



Méristèmes et architecture des plantes

Jean-François Morot-Gaudry, Directeur de Recherches Honoraire de l'INRA, Membre de l'Académie d'agriculture de France

Patrick Laufs, Directeur de Recherches, INRA Versailles.

Manuscrit révisé le 9 mai 2014 - Publié le 22 mai 2014

Résumé : Contrairement au développement animal, le développement des plantes est un processus continu. Chez les plantes, le développement végétatif est très répétitif, produisant régulièrement par organogénèse et histogénèse de nouveaux organes et de nouveaux tissus. La croissance et le développement de la partie aérienne et de la partie souterraine des plantes sont déterminés par les méristèmes, tissus indifférenciés à partir desquels, de façon permanente et réitérée, de nouvelles cellules sont formées. En ce sens, les cellules méristématiques qui conservent des propriétés de cellules pluripotentes sont comparées à des cellules souches des animaux qui manifestent un comportement et une fonction analogue.

Il existe différents types de méristèmes, définis par leur position dans la plante. Par exemple, le méristème apical ou caulinaire de la tige (MAC), formé de différentes couches ou assises cellulaires bien définies (tunica et corpus), engendre de nouveaux organes comme les feuilles et les fleurs, tandis que le méristème apical de la racine (MAR) fournit les cellules assurant la croissance de la racine principale.

L'analyse de mutants dont la production des feuilles et des organes floraux est perturbée a permis d'élucider les bases génétiques et moléculaires des mécanismes de fonctionnement du MAC. Par exemple, l'expression du gène *MERISTEMLESS* (*STM*) apparaît essentielle pour l'établissement et le maintien du MAC, comme en témoignent les phénotypes de la perte de fonction des mutants *stm*, dans lequel le MAC ne parvient pas à se former. Un autre gène, le gène *WUSCHEL* (*WUS*) empêche la différenciation des cellules souches. Son expression est nécessaire à la structuration fonctionnelle du MAC. *WUS* est aussi une cible des gènes *CLAVATA* (*CLV*), gènes de signalisation cellulaires. *WUS* qui active la transcription de *CLV3* est réprimé par le gène *CLV1*. Les gènes *STM* et *WUS* codent des facteurs de transcription à homéodomaine, facteurs protéiques connus pour réguler la grande majorité des processus de développement.

Le fonctionnement du MAC est également indissociable de la ramification de la plante (Dominance apicale) et de la formation des feuilles dont la disposition autour de la tige (Phyllotaxie) n'est pas aléatoire et suit des lois géométriques propres à chaque espèce. Il s'en suit la formation régulière à la périphérie du MAC de zones de division cellulaire intenses (*initia*) qui se manifestent ensuite par un soulèvement de territoires cellulaires donnant lieu à l'émergence de primordia foliaires. L'organisation et le développement des primordia impliquent l'expression de nombreux gènes comme les gènes *ASYMMETRIC LEAVES* (*AS1*, *AS2*), *AINTEGUMENTA* (*ANT*) et *KNOTTED* (*KNOX*), etc. Enfin, la forme des feuilles (composées ou non) dépend également de l'activité des gènes associés à leur développement, gènes *KNOX* et *UNIFOLIATA* (*UNI*) par exemple.

L'analyse biochimique et génétique a mis en évidence l'importance des hormones dans le fonctionnement des méristèmes : cytokinines, gibbérellines et auxines. En effet, ces composés hormonaux favorisent la communication entre cellules et tissus, assurant ainsi un développement défini et coordonné. L'activité des méristèmes répond également aux facteurs environnementaux et dépend aussi de facteurs internes tels que la compétition entre les méristèmes.

L'identification d'un certain nombre de gènes cibles dont l'activité a été modifiée durant le processus de domestication des plantes (syndrome de domestication) pour permettre des changements

architecturaux : modification de la taille, de la ramification, du port des plantes, modifications souvent associés à un accroissement du nombre de graines (ou fruits) et à leur dispersion. Ces nouvelles données devraient permettre de sélectionner des gènes candidats nouveaux impliqués dans l'architecture des plantes de manière à les adapter aux nouvelles pratiques agronomiques.

English summary

Unlike animal development, plant development is an ongoing process. In plants, vegetative development is highly repetitive, producing the same or similar structures over and over again. Plant growth continues indefinitely, a phenomenon known as indeterminate growth.

Increase in length at the apex of shoot and root of plants is determined by meristems, undifferentiated tissue from which new cells are formed. Meristematic cells give rise to various organs of the plant and keep the plant growing. For example, the Shoot Apical Meristem (SAM) gives rise to organs such as leaves and flowers, while the Root Apical Meristem (RAM) provides cells for the root growth. The cells of the shoot and root apical meristems (SAM and RAM) divide rapidly and are considered to be indeterminate, in that they do not possess any defined end fate. In that sense, the meristematic cells are frequently compared to the stem cells in animals, which have an analogous behavior and function.

The shoot apical meristem SAM contains distinct zones and layers, an organizational pattern called zonation. The number of layers varies according to plant type. The outermost layers form the so-called *tunica* while the innermost layers the *corpus*. Cells at the shoot apical meristem summit serve as stem cells to the surrounding peripheral region, where they proliferate rapidly and are incorporated into differentiating leaf or flower *primordia*.

Maintenance of apical meristem activities presents a well-studied example of genetic interactions, especially in the case of the shoot apical meristem. For example, the expression of *MERISTEMLESS (STM)* gene appears essential for establishment and maintenance of the SAM, as demonstrated by the phenotypes of *STM* loss-of-function mutants, in which the SAM fails to form. *STM* acts to prevent the differentiation of stem cells. Another important gene in plant meristem maintenance is the *WUSCHEL (WUS)* gene. *WUS* is expressed in the cells below the stem cells of the meristem and its activity prevents the differentiation of the stem cells. *WUS* is a target of *CLAVATA (CLV)* gene signaling. *WUS* is repressed by *CLV1* gene, which acts to promote cellular differentiation. The *WUS* and *STM* genes encode homeodomain transcription factors. For the vast majority of developmental processes that has been modeled in detail, transcription factors thus play the most prominent role.

During their development, plants continuously generate organs at the flanks of their shoot apical meristems. The patterns in which these organs are initiated, also called patterns of phyllotaxis, are highly stereotypic and characteristic for a particular species and developmental stage. This stable, predictable behaviour of the meristem has led to the idea that organ initiation must be based on simple and robust mechanisms. This conclusion is less evident, however, if we consider the very dynamic behaviour of the individual cells. How dynamic cellular events are coordinated and how they are linked to the regular patterns of organ initiation is a major issue in plant developmental biology.

When the shoot apex prevents the growth of lateral buds, the plant may grow vertically. This phenomenon is called apical dominance. The apical dominance is a phenomenon where one meristem prevents or inhibits the growth of other meristems. As a result the plant will have one clearly defined main trunk. If the dominant meristem is cut off, one or more branch tips will assume dominance. The branch will start growing faster and the new growth will be vertical. The mechanism of apical dominance is based on the plant hormone auxin. It is produced in the apical meristem and transported towards the roots. Recent investigations into apical dominance and the control of branching have revealed a new plant hormone family termed strigolactones. These compounds were previously known to be involved in seed germination and communication with mycorrhizal fungi and are now shown to be involved in inhibition of branching.

Auxin levels also influence leaf initiation. Immunolocalization studies of PIN-type auxin efflux transporters have provided compelling evidence that auxin movement is directly related to leaf initiation events. Based on the pattern of PIN gene expression and the asymmetric distribution of the protein in the cell, it has been possible to infer the likely direction of auxin movements in shoot apex. Detailed analyses of this sort indicate that the leaf *primordia* are likely to form when auxin movements converge to create local concentration maxima. These local peaks of auxin response are associated with or trigger changes in gene expression and cellular behavior that lead to organ *primordium* outgrowth. In particular, a boundary domain separating the organ *primordium* from the meristem is set-up and the organ *primordium* is patterned into abaxial and adaxial domains (respectively the ventral and dorsal parts of leaves).

After their initiation, leaf *primordia* grow out and their cells go through different stages such as cell division, cell expansion (often associated with endoreduplication, a process during which the DNA content increases without cell division) and finally cell differentiation. During the early stages of leaf *primordia* development, the leaf set up its basic shape, which can be either simple or compound (when leaflets are formed such as in the case of tomato or horse chestnut). The margin of the leaf or leaflet can itself be either dissected into lobes or teeth or remain smooth. The genetic control behind the outgrowth of the leaf margin that leads to either leaflet formation or margin dissection makes use of several actors (such as differential auxin response, or genes) that also control leaf *primordium* initiation from the meristem.

There are growing evidences that the regulators that have been described above could have been targeted during the course of evolution to produce plant species with different architectures. These regulators and others have also been targeted during domestication, an ongoing process that transformed in a few thousand years the wild relative ancestors into the modern agronomical plants that are the basis of human survival through the production of food, fibers, fuel...

