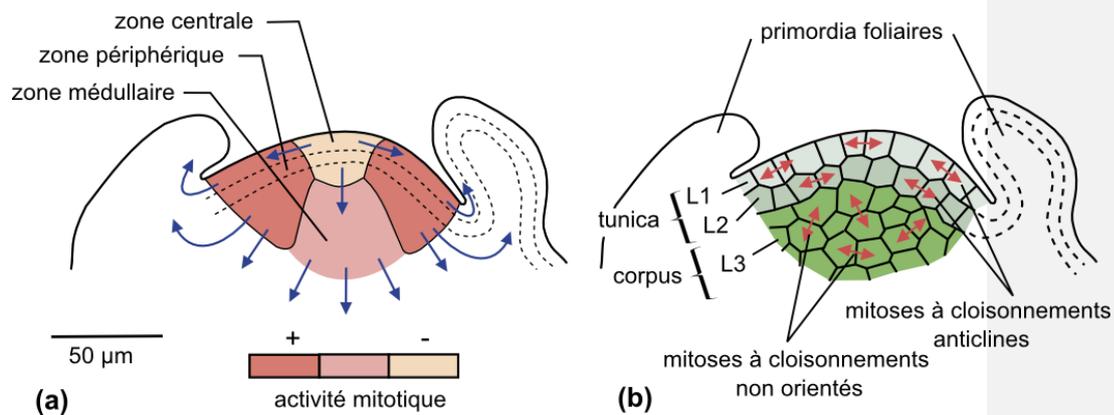


Figure 5 : Organisation de l'apex caulinaire en coupe longitudinale : (a)- zonation en fonction de l'activité mitotique ; (b)- zonation en fonction de l'orientation des cloisonnements cellulaires. Les flèches en (a) indiquent les destinées des cellules produites par mitoses ; les doubles flèches en (b) figurent l'orientation des fuseaux mitotiques, les cloisonnements leur étant orthogonaux

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.

2°) Le fonctionnement du méristème apical caulinaire

a. 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.

→ Etude du cas d'une espèce à feuilles alternes comme *Arabidopsis* :

La taille de la zone centrale reste constante au cours du temps. Elle est constituée de cellules qui forment un réservoir de cellules méristématiques particulières ou « cellules

souches » qui assure l'entretien et la permanence du méristème.

En revanche, la taille de la zone périphérique varie au cours du temps.

- Dans le secteur d'apparition d'un futur primordium, les divisions anticlines de la couche L1 s'accroissent et augmentent sa surface (elle atteint son aire maximale) alors que les couches L2 et L3 développent des cloisonnements périclines et en tous sens qui induisent un bombement de l'ensemble sous forme d'initium puis de primordium foliaire.
- Ce soulèvement ampute la zone périphérique d'une partie de ses cellules (elle passe en aire minimale); celle-ci se reconstitue par mitoses avant qu'une nouvelle phase accélérée de mitoses, dans un secteur éloigné (à 140° environ pour *Arabidopsis*), ne débute et initie un nouveau primordium.

Chaque primordium foliaire nouvellement formé et constitué des trois couches L1, L2, L3, s'allonge dans une direction qui formera l'axe de la future feuille. Ses cellules périphériques et apicales conservent un temps leur pouvoir méristématique (elles ont alors valeur de méristème foliaire), assurant le grandissement du limbe, avant de s'engager dans l'auxèse et de se différencier.

Les cellules de la zone périphérique demeurant sous le primordium s'allongent très modestement dans le cas d'*Arabidopsis*, ce qui est une situation particulière déterminant le port en rosette, et constituent le cortex du nouvel entre-nœud.

Les cellules de la zone médullaire donnent naissance à la zone médullaire ou moelle de la tige.

Les primordia foliaires sont initiés suivant une géométrie précise, propre à l'espèce, qui dépend de contraintes physiques et de compétitions biochimiques exercées par les primordia les uns sur les autres.