Listes des principaux gènes impliqués dans le développement des végétaux

- Le gène **AG (AGAMOUS)** est exprimé dans la fleur en développement. Il détermine la fonction C dans le modèle de contrôle de l'identité florale ABC (il contribue ainsi à l'identité des étamines et carpelles). De plus il participe au caractère déterminé de la fleur.
- Le gène **ANT (AINTEGUMENTA)** est associé à la croissance et à la prolifération des cellules du *primordium*.
- Les gènes **ARR (ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR)** codent des régulateurs négatifs de la voie de signalisation des cytokinines.
- Les gènes **AS1, AS2 (ASYMMERIC LEAVES)** sont exprimés très précocement dans les *primordia* foliaires et jouent le rôle de régulateurs négatifs des gènes **KNOX**.
- Les gènes **CLV1 à 3 (CLAVATA1, 2 ou 3)** correspondent à des mutants manifestant un méristème apical caulinaire énorme et dont les fruits présentent une forme de « massue ». Ces gènes sont impliqués dans le contrôle du volume (nombre de cellules) du MAC. Les gènes **CLV1, -2 et -3 et WUS** font partie d'une boucle de régulation qui maintient la fonction des cellules souches et la taille de cette population.
- Les gènes **CUC (CUP-SHAPED COTYLEDON)** sont exprimés dans un domaine frontière autour des *primordia* d'organes sur les flancs du méristème. Leur inactivation conduit à des fusions entre organes.
- Le gène **fw2.2** identifié chez la tomate régule la prolifération cellulaire dans le fruit en permettant une augmentation de taille de ce dernier.

- Les gènes *KNOXI* (*Knotted1- like homeobox*) sont impliqués dans la maintenance du MAC et de la régulation de la formation des feuilles. Le gène *STM* appartient à la famille des gènes *KNOX*. Les protéines *KNOXI* interagissent avec les voies hormonales, principalement les cytokinines, gibbérellines et l'auxine.
- Le gène *LFY* (*LEAFY*) contrôle l'expression des gènes homéotiques d'identité des organes floraux. Lorsqu'il est inactivé les fleurs sont remplacées par des inflorescences
- Le gène *OsCKX2* est impliqué chez le riz dans la dégradation des cytokinines, conduisant ainsi à une moindre activité méristématique.
- Le gène *OsSPL14* est impliqué dans la création de « super riz ».
- Les gènes *PIN* sont impliqués dans le transport d'efflux de l'auxine. Ils codent des protéines membranaires qui exportent l'auxine hors des cellules.
- Les gènes *PLT1 et PLT2* (*PLETHORA1 et 2*) codent des facteurs de transcription nécessaires au développement racinaire en définissant le centre quiescent et en régulant la différenciation cellulaire.
- Le gène *sd-1* (*semi-dwarf-1*) code une enzyme de la voie de synthèse des gibbérellines et réduit en conséquence la taille des pailles de riz.
- Le gène *qSH1* code un orthologue du gène *RPL* (*REPLUMLESS*) et serait impliqué dans l'abscission des grains de riz.
- Les gènes *Rht* (*Reduced height*) codent des facteurs de transcription qui induisent une répression de la croissance. Ils sont dégradés en présence de gibbérellines qui induisent ainsi la croissance. Des mutations stabilisant les protéines *Rht* sont associées à une réduction de la taille des pailles de blé.
- Les gènes *SCR* (*SCARECROW*) et *SHR* (*SHORTROOT*) sont des gènes nécessaires à la division asymétrique de l'initiale cortico-endodermique racinaire, aboutissant à la formation de deux cellules, l'une à l'origine du cortex et l'autre à l'origine de l'endoderme de la racine.
- La mutation du gène *STM* (*SHOOT MERISTEMLESS*) conduit à une absence de formation de méristème. Ce gène est essentiellement impliqué dans la mise en place et le maintien du MAC, assurant la conservation des cellules du MAC dans un état indifférencié (cellules souches). Le gène *STM* bloque la différenciation des cellules et induit fortement les divisions cellulaires.
- Le gène *tb1* code chez le maïs un facteur de transcription connu pour jouer un rôle répresseur de la prolifération cellulaire. Une augmentation de l'expression de ce gène dans les méristèmes axillaires a contribué à la modification de l'architecture de la téosinte aboutissant à la création du maïs.
- Le gène *UNI* (*UNIFOLIATA*) est l'orthologue de *LFY* chez le pois. Comme pour *LFY*, l'inactivation d'*UNI* conduit à la disparition des fleurs mais aussi à une simplification de la feuille composée de pois. Ainsi, *UNI* joue un rôle dans la formation des folioles des feuilles composées chez le pois.
- Le gène *WOX5* code un facteur de transcription de la même famille que *WUSCHEL*, permettant de positionner le centre quiescent au centre et à l'extrémité de la racine.
- Le gène *WUS* (*WUSCHEL*) correspond au mutant « ébouriffé » qui ne conserve pas de méristème apical, manifestant un retard dans l'apparition des feuilles associé à la présence d'ébauches foliaires dans la zone centrale. Son expression est nécessaire à la structuration fonctionnelle du MAC. Le gène *WUS* confère aux cellules du MAC leurs caractères de cellules souches.

1 Introduction

La croissance et le développement des plantes et des animaux sont fondamentalement différents. Chez les plantes, au cours du développement embryonnaire (formation d'un organisme pluricellulaire à partir de la cellule-œuf), seul un individu très rudimentaire est mis en place. Après la germination, la plantule se développe continuellement et indéfiniment par organogenèse et histogenèse, produisant sans cesse de nouveaux organes (racines, tiges, feuilles, fleurs) et de nouveaux tissus. Chez la plupart des animaux au contraire, le plan d'organisation de l'organisme se met essentiellement en place lors du développement embryonnaire, la phase post-embryonnaire du développement des animaux étant marquée essentiellement par l'augmentation de la taille et de la masse d'organes préexistants. Ainsi, chez les végétaux le développement et la croissance sont continus et indéfinis alors qu'on parle de croissance définie dans le cas des animaux.

2 Plan d'organisation d'une plante

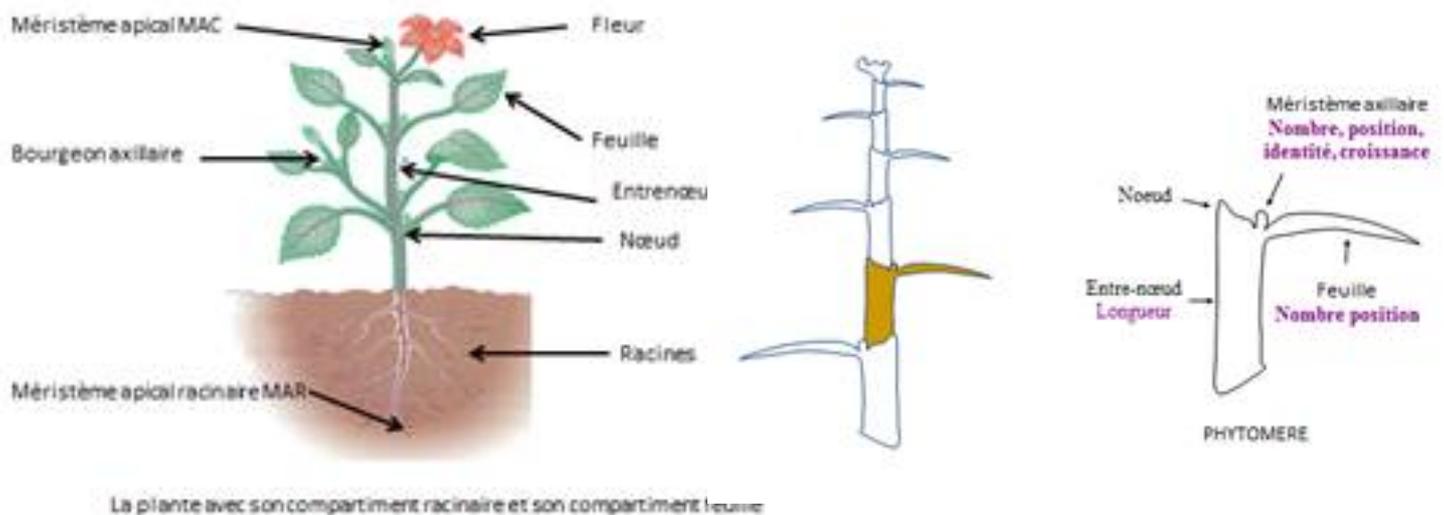


Figure 1. Coupe longitudinale de la racine. Plan d'organisation d'une plante (Alain Gallien 2013). Structure de la tige en phytomères. Chaque phytomère est constitué d'un segment de tige (entre-nœud) et d'un nœud portant une ou plusieurs feuilles. Chaque feuille porte à son aisselle un méristème axillaire.

L'architecture d'une plante évolue constamment au cours de sa croissance et de son développement. Toutefois, des modules répétitifs élémentaires construits sur le même modèle peuvent être reconnus dans la partie aérienne de la plante. Chacun de ces modules, appelé phytomère (du grec *phyton* φυτόν, végétal et *méris* μέρος, portion, partie), est composé d'un segment de tige, l'entrenœud, et d'un nœud portant une ou plusieurs feuille(s) et un méristème axillaire à l'aisselle de chaque feuille. La disposition des feuilles de chaque phytomère le long de la tige, ou phyllotaxie (du grec *phyllo* φύλλον, feuille, et *taxis*, τάξις, organisation), n'est pas aléatoire et suit des lois géométriques propres à chaque espèce et au stade de développement. Ce mode de développement modulaire et itératif n'empêche pas une grande variété de formes. Les changements de phyllotaxie et la plasticité de développement de chaque élément du phytomère (comme par exemple la longueur de l'entre nœud, ou le niveau de croissance des méristèmes axillaires) modulent l'architecture de la plante et contribuent à son adaptation aux conditions environnementales locales et à son mode de vie fixé (Figure 1a et 1b).

La partie souterraine de la plante est constituée de l'appareil racinaire, portant racines primaires et secondaires. La racine primaire ou principale manifeste un gravitropisme positif, c'est-à-dire que sa croissance est orientée vers le sol. Les racines secondaires sont disposées le long de la racine principale et poussent à l'oblique ou à l'horizontale ; elles ont une disposition moins stéréotypée que les feuilles et les fleurs, tout en ayant cependant une croissance régulée.

3 Méristèmes : définition

La croissance des plantes est assurée par des zones tissulaires privilégiées, les **méristèmes** (du grec *merizein* μέρίζειν, se diviser), petits massifs de cellules indifférenciées qui conservent des propriétés de cellules pluripotentes. Initialement formés dans l'embryon, les méristèmes sont à l'origine de toutes les structures de la plante. Les cellules méristématiques sont petites, isodiamétriques et à paroi fine. Certaines cellules du tissu méristématique restent quiescentes alors que d'autres se multiplient activement (par mitose) lors de la formation des tissus ou l'apparition de nouveaux organes.

Les cellules du méristème peuvent être considérées comme des cellules livrant de façon permanente et réitérée le matériel cellulaire nécessaire à la croissance de l'organisme. Les cellules méristématiques ont des fonctions analogues à celles des cellules souches chez les animaux : elles sont peu ou pas du tout différenciées et sont capables de se diviser indéfiniment. Toutefois, la différence existant entre les cellules souches et les cellules spécialisées, c'est-à-dire celles qui n'ont plus le potentiel de différenciation des cellules souches, est beaucoup moins marquée chez les plantes. De nombreuses cellules différenciées des plantes sont capables en effet de se dédifférencier et de reconstruire de nouveaux tissus ou organes. Le bouturage est un exemple de ces capacités, puisqu'il nécessite la formation de racines (et donc de méristèmes racinaires indifférenciés) à partir de tiges ou de feuilles.

4 Les différents types de méristèmes

On distingue habituellement les **méristèmes primaires** qui assurent la croissance de la plante en longueur au niveau de la tige et des racines, et les **méristèmes secondaires**, responsables de la croissance en épaisseur de certains organes (dits à croissance secondaire) chez certaines plantes (le tronc des arbres par exemple). Les méristèmes primaires, localisés aux extrémités des tiges et des racines, apparaissent en premier au cours du développement de l'embryon (on les trouve aussi dans les bourgeons axillaires, à l'aisselle des feuilles). Les méristèmes secondaires (cambium et phelloderme), à l'origine des tissus dits secondaires (phloème et xylème secondaires, liège), apparaissent plus tardivement. Les méristèmes secondaires existent chez tous les Spermaphytes à l'exception des Monocotylédones.

Lors de la phase post-embryonnaire, le **méristème apical caulinaire (MAC)** est tout d'abord végétatif ne produisant que des feuilles. Sous l'effet de signaux endogènes et environnementaux comme la photopériode, le MAC se transforme en un méristème d'inflorescence produisant des fleurs. Les méristèmes de la partie aérienne sont à la fois organogènes et histogènes puisqu'ils génèrent non seulement les tissus de la tige, assurant sa croissance en longueur, mais aussi de nouveaux organes tels que feuilles et organes floraux. Le **méristème apical racinaire (MAR)** en revanche n'est qu'histogène et ne donne naissance qu'aux tissus de la racine principale. Les racines secondaires sont initiées le long de la racine principale indépendamment de son méristème apical.

Dans cet article, nous nous intéresserons essentiellement au méristème caulinaire.

4.1 Structure du méristème caulinaire

Le méristème apical primaire caulinaire peut être divisé en couches ou en domaines (Laufs et al., 1998).

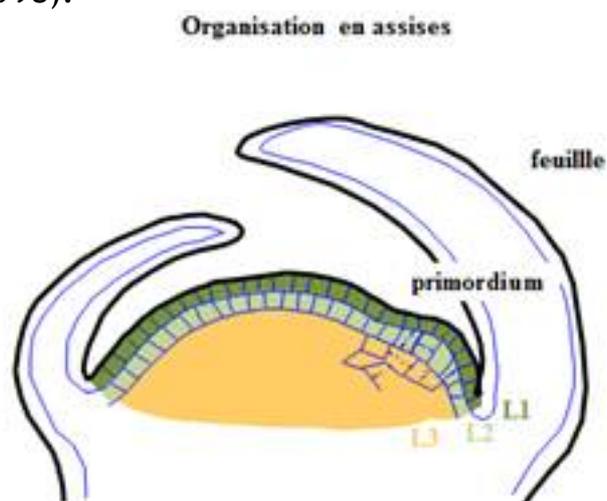


Figure 2. Organisation d'un méristème caulinaire MAC en couches L1, L2 et L3. Ensembles, les couches L1 et L2, forment la *tunica* et subissent des divisions anticlines, en revanche la couche L3 ou *corpus*, constituée de plusieurs couches de cellules, ne présente pas d'orientation préférentielle des plans de division cellulaire.

Une première représentation du méristème (Figure 2) consiste en une représentation en **couches ou assises**. Les couches L1 et L2, les plus externes, subissent toutes deux des divisions anticlines (plan de division perpendiculaire à la surface de l'organe) et forment la *tunica* du méristème, tandis que la couche L3, formée de plusieurs couches de cellules, présentant des divisions à la fois anticlines et périclines (plan de division parallèle à la surface), constitue le *corpus* du méristème, sorte de massif plus ou moins volumineux. La couche L1 donne naissance à l'épiderme, la couche L2 est à l'origine des parenchymes chlorophylliens de la feuille et des tissus sporogènes des étamines, la couche L3 contribue au développement des tissus vasculaires et des parenchymes associés de la feuille et de la tige. Les couches cellulaires de même nature sont maintenues ensemble par la limitation des orientations des divisions cellulaires. S'il arrive toutefois qu'une division péricline ait lieu dans la L1 ou la L2, poussant alors une des cellules dans une nouvelle couche cellulaire, cette cellule adoptera l'identité de sa nouvelle couche (Figure 2). Ceci met en évidence l'importance de l'information positionnelle dans la détermination de l'identité et du comportement des cellules de ces couches.

Une autre représentation du méristème consiste à le diviser en **zones ou domaines** selon les caractéristiques et la fonction des cellules. Les cellules de la zone centrale (ZC) possèdent une faible activité mitotique et sont des cellules totalement indifférenciées (cellules souches). Celles-ci se divisent et sont poussées vers la zone périphérique (ZP) du méristème par la croissance globale du méristème. Les cellules de cette zone périphérique sont plus actives et forment des *primordia* foliaires qui donneront les feuilles et les organes floraux (rôle organogène du méristème) ainsi que les cellules à l'origine des tissus de l'écorce et des tissus conducteurs. Sous la zone centrale se trouve le méristème médullaire, qui assure la création du parenchyme (différenciation des cellules de la tige en croissance). Son rôle est essentiellement histogène (Figure 3a et 3b).

En résumé, le méristème apical caulinaire remplit deux fonctions : il maintient une réserve de cellules souches tout au long de la vie de la plante assurant un développement indéfini et il produit de nouveaux organes selon une disposition stéréotypée.

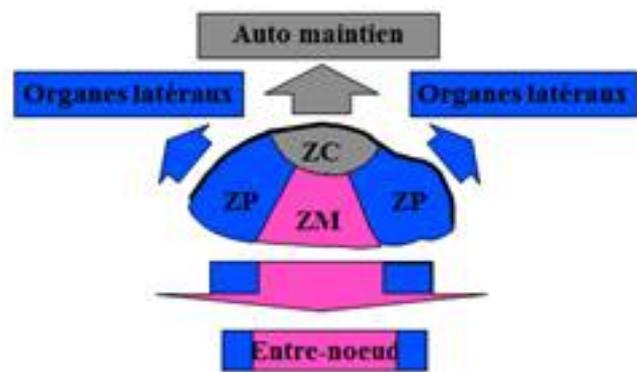
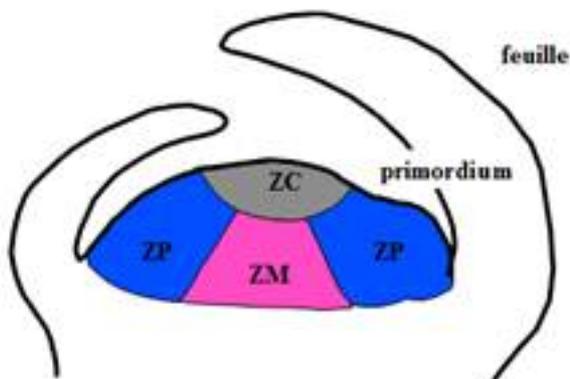


Figure 3 a et b : Organisation en zones ou domaines d'un méristème apical : ZC - zone centrale; ZP - zone périphérique; ZM - méristème médullaire. La zone centrale située au sommet du méristème, à activité mitotique faible, est à l'origine de cellules indifférenciées, les cellules souches. Cette zone assure l'auto-maintien du méristème. La zone périphérique ZP, formant un anneau autour du méristème, à forte activité mitotique, est le site d'initiation des feuilles, des organes floraux et des bourgeons axillaires. La zone médullaire donne naissance aux tissus internes de la tige.