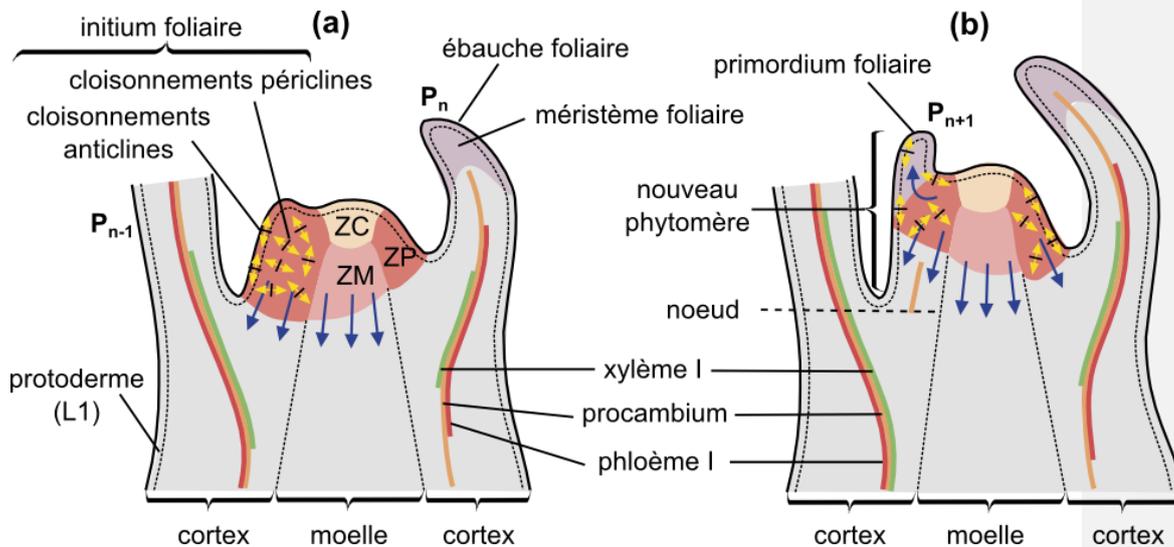


Figure 6 : Mise en place en 2 étapes (a) et (b) d'un phytomère d'une tige à feuilles alternes.

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

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)

Les bourgeons axillaires n'apparaissent à l'aisselle des ébauches foliaires qu'à un niveau relativement éloigné du méristème caulinaire apical, par dédifférenciation puis divisions de cellules superficielles (épiderme et sous-épiderme). L'amas cellulaire résultant acquiert une zonation comparable à celle du méristème caulinaire apical avec la formation des ébauches foliaires latéralement.

Pour aller plus loin :

*L'activité mitotique des cellules et leur engagement dans une voie de détermination donnée, à l'origine de tel ou tel organe puis de tel ou tel tissu, relèvent d'un contrôle génétique dont les bases ont été établies à partir de l'analyse de nombreux mutants d'*Arabidopsis thaliana* présentant des dysfonctionnements du MAC.*

*Deux catégories principales de gènes ont été mises en évidence chez *Arabidopsis thaliana* :*

- *les gènes qui déterminent l'identité des cellules méristématiques et le fonctionnement du MAC d'une part ; le maintien de l'identité des cellules méristématiques met notamment en jeu des gènes homéotiques...*
- *les gènes qui contrôlent la différenciation des feuilles d'autre part → (cf sujet agro B sur la feuille).*

b. 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. Cette seule possibilité conduit à une disposition invariante des feuilles qui correspond à un angle de 140° environ entre feuilles successives chez *Arabidopsis*. Ainsi la distribution de l'auxine au sein de l'apex, en lien avec l'expression des gènes PIN qui codent pour la production de transporteurs auxiniques, constitue pour les cellules une **information de position**.