4.2 Structure du méristème racinaire MAR

La croissance en longueur des racines est assurée par un méristème apical abrité sous la coiffe racinaire (Arnaud et al., 2010). Les cellules qui en dérivent s'allongent dans la zone d'élongation

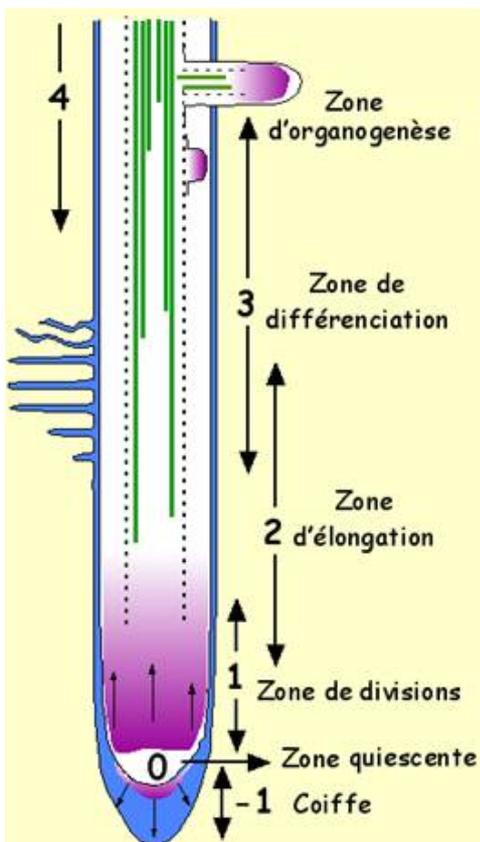


Figure 4 : Système racinaire (Roger Prat et Jean-Pierre Rubinstein, Université Paris VI). Zone 1 : zone de divisions cellulaires ; zone 2 : zone d'élongation ; zone 3 : zone de différenciation cellulaire ; zone 4 : zone d'organogenèse ou de maturation où apparaît l'émergence des racines secondaires. Les initiales sont situées autour du centre quiescent ou zone quiescente ZQ et se divisent pour produire les tissus racinaires.

située juste en arrière de l'apex. Le méristème racinaire (MAR) produit la racine principale en continuité avec la partie aérienne de la plante. Le MAR donne naissance uniquement aux tissus de la racine principale : de ce fait il est seulement histogène (Figure 4).

Le MAR, à l'extrémité de la racine, sous la coiffe, est caractérisé par un centre quiescent qui maintient l'identité des cellules souches (les initiales) par contact cellulaire direct, assurant ainsi un nombre restreint de cellules souches toujours localisées à l'extrémité de la racine. Si les initiales sont endommagées, les cellules du centre quiescent entrent alors en division cellulaire et produisent de nouvelles initiales.

Contrairement au MAC, le MAR n'intervient pas dans la formation des organes latéraux. Les racines secondaires émergent, pendant le développement post-embryonnaire, par dédifférenciation et reprise de croissance de certaines cellules du péricycle, situées en face des faisceaux de xylème. Les ramifications racinaires se forment à partir d'un massif initial

interne, se développant en une ébauche qui rompt les tissus corticaux et fait saillie à l'extérieur. Le processus est sensiblement le même pour la néoformation des racines adventives. Le développement de nouvelles racines (rhizogénèse) comporte donc une phase de dédifférenciation de cellules internes suivie d'une reprise de l'activité méristématique.

5 Contrôle génétique du fonctionnement des méristèmes

5.1 Méristème caulinaire MAC

L'obtention de mutants et l'analyse de leur phénotype ont permis d'identifier toute une série de gènes dont l'expression *in situ* permet le repérage de populations cellulaires impliquées dans leur fonctionnement et développement. Nous ne décrivons dans cet article que les gènes *STM*, *WUS* et *CLV* (Tucker et Laux, 2007 ; Brand et al., 2001).

Le gène *STM* (*SHOOT MERISTEMLESS*) par exemple est un gène dont le nom signifie que son inactivation conduit à une absence de formation de méristème. Il s'exprime dans toutes les cellules méristématiques dès la fin du stade globulaire de l'embryon. Il est essentiellement impliqué dans la mise en place et le maintien du MAC, assurant la conservation des cellules du MAC dans un état indifférencié (cellules souches). Le gène *STM* (de la famille *KNOTTED* ou *KNOX*) code une protéine à homéodomaine (domaine protéique d'une soixantaine d'acides aminés capable de se lier à l'ADN) qui bloque la différenciation cellulaire. *STM* s'exprime uniquement dans le méristème et non dans les ébauches foliaires.

Le gène *WUS* (*WUSCHEL*) correspond au mutant « ébouriffé » qui ne conserve pas de méristème apical, manifestant un retard dans l'apparition des feuilles associé à la présence d'ébauches foliaires dans la zone centrale. Ce gène est exprimé précocement dans un petit nombre de cellules du MAC, à la base de la zone centrale, situées en profondeur dans la couche L3. Son expression est nécessaire à la structuration fonctionnelle du MAC. Il code une protéine à homéodomaine qui maintiendrait les cellules souches de la zone centrale dans un état indifférencié, non organogène.

En résumant on peut dire que le gène *STM* bloque la différenciation des cellules et induit fortement les divisions cellulaires. Le gène *WUS* en revanche ne joue aucun rôle au niveau de la prolifération cellulaire mais il confère aux cellules leurs caractères de cellules souches. Si les deux gènes agissent indépendamment l'un de l'autre, activant des programmes génétiques différents, ils coopèrent cependant pour maintenir le MAC fonctionnel.

Les gènes *CLV1*, *CLV2* et *CLV3* (*CLAVATA1*, *2* ou *3*) correspondent à un mutant manifestant un méristème apical énorme et dont les fruits présentent une forme de « massue ». Ces gènes sont impliqués dans le contrôle du volume (nombre de cellules) du MAC. Chez les mutants *clavata*, tous semblables phénotypiquement, le méristème devient considérablement élargi, voire géant, en raison de l'accumulation excessive de cellules souches. Cela suggère que, dans un méristème de type sauvage où le nombre de cellules souches doit être réduit à un petit nombre, le gène *CLV3* régulerait le nombre de cellules dans la zone centrale (Figure 5 a et 5b). *CLV3* est un gène qui code une petite protéine extracellulaire mobile *CLV3* qui se fixe au dimère *CLV1-CLV2*, un récepteur kinase. L'activation de cette voie de signalisation entraîne une cascade de réactions qui inhibe en particulier l'expression du gène *WUS* qui lui-même régule positivement la transcription de *CLV3*. Il a été montré récemment que le produit du gène *WUS*, la protéine

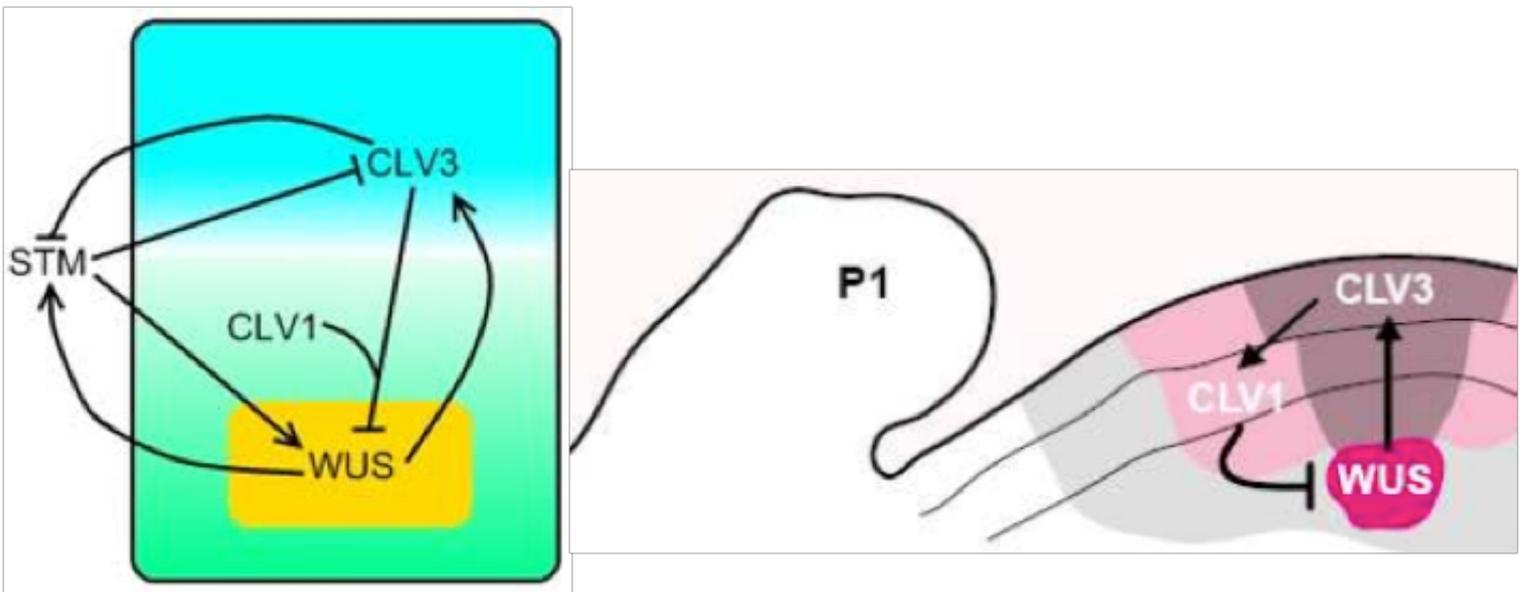


Figure 5a et b : Boucle de rétro-action des gènes *CLV1*, -2 et -3, *WUS*.

WUSCHEL, passe d'une cellule à l'autre par les plasmodesmes (communications intercellulaires traversant la paroi). Cette protéine induit l'expression du gène *CLV3* dans les couches L1 et L2 du méristème. Ainsi, le maintien de la fonction des cellules souches, en particulier de la régulation de la taille de cette population, dépend d'une boucle de rétroaction impliquant les gènes *CLV1*, 2 et 3 et *WUS*.

5.2 Méristème floral

Après initiation de la floraison, le méristème végétatif devient inflorescentiel, produisant des méristèmes floraux sur ses flancs. A la différence du MAC, les méristèmes floraux donnent naissance généralement à un nombre limité d'organes comme les pétales ou les étamines. La croissance du **méristème floral** est donc définie, ce qui est la conséquence d'une utilisation de la réserve de cellules souches de la zone centrale après l'initiation des différents organes floraux. Le renouvellement des cellules souches de la zone centrale du méristème floral est interrompu suite à l'inhibition de l'expression du gène *WUS* par le gène *AGAMOUS* (*AG*) exprimé dans la fleur en développement.