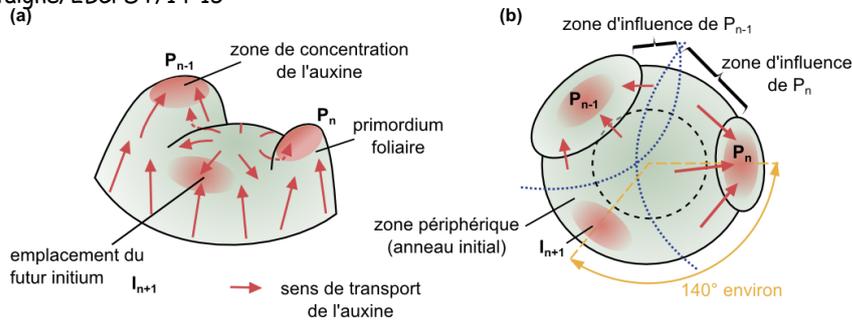


Figure 7 : Transport de l'auxine au niveau apical (a : vue de profil ; b : vue de dessus) et détermination de l'emplacement du futur initium I_{n+1}

La zone d'influence (d'inhibition) exercée par chaque primordium est d'autant plus petite que celui-ci est âgé.

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.

L'effacement du caractère méristématique ne s'effectue pas pour toutes les couches à la même vitesse :

- ainsi L1 conserve un temps un caractère méristématique sous forme d'un protoderme
- et dans L3 des cellules déjà un peu allongées conservent aussi une activité mitotique pendant un temps : elles forment le **procambium** à l'origine des tissus conducteurs primaires ; les cordons procambiaux se forment dans les primordia foliaires et se prolongent de manière basipète dans les entre-nœuds qui les supportent.

Chez une majorité des dicotylédones, l'activité méristématique procambiale se poursuit au-delà de la mise en place des tissus conducteurs primaires ; et est à l'origine du **cambium fasciculaire**, c'est-à-dire de l'amorce d'un méristème secondaire. La **dédifférenciation** de certaines cellules du parenchyme médullaire entre les faisceaux conducteurs primaires engendre un **cambium interfasciculaire**, rendant ainsi continue l'assise cambiale qui produit des tissus secondaires, xylème secondaire ou bois et phloème secondaire ou liber.

Pour ce qui est du phellogène, autre méristème secondaire, il provient, tout au moins la première année, de la dédifférenciation de cellules du parenchyme cortical en général. Son activité mitotique est à l'origine d'un autre tissu secondaire, en position périphérique, le

Méristèmes primaires		Tissus primaires	Méristèmes secondaires	Tissus secondaires
Zone périphérique (anneau initial)	→ protoderme (L1)	→ épiderme	→ phellogène (T)	→ liège ou suber (T)
	→ (L2)	→ parenchyme cortical (T) → parenchyme foliaire (F)		
	→ procambium (L3)	→ collenchyme → sclérenchyme → phloème primaire	→ cambium fasciculaire	→ phloème secondaire ou liber → xylème secondaire ou bois
		→ xylème primaire		
Zone médullaire	→ (L3)	→ parenchyme médullaire (T)		

Figure 8 Origines des tissus caulinaires et foliaires chez les dicotylédones.

(T) : tissus spécifiques des tiges ; (F) : tissu spécifique des feuilles.

Finalement, le méristème apical caulinaire à l'origine d'organes (la tige principale et les feuilles) et de tissus primaires est à la fois **organogène** et **histogène**. Son maintien tout au long de la vie de la plante détermine une **croissance continue** ou **indéfinie** du végétal, contrairement à la croissance définie propre au développement animal. Ce mode de croissance permet aux plantes, en dépit de leur immobilité, d'utiliser au cours de leur vie de plus en plus d'espace, au-dessus et au-dessous de la surface du sol, et de renouveler certains organes sénescents (les feuilles en particulier). Par comparaison, les méristèmes secondaires ne sont qu'histogènes (production de tissus secondaires).

BILAN : Le méristème apical caulinaire présente une activité de division qui se répartit en trois régions, la zone centrale faiblement mitotique qui assure l'entretien du méristème par renouvellement de cellules souches, la zone médullaire plus active qui produit les cellules à l'origine de la moelle de la tige, et la zone périphérique, la plus active, qui engendre périodiquement les cellules destinées au cortex de la tige et aux feuilles. La position où sont initiées les futures feuilles est notamment tributaire de la distribution au sein de la zone périphérique d'une phytohormone, l'auxine, et se situe là où celle-ci est la plus concentrée. Le MAC est ainsi à la fois organogène et histogène. En fonction de la position dont héritent les nouvelles cellules qui quittent le méristème apical, le grandissement cellulaire et la différenciation conduisent à la mise en place des tissus primaires caulinaires et foliaires. C'est en leur sein qu'apparaissent chez les dicotylédones les méristèmes secondaires à l'origine de tissus secondaires qui assurent la croissance en diamètre des tiges.