6 L'initiation des feuilles

Le fonctionnement du MAC est indissociable de l'organogenèse foliaire. Pendant la croissance végétative le MAC fonctionne de façon indéfinie. Ceci se traduit par l'émission régulière de feuilles qui ont en revanche chacune une croissance finie. Lors de ces événements, se mettent en place à la périphérie du MAC des zones de divisions cellulaires intenses qui sont le lieu d'initiation d'organes appelées *initia* (*initium* au singulier) qui après des divisions cellulaires périclines provoquent un soulèvement du territoire cellulaire donnant lieu à l'émergence de *primordia* (*primordium* au singulier) foliaires.

L'organisation et le développement des *primordia* impliquent l'expression de nombreux gènes : *AS1*, *AS2* (*ASYMMETRIC LEAVES*), *KNOX* (*KNOTTED*), *ANT* (*AINTEGUMENTA*). qui codent des facteurs de transcription régulant le développement de la plante (Figure 6).

Une des premières étapes de la formation d'un primordium est la disparition de l'expression du gène *STM* d'un petit groupe de cellules du méristème. Cette répression est contrôlée par l'accumulation locale dans ces cellules d'une phytohormone l'auxine. Les cellules du jeune

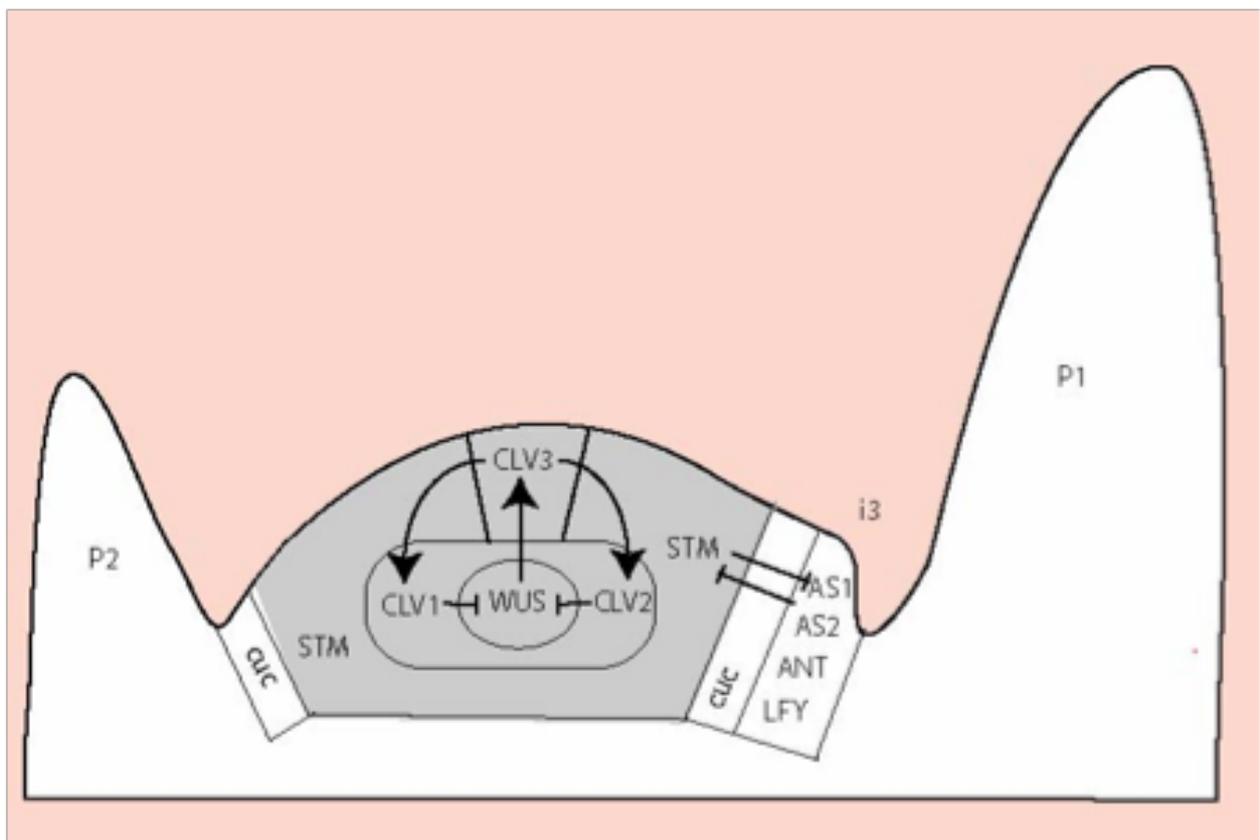


Figure 6 : Contrôle génétique du fonctionnement du méristème apical caulinaire et des ébauches foliaires (R Prat, Dunod 2009). P1, P2 et i3 représentent les *primordia* d'organes latéraux (P1 est le plus ancien, P2 est plus récent, i3 est encore un *initium*). Dans l'*initium* : le gène *STM* n'étant plus exprimé dans ce groupe de cellules, les gènes *AS1* et *AS2* puis *ANT* et *LFY* s'expriment librement. Le *primordium* est séparé du méristème par une frontière exprimant les gènes *CUC1*, *CUC2* et *CUC3*.

STM : *SHOOTMERISTEMLESS*; *WUS* : *WUSCHEL*; *CLV* : *CLAVATA*; *AS* : *ASYMMETRIC LEAVES*; *ANT* : *AINTEGUMENTA*; *LFY* : *LEAFY*; *CUC* : *CUP-SHAPED COTYLEDON*.

primordium expriment alors les gènes *AS1* et *AS2* qui répriment à leur tour l'expression de certains gènes *KNOX*. Les cellules du *primordium* expriment ensuite fortement le gène *AINTEGUMENTA* (*ANT*), gène associé à la croissance et à la prolifération des cellules du *primordium*.

Parallèlement, le groupe de cellules fondatrices des *primordia* se sépare des cellules méristématiques par la mise en place d'une frontière caractérisée par l'arrêt de la prolifération cellulaire et par l'expression des gènes *CUP-SHAPED COTYLEDON* (*CUC1*, *CUC2*, *CUC3*). Ces gènes réprimeront la croissance des cellules du domaine frontière.

La croissance du *primordium* s'accélère ensuite, grâce à une intense activité mitotique se traduisant par de nombreuses divisions périclines associées à une forte expansion cellulaire.

7 Communication intracellulaire et fonctionnement des méristèmes

7.1 Méristème caulinaire MAC

Nous avons vu que le méristème apical caulinaire des Angiospermes est composé de plusieurs populations de cellules qui manifestent des propriétés distinctes en termes de prolifération et de synthèse protéique. Pour assurer un développement défini et coordonné, ces cellules communiquent les unes avec les autres, échangeant des signaux de type hormonal principalement : cytokinines, gibbérellines et auxine (Shani et al., 2006).

Les **cytokinines (CK)** sont des petites molécules dérivées de l'adénine qui stimulent la division cellulaire. Les cytokinines sont produites dans quelques cellules à l'apex du MAC et diffusent aux alentours de ce dernier, probablement *via* l'apoplasme (continuum cellulaire formé par les cellules des parois). Elles jouent un rôle crucial dans le maintien du MAC en stimulant l'expression du gène *STM* et de certains autres gènes de la famille *KNOX*. Tout ce système de régulation est très complexe car la synthèse des cytokinines est dépendante des gènes *WUS* et *KNOX* : les protéines *KNOX* sont connues également pour activer certaines étapes de la biosynthèse des cytokinines et le gène *WUS*, en réprimant l'expression des gènes *ARR* (*ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR*), régulateurs négatifs de la voie de signalisation des cytokinines, stimulerait aussi indirectement la voie de signalisation des cytokinines.

Les **gibbérellines (GA)** sont des hormones qui jouent un rôle positif dans l'expansion cellulaire. Les gibbérellines sont produites en quantité importante dans les *primordia*. Les protéines *KNOX* inhibent leur biosynthèse et la protéine *STM* stimule leur dégradation à la frontière entre méristème et *primordia*, limitant ainsi leur diffusion vers le méristème.

Par ailleurs, cytokinines et gibbérellines ont des effets antagonistes et s'inhibent mutuellement. Le rapport entre cytokinines et gibbérellines peut ainsi participer au contrôle du fonctionnement du méristème.