III. 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 ne sont pas au programme.

1°) les modalités du grandissement cellulaire

a. Une entrée d'eau

→ entrée initiée par abaissement du potentiel hydrique résultant de :

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

-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 $\Delta\Psi_{\rightarrow i} = (\Psi_i - \Psi_o)$ 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).

D'autres mécanismes modifiant les interactions entre pectates et cellulose sont également à prendre en compte car certaines parois primaires sont très pauvres en hémicelluloses.

Par ailleurs le type de grandissement (isodiamétrique, par élongation ou par élargissement) est fonction de l'architecture initiale du réseau de fibrilles de cellulose. En effet l'allongement est difficile voire impossible parallèlement aux fibrilles dont la rigidité est assimilable à celle d'un fil d'acier à même diamètre. C'est donc la disposition des microfibrilles de cellulose, établie par l'agencement du réseau de microtubules sous la membrane plasmique qui détermine les modalités de la croissance cellulaire isotrope (futurs parenchymes) ou anisotrope (futurs tissus de soutien et de conduction).

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. Le contrôle du grandissement cellulaire par l'auxine

Mise en évidence expérimentale

Les expériences ont notamment porté sur des fragments de jeunes coléoptiles dont la croissance est inachevée.

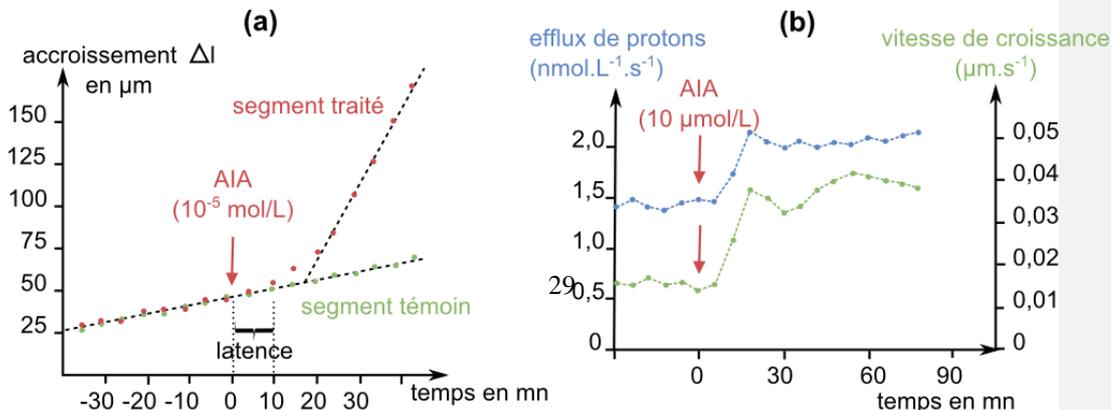


Figure 9 Effet d'un traitement à l'auxine de jeunes segments de coléoptiles d'avoine (a) et corrélation entre l'élongation d'un segment et l'efflux de protons suite à l'addition d'auxine (b).

Analyse / interprétation des graphiques :

Lorsque les segments de jeunes coléoptiles sont placés dans un milieu de culture approprié (sels minéraux et saccharose comme source de carbone), leur élongation se poursuit à faible vitesse (segment témoin (a)). Si on ajoute au milieu de l'auxine (segment traité (a)), on constate une accélération spectaculaire de la croissance après un temps de latence de 10 mn environ ce qui suggère que l'auxine agit sur des cibles déjà présentes au niveau cellulaire.

Par ailleurs il avait été constaté qu'il était possible d'augmenter l'extensibilité de la paroi en acidifiant le milieu de culture ce qui a conduit à suivre l'évolution du pH dans le milieu extracellulaire suite à un traitement par l'auxine. Le suivi simultané de l'élongation et du pH montre dans ce cas une corrélation très nette entre l'efflux de protons et l'élongation après l'injection d'auxine, avec toujours une latence d'une dizaine de minutes (b).

Compléments

L'application d'auxine sur des protoplastes de tabac déclenche en quelques minutes, outre la baisse du pH extracellulaire (de 6,5 à 4,5), une hyperpolarisation membranaire. Cet effet est inhibé par les anticorps anti-ABP (*Auxin Binding Proteins* - protéines fixant l'auxine).

En vue de rechercher des effets à plus ou moins long terme de l'auxine sur l'expression génique, les ARNm extraits de tissus traités ou non par l'auxine ont été comparés en pratiquant l'électrophorèse des produits de leur traduction *in vitro*. Quinze minutes après le début du traitement, on met ainsi en évidence la présence d'ARNm dont la traduction donne des protéines « précoces ». Quelques heures après apparaissent les ARNm des protéines « tardives » ce qui signifie que l'auxine agit sur l'expression génétique en deux temps.

Modes d'action

Premier 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.

Second effet parallèle : l'auxine active la transcription de gènes « précoces » codant des facteurs de transcription dont les cibles sont les gènes dits « tardifs » et des enzymes destinées à dégrader ou à inactiver l'auxine. Les protéines « tardives » sont entre autres des substances indispensables au maintien de la croissance cellulaire (enzymes de synthèse des constituants pariétaux et membranaires, canaux potassiques, aquaporines...) puisque doivent être assurées l'augmentation surfacique de la paroi, du plasmalemme, du tonoplaste, et l'apposition de nouvelles couches de matériaux pariétaux, de manière à maintenir constante l'épaisseur de la paroi.

La croissance cellulaire s'achève lorsque la stimulation due à l'auxine disparaît (inactivation par des peroxydases..) ou lorsqu'une paroi secondaire inextensible se forme.

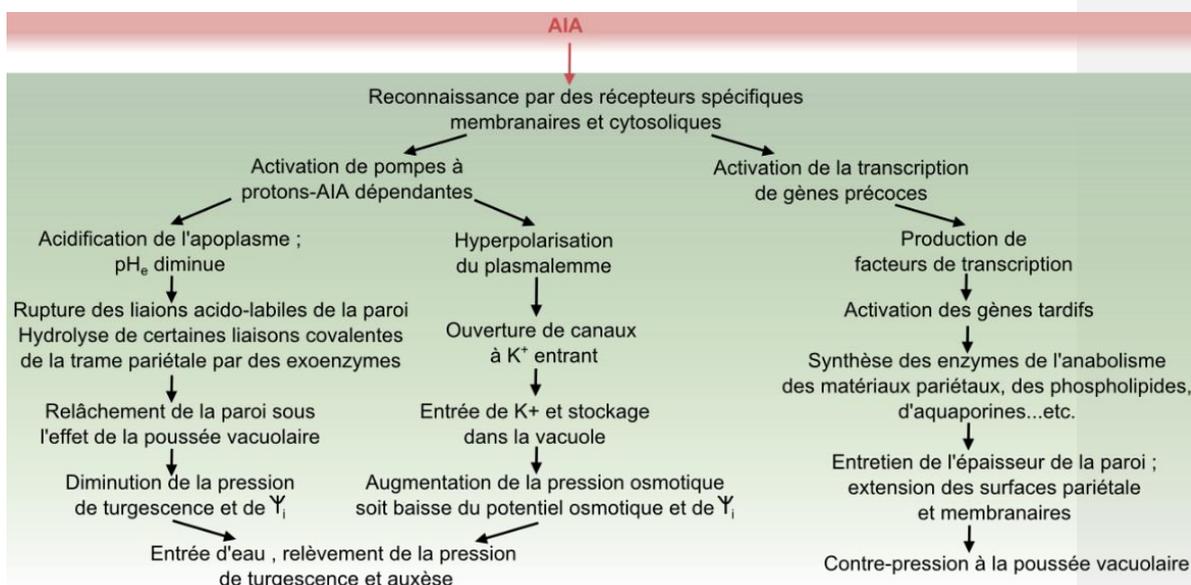


Figure 10 Les effets en cascades de l'auxine sur le grandissement cellulaire.