L'**auxine** ou **acide indole 3-acétique (AIA)** qui régule la division, la différenciation et l'élongation cellulaire, joue également un rôle déterminant dans la mise en place des méristèmes apicaux racinaire et caulinaire lors de l'embryogenèse et dans l'initiation des nouveaux organes au niveau du MAC (Bohn-Courseau, 2010). L'accumulation localisée d'auxine dans la zone périphérique est par exemple indispensable à l'initiation des *primordia*. Il est observé que l'auxine est transportée vers la zone méristématique où elle s'accumule dans les *primordia* foliaires qui se montrent être des puits d'auxines très actifs. En conséquence, la concentration d'auxine est moins élevée dans les cellules à proximité des *primordia* que dans ces derniers. Seules les régions les plus éloignées des *primordia* en formation sont alors capables d'accumuler à nouveau de l'auxine, ce qui permet l'initiation à distance de nouveaux *primordia*. Ces nouveaux *primordia* accumulent de l'auxine à leur tour, etc. Ce système itératif est à la base de la phyllotaxie qui est initiée dans le méristème. Les modifications de gradients

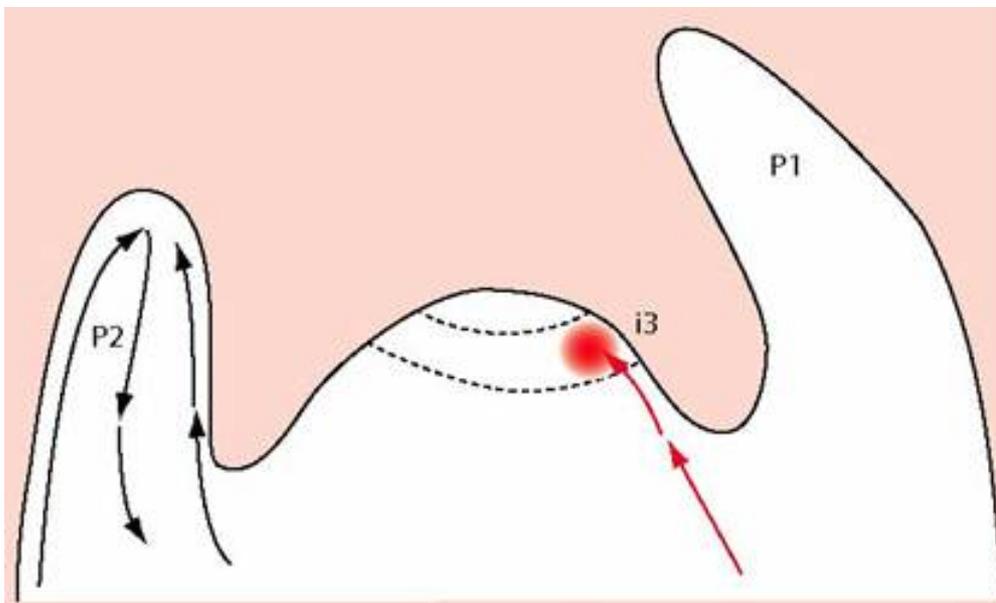


Figure 7 : Modèle du rôle du transport polarisé de l'auxine dans l'initiation des organes latéraux au niveau du MAC (R Prat, Dunod 2009). L'auxine est transportée par PIN1 (flèches rouges) dans la couche L1 vers la zone périphérique. L'auxine s'y accumule localement et déclenche la formation d'un *initium* *i3* qui se développe en *primordium*. L'auxine ensuite est évacuée en profondeur par les faisceaux pro-vasculaires (flèches noires dans P2).

d'auxine déterminent donc le développement cellulaire des méristèmes. La situation est complexe car l'auxine est connue également pour inhiber l'expression des gènes *KNOX* dont *STM* et activer l'expression de gènes impliqués dans la différenciation (Figure 7).

Lors de l'établissement de gradients d'auxine, cette phytohormone est transportée dans la plante par des transporteurs protéiques spécifiques, les transporteurs d'influx (*AUX/LAX*) et d'efflux (*PIN*). Les recherches actuelles portent en particulier sur les mécanismes contrôlant la distribution de *PIN1* dans le méristème. Il est supposé que le transporteur *PIN1* (transporteur d'efflux) change de localisation sur les faces de la cellule et s'oriente en fonction du gradient local d'auxine.

Il faut garder en mémoire que l'auxine agit également sur toutes les autres hormones ce qui complique les schémas d'interprétation de leurs modes d'action et de leurs interactions.

Comme tout système en croissance, le méristème est soumis à des forces physiques. Le biomécanicien Paul B. Green a suggéré que la compression exercée par la croissance de l'apex déclenche des déformations mécaniques de la *tunica* (Green et al., 1996). Ces forces physiques pourraient aussi participer à la coordination des fonctions du méristème. Des données récentes suggèrent des interconnexions entre les signaux mécaniques et les voies de signalisation hormonales.

Comme nous l'avons vu, plusieurs signaux, génétiques, hormonaux et physiques, agissent sur l'activité de prolifération et de différenciation des cellules. Les signaux perçus par une cellule constituent une information sur sa position au sein du méristème et orientent le devenir cellulaire. Il a été montré qu'au sein du méristème, le devenir de chaque cellule dépend plus de sa position que de son lignage cellulaire. L'information de position qui détermine l'identité de chaque cellule permet un fonctionnement coordonné du MAC avec en conséquence l'émergence de la phyllotaxie.

7.2 Méristème racinaire MAR

A partir de mutants de *A. thaliana*, il a été montré que l'endoderme et le cortex jouent un rôle primordial dans le développement des racines. Les gènes *SCARECROW* (*SCR*) et *SHORTROOT* (*SHR*) sont nécessaires à la division asymétrique de l'initiale cortico-endodermique pour former deux cellules, l'une à l'origine du cortex et l'autre à l'origine de l'endoderme (Figure 8a).

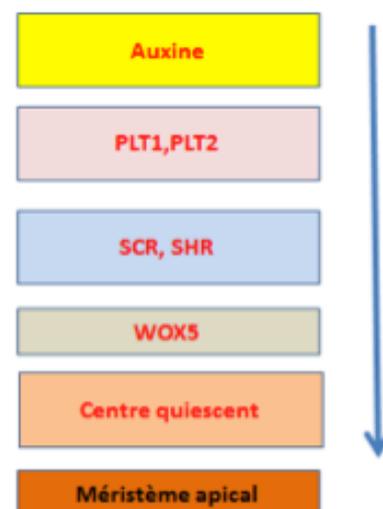
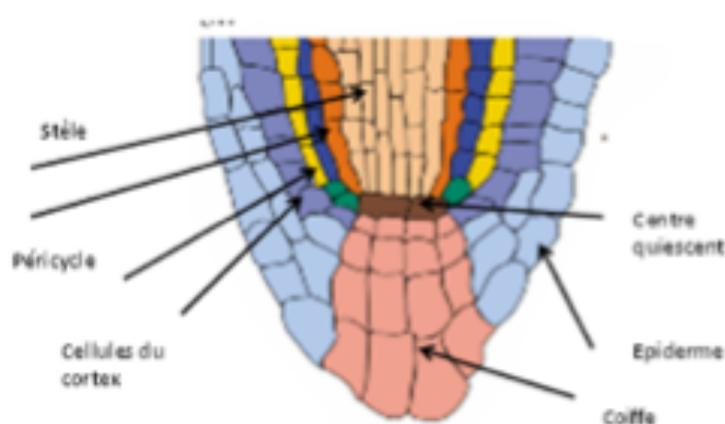


Figure 8 a et 8b : 8.a Coupe tissulaire de la racine. 8.b Diagramme qui illustre la hiérarchie des gènes impliqués dans la formation de la racine.

Il a été observé enfin que les transporteurs PIN dans les tissus racinaires contrôlent les flux d'auxine à l'extrémité de la racine et permettent ainsi l'accumulation d'auxine dans quelques cellules au niveau du centre quiescent. L'auxine induit localement l'expression des gènes *PLETHORA1* et *2* (*PLT1/2*), codant des facteurs de transcription nécessaires pour définir le centre quiescent. Les protéines SCR, SHR et probablement PLT1 et PLT2 stimulent l'expression du gène *WOX5* (gène codant la protéine WOX5, facteur de transcription équivalent à WUSCHEL), permettant de positionner le centre quiescent au centre et à l'extrémité de la racine. De plus, PLT1 et PLT2 maintiennent l'expression des gènes *PIN*, stabilisant ainsi l'accumulation d'auxine. Des gradients de distribution des protéines PLT contribuent à la structuration du méristème en zones de divisions, élongation et différenciation (Figure 8b).

8 Dominance apicale

Lorsque seul le méristème apical caulinaire principal est fonctionnel, la plante ne présente pas de ramification bien que les méristèmes axillaires soient présents : on parle de dominance apicale. En revanche, si la dominance apicale s'affaiblit ou disparaît, suite par exemple à l'arrêt de l'activité du MAC, les méristèmes axillaires deviennent fonctionnels et actifs et la tige se ramifie.

La dominance apicale caractérise donc l'inhibition de la croissance des méristèmes axillaires sous-jacents au MAC. Elle fait intervenir principalement deux hormones, l'auxine et les cytokinines. L'auxine, produite par les jeunes feuilles, est transportée de façon basipète et inhibe la croissance des méristèmes axillaires. Les cytokinines, synthétisées par les racines et transportées de façon acropète, tendent au contraire à favoriser la croissance des méristèmes axillaires. C'est donc la distribution différentielle de ces deux hormones qui contrôle le développement relatif des différents méristèmes et en conséquence la ramification de l'appareil aérien. Signalons que récemment, une nouvelle classe d'hormones, les strigolactones ont été montrées comme jouant un rôle central dans le contrôle de la ramification en interaction avec les autres voies de contrôles hormonales (Rameau, 2010) (Figure 9).

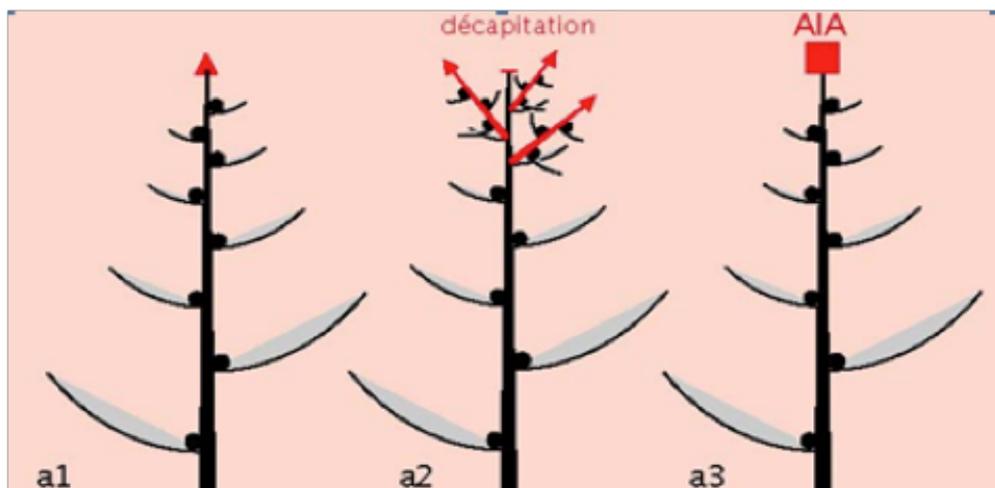


Figure 9 : seul le bourgeon apical se développe (13.1) ; après décapitation du bourgeon terminal, les bourgeons latéraux situés en dessous se développent (13.2) ; après décapitation, l'application locale d'auxine empêche le développement des bourgeons latéraux (R Prat, Dunod 2009).