En résumé, l'auxine, par activation des pompes à protons du plasmalemme, provoque l'acidification de la paroi qui induit son relâchement et l'entrée corrélative d'ions K⁺ ; ces deux effets abaissent le potentiel hydrique de la cellule et provoquent l'entrée d'eau. Elle agit également sur l'expression génique en deux temps, en activant la transcription de gènes « précoces » puis celle de gènes « tardifs » qui concourent à l'entretien du grandissement (synthèse de nouveaux composés pariétaux et membranaires notamment).

IV. Un exemple de contrôle du développement par les facteurs biotiques : organogénèse racinaire et installation de mycorhizes.

Les facteurs biotiques et abiotiques du milieu influent sur le développement et participent à l'adaptation à la vie fixée.

-attribuer à des influences biotiques des modifications du développement.

On se limite à un des exemples vus en TP (mycorhize, nodosité) sans détailler les mécanismes.

L'influence des facteurs abiotiques n'est abordée qu'à partir du développement reproducteur.

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

Tout comme la tige principale, la racine principale ou primaire est mise en place par un méristème apical, le MAR. Celle-ci se ramifie assez rapidement par formation de racines secondaires au-dessus de la zone pilifère, racines dont l'architecture est la même que celle de la racine principale.

Certaines interactions avec des champignons ou des bactéries peuvent modifier la morphologie et donc l'organogenèse racinaire ; c'est le cas lors des racines mycorhizées ou de celles qui portent des nodosités.

Cas de mycorhizes :

La majorité des espèces ligneuses développent au niveau de leur système racinaire une symbiose avec les champignons du sol, ascomycètes et plus généralement basidiomycètes.

Dans l'exemple des arbres des régions tempérées, il s'agit le plus souvent d'ectomycorhizes. Le système racinaire comporte dans ce cas deux types de racines, des racines longues à croissances apicale et radiale (en épaisseur), recouvertes de liège, et des racines courtes, réparties tout le long des précédentes, à croissance apicale limitée (quelques millimètres) et recouvertes d'un manchon mycélien. La morphologie des mycorhizes varie selon les espèces entre des formes simples, ramifiées ou coralloïdes.

Etapes d'organogenèse :

1. La colonisation débute par un dialogue moléculaire entre les futurs partenaires avec émission d'auxine par les filaments mycéliens (hyphes) laquelle stimulerait la production de racines latérales (processus de rhizogenèse).
2. Les hyphes entrent alors en contact avec le rhizoderme, dans la zone d'élongation, empêchant ainsi sa différenciation en poils absorbants, et s'insinuent au sein des parois, entre les cellules les plus externes du parenchyme cortical sans jamais y pénétrer (réseau de Hartig).
3. Leur développement en surface conduit à la formation d'un manchon ou manteau fongique qui demeure relié aux hyphes du sol.
4. Cette colonisation fongique entraîne l'arrêt du fonctionnement du méristème apical racinaire et stoppe ainsi la croissance de la racine, d'où son aspect de racine courte.

D'un point de vue fonctionnel, l'absence de poils absorbants est compensée par l'étendue des hyphes qui assurent la mobilisation minérale depuis la solution du sol ainsi que la protection des racines en cas de sécheresse ou vis-à-vis d'agents pathogènes.