N'oublions pas enfin que le fonctionnement des méristèmes est soumis à de nombreux facteurs environnementaux. Sous climat tempéré par exemple, les plantes subissent une alternance saisonnière. Le manque d'eau estival et les conditions hivernales par exemple altèrent la croissance végétale suite à une modification du fonctionnement des méristèmes.

9 Contrôle de la morphologie foliaire

9.1 Une grande variabilité de la morphologie foliaire

La forme des feuilles est l'un des principaux critères utilisés pour l'identification des espèces en botanique. Cette diversité morphologique résulte principalement de variations de leur découpe (Hasson et al., 2010). Ainsi, les feuilles simples comme celles du tilleul sont constituées par une seule unité comprenant un pétiole portant le limbe dont les bords peuvent être lisses (feuilles entières), légèrement dentelés ou largement lobés (Figure 10). Au contraire, les feuilles composées sont formées par plusieurs sous unités appelées folioles présentant chacune une organisation similaire à celle d'une feuille simple. Les folioles sont réunies sur un axe appelé

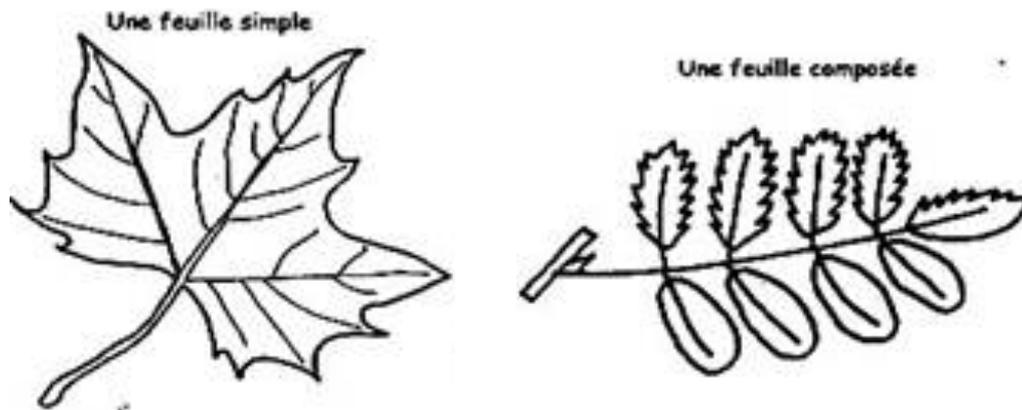


Figure 10 : feuille simple et feuille composée.

rachis, soit en un point unique dans les cas des feuilles composées palmées comme celle du marronnier ou réparties régulièrement le long du rachis comme c'est le cas chez la feuille pennée du robinier faux-acacia. Dans certains cas, le premier niveau de la dissection peut lui-même être encore découpé, donnant naissance à des folioles d'ordre supérieur comme chez la tomate. Les feuilles composées peuvent être conceptuellement vues comme une feuille simple dont les découpes sont poussées à l'extrême jusqu'à individualiser les folioles. Dans ce cas, l'ensemble de la feuille composée serait homologue à une feuille simple. Alternativement, chaque foliole peut être considérée comme l'homologue d'une feuille simple, la feuille composée étant considérée dans ce cas comme une tige modifiée portant plusieurs feuilles, les folioles.

9.2 La mise en place des feuilles composées nécessite une phase d'organogenèse supplémentaire.

Quelle que soit leur forme finale, les feuilles sont initiées par le méristème apical caulinaire sous la forme de *primordia* simples et non-ramifiés. Alors que les *primordia* des feuilles simples vont rapidement se différencier, les *primordia* des feuilles composées passent par un processus morphogénétique supplémentaire. Pendant une phase de morphogenèse primaire, de nouveaux axes de croissance à l'origine des folioles, émanent d'une zone pseudo-méristématique située sur les bords du *primordium* appelée la blastozone marginale. Durant une phase de morphogenèse secondaire, le limbe va se développer selon le même processus que chez les feuilles simples. Par conséquent, la formation d'une feuille composée nécessite deux événements spécifiques : le maintien d'un groupe de cellules indifférenciées à la marge des *primordia* et l'individualisation de folioles. Ces deux événements nécessitent l'intervention de facteurs spécifiques.

9.3 La formation des feuilles composées nécessite une phase transitoire d'indétermination conférée par des gènes méristématiques.

L'initiation d'un *primordium* foliaire est associée, comme nous l'avons déjà vu, à une répression des gènes *KNOX* (*STM* par exemple) qui, exprimés dans le méristème, assurent son maintien. Cette répression des gènes *KNOX*, nécessaire au développement normal foliaire, est définitive dans le cas d'une feuille simple. En effet, la disparition des protéines *KNOX* lève l'inhibition qu'elles exerçaient sur la biosynthèse d'une classe de gibbérellines (GA) dont l'augmentation de l'activité permet alors une expansion cellulaire et une différenciation nécessaires à un développement foliaire normal.

Au contraire de ce qui est observé chez les feuilles simples, les gènes *KNOX* sont ré-exprimés dans la plupart des *primordia* des feuilles composées après une brève phase de répression au moment de leur initiation (Figure 11). L'inactivation des gènes *KNOX* chez des mutants ou plantes transgéniques de ces espèces transforme les feuilles composées en feuilles simples alors que leur sur-expression conduit à des structures super-composées. L'expression des gènes *KNOX*, en réprimant la voie GA, retarde ainsi la différenciation cellulaire et permet l'établissement de la blastozone d'où seront initiées ensuite les folioles. La voie *KNOX* est impliquée dans la formation des feuilles composées de nombreuses espèces pour lesquelles le caractère composé est apparu de façon indépendante au cours de l'évolution.

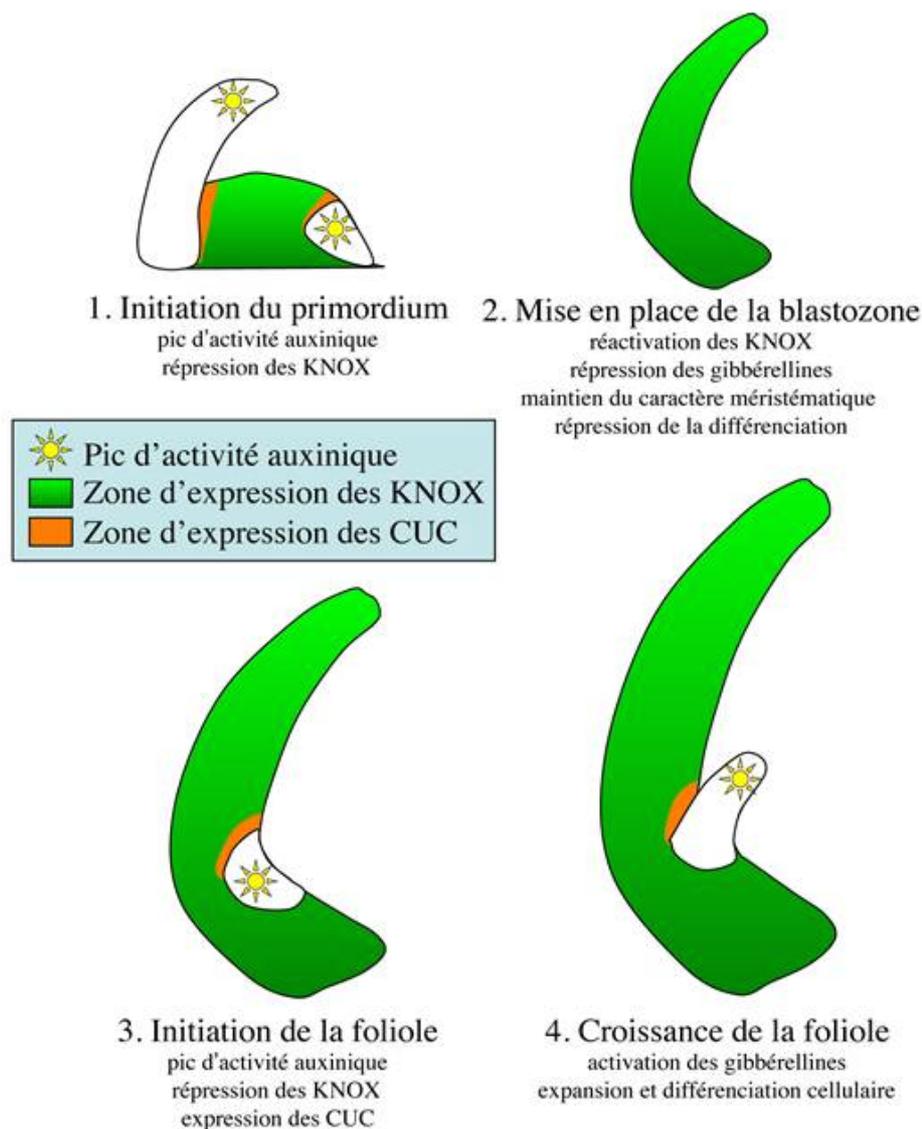


Figure 11 : Modèle de développement d'une feuille composée

Une exception notoire est toutefois observée chez le pois qui présente des feuilles composées qui n'expriment pas les gènes *KNOX* au cours de leur développement. Au contraire, la mise en place de la feuille de pois nécessite l'activité du gène *UNIFOLIATA (UNI)*. L'inactivation d'*UNI* conduit à une simplification de la feuille de pois et il a été proposé que l'expression d'*UNI* dans le *primordium* foliaire puisse retarder la différenciation cellulaire afin de permettre la formation de folioles. Ainsi *UNI* et les gènes *KNOX* pourraient avoir un rôle similaire. Il est supposé que les deux voies *KNOX* et *LFY/UNI* peuvent cohabiter et selon l'espèce, l'une ou l'autre serait prépondérante.