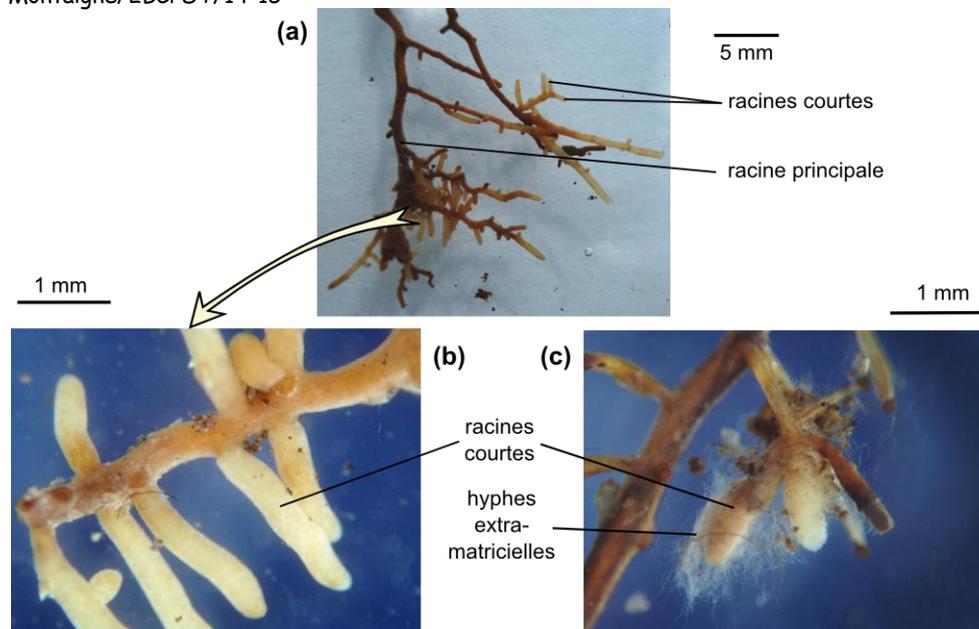


Figure Aspect général d'un système racinaire mycorhizé de chêne (a) et détail de racines courtes (b et c).

Bilan

Le développement post-embryonnaire de l'appareil végétatif des angiospermes comprend à la fois des processus quantitatifs (croissance) et des processus qualitatifs (apparition de tissus et d'organes nouveaux). La croissance en longueur des tiges et des racines a son origine dans l'activité mitotique de zones essentiellement apicales, les méristèmes primaires, déjà présents dans la plantule de la graine. Leurs cellules indifférenciées se divisent activement et produisent de nouvelles cellules qui, refoulées progressivement hors des territoires de mérése, donnent naissance à de nouveaux tissus et organes. Le méristème apical caulinaire est ainsi à la fois histogène et organogène. Il fonctionne de manière rythmique en initiant des unités élémentaires ou phytomères qui comportent chacune en fin de développement une feuille, un bourgeon axillaire et une portion de tige. Les lieux d'apparition des primordia foliaires sont définis en fonction de contraintes spatiales et biochimiques (compétition dans l'approvisionnement en auxine notamment) ; ils déterminent la disposition finale des feuilles ou phyllotaxie qui est propre à chaque espèce. Le fonctionnement continu des méristèmes primaires est responsable de la croissance indéfinie de l'appareil végétatif, une des réponses du végétal au mode de vie fixé.

Une fois formées, les nouvelles cellules grandissent par entrée d'eau dans leur vacuole et relâchement de la résistance opposée par la paroi. La synthèse de nouveaux matériaux pariétaux et cellulaires entretient le grandissement et permet de faire face à l'augmentation surfacique de la paroi et des membranes. Une phytohormone, l'auxine, contrôle plus particulièrement l'auxèse. A la fin du grandissement, les cellules se différencient et ce en fonction de leur position au sein des organes.

Toutefois certaines sont capables de se dédifférencier et d'engendrer de nouveaux territoires méristématiques, les méristèmes secondaires, qui contribuent à la croissance en

Partie II/chapitre II.E-2B

Montaigne/2BCPST/14-15

diamètre de la plupart des dicotylédones par production de tissus secondaires dont le bois. Les facteurs de l'environnement influencent grandement le développement de l'appareil végétatif. La plante développe ainsi des relations avec les microorganismes du sol comme les champignons. Dans le cas des essences ligneuses, ceux-ci colonisent en surface ou en profondeur les racines latérales, stoppant leur croissance et donnant naissance à des racines courtes ou mycorhizes dont les filaments mycéliens se substituent aux poils absorbants de la zone pilifère.

Ouverture :

Autre sensibilité à des facteurs environnementaux : tropismes (photo-, gravi-, thigmo-,...)

Le développement harmonieux du végétal repose aussi sur des corrélations informationnelles entre les différentes zones organogènes et plus généralement les différents organes, doublées ne l'oublions pas de corrélations nutritionnelles tout aussi importantes ...

Une idée à travailler : comparaison avec organogenèse animale....