9.4 L'individualisation des folioles fait intervenir l'auxine et les gènes de frontière.

Alors que les voies *KNOX* et *UNI* permettent de maintenir un groupe de cellules indifférenciées, d'autres mécanismes sont nécessaires pour l'individualisation et l'émergence des *primordia* de folioles.

Le premier processus fait intervenir l'auxine. Comme déjà vu, dans la feuille, le transport polarisé de l'auxine donne naissance à des pics locaux de réponse auxinique qui déterminent le site de formation des folioles (Figure 11). Ces pics d'activité auxinique conduisent à une répression des gènes *KNOX* et à l'émergence des *primordia* de folioles. Le drainage de l'auxine hors des régions voisines et l'inhibition de la voie de signalisation auxinique entre les folioles inhibe la croissance et permet ainsi l'individualisation des folioles.

Le deuxième processus met en jeu les gènes de frontière de type *CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC)* (Figure 11). Ils sont exprimés dans les axiles des *primordia* des folioles et sont nécessaires à leur individualisation. Leur profil d'expression très localisé pourrait résulter des gradients d'activité auxinique.

Le rôle de l'auxine et des gènes de frontières au cours du développement de la foliole est similaire à celui qu'ils jouent lors de l'initiation de la feuille dans l'apex. Ceci est un argument en faveur de l'homologie entre foliole et feuille simple (Hasson et al., 2010).

Dans leur ensemble, les données récentes indiquent que le développement des feuilles (simples ou composées) implique une réutilisation de modules régulateurs déjà actifs lors de l'initiation de la feuille. En particulier le module auxine/*KNOX/CUC* a été sélectionné de façon récurrente au cours de l'évolution pour permettre le développement des folioles dans de nombreuses espèces. Mieux comprendre comment les particularités de ce module régulateur contribuent à la diversification de la morphologie foliaire est une des questions majeures à résoudre dans les années à venir.

10 Domestication des espèces, architecture et gènes méristématiques.

La domestication des espèces sauvages a conduit à un ensemble de modifications de la biologie des plantes, souvent décrit comme le « syndrome de domestication ». Les changements architecturaux retrouvés fréquemment se manifestent par une modification de la taille, de la ramification, du port des plantes, et sont souvent associés à une modification du nombre de graines (ou fruits) et de leur dispersion. Des études initiées il y a plusieurs dizaines d'années sur les principales espèces d'intérêt agronomique, en particulier sur les céréales, reposant essentiellement sur des approches de génétique quantitative, ont permis l'identification d'un certain nombre de gènes cibles dont l'activité a été modifiée durant le processus de domestication (Doebley et al., 2006). Quelques exemples sont détaillés ici.

10.1 Modification de l'architecture générale de la plante

- Le gène *branded1* (*tb1*) de la téosinte et l'architecture du maïs

Plusieurs différences distinguent l'architecture du maïs de celle son ancêtre, la téosinte. Alors que la téosinte manifeste un port très ramifié, la dominance apicale est beaucoup plus forte chez le maïs. Chez la téosinte, de longs rameaux latéraux portent des panicules (inflorescences de fleurs mâles) alors que, chez le maïs, quelques courts rameaux latéraux portent des inflorescences femelles (les épis), la panicule étant localisée au sommet de l'extrémité de l'axe principal. Des croisements entre la téosinte et le maïs ont révélé qu'un petit nombre de QTL (quantitative trait locus ou locus de caractères quantitatifs) détermine ces différences d'architecture. Parmi ceux-ci, le locus *tb1*, présent à la fois chez la téosinte et le maïs, code un facteur de transcription de la famille TCP (Doebley et al., 1997). Les facteurs de ce type sont connus pour jouer un rôle répresseur de la prolifération cellulaire. La différence de développement des branches latérales résulte donc essentiellement de niveaux d'expression différents du gène *tb1* dans ces deux espèces en raison de modifications de leurs séquences régulatrices. Ainsi, *tb1* est plus fortement exprimé chez le maïs, ce qui conduit à une répression du développement des branches latérales et un renforcement de la dominance apicale.

- La révolution verte et les gibbérellines.

Dans les années 1960, l'emploi important d'engrais et d'herbicides a considérablement augmenté la production des céréales mais cette augmentation de la masse de graines à l'extrémité des tiges rendait les plantes beaucoup plus sensibles à la verse, occasionnant des pertes de rendements importantes. L'identification et l'utilisation de variétés semi-naines a permis de limiter ces désagréments et a conduit à l'augmentation des rendements et de l'indice de récolte (rapport du poids des grains au poids total de la plante), ce qui est souvent appelé la « révolution verte » (Norman Borlaug, Prix Nobel de la Paix en 1970). Ce n'est toutefois que plus récemment que les bases génétiques de ces variétés semi-naines ont été identifiées (Silverstone et Sun, 2000).

Il a été observé que plusieurs gènes *Rht* (Reduced height), dominants ou semi-dominants, conduisent à une réduction de la taille des pailles chez le blé. Plusieurs de ces gènes codent des protéines de types DELLA, facteurs de transcription répresseurs de croissance et en particulier répresseurs des gènes précocement activés par les gibbérellines (GA). En présence de gibbérellines, ces protéines sont polyubiquitinées et dégradées. Ainsi les gibbérellines stimulent la croissance en dégradant des répresseurs de croissance. Dans les variétés semi-naines, des versions tronquées de protéines de type DELLA sont produites et pourraient agir comme des dominants négatifs, insensibles à la dégradation médiée par les gibbérellines mais exerçant toujours leur effet répresseur sur la croissance.

Alors que plusieurs gènes *Rht* conduisent à une réduction de la taille du blé, le gène *semi-dwarf-1* (*sd-1*) a été seul à la base de la réduction de la taille du riz. Ce gène code une GA-20 oxydase, une des enzymes de la voie de biosynthèse des gibbérellines. Des mutations, conduisant à une inactivation de ce gène ont été sélectionnées plusieurs fois de façon indépendante, conduisant ainsi à une réduction de la quantité de gibbérellines responsable de la réduction de la taille des variétés modernes de riz.

La réduction de la taille des céréales est le fait de modifications de la synthèse ou de la signalisation des gibbérellines. Il est intéressant de noter que des mutations récessives dans la voie de biosynthèse ont été sélectionnées chez le riz, une espèce diploïde alors que des

mutations semi-dominantes ou dominantes ont au contraire été sélectionnées chez le blé, une espèce hexaploïde. De fait, l'identification de mutants de biosynthèse récessifs chez le blé est improbable puisqu'elle nécessiterait de toucher simultanément les gènes des trois génomes du blé.

- Vers de nouvelles variétés, l'exemple du « super riz »

L'amélioration architecturale des espèces cultivées reste toujours d'actualité. Par exemple, les riz actuels présentant encore une structure assez ramifiée. L'objectif est de générer un « super riz » (ou New Plant Type, NPT) ayant moins de talles (les ramifications à la base des tiges de céréales), des tiges plus robustes portant des panicules terminales plus ramifiées avec davantage de grains. De nombreux gènes contrôlant ces caractères ont été identifiés par des approches de génétique mendélienne ou quantitative. Parmi ceux-là, on trouve le gène *OsSPL14* (Jiao et al., 2010; Miura et al., 2010 ; Springer, 2010). L'augmentation de l'expression de ce gène, qui peut résulter soit de modifications de ses séquences régulatrices ou d'une réduction de la régulation négative par un microARN, miR156, conduit à des riz présentant une architecture proche du super riz.

10.2 Augmentation de la taille et/ou du nombre de fruits ou graines

- Augmentation du nombre de grains chez les céréales.

Les inflorescences des céréales forment des structures complexes et ramifiées qui peuvent être compactes comme l'épi de maïs ou au contraire très dispersées comme la panicule du riz. Des approches de type QTL ont permis d'identifier des facteurs génétiques augmentant le nombre de grains. Ainsi par exemple chez le maïs, une diminution de l'activité de « Fasciated Ear2 » (*FEA2*), un récepteur protéique de type CLAVATA, conduit à une augmentation de la taille du méristème d'inflorescence et du nombre de rangées de grains dans l'épi (Bommert et al., 2013). De façon notoire, des variations faibles de l'expression de *FEA2* ont été sélectionnées de manière à minimiser les modifications de l'architecture (en particulier l'apparition de fasciations) qui pourraient résulter d'une perte totale de l'activité de ce gène.

Chez le riz, un QTL majeur contrôlant le nombre de grains produits a pu être identifié. Le gène correspondant code une cytokinine oxydase/déhydrogénase (*OsCKX2*) qui dégrade les cytokinines, régulateurs positifs de la prolifération cellulaire (Ashikari et al., 2005). Chez les variétés à faible production de graines, *OsCKX2* est exprimée dans les vaisseaux et dans le méristème, suggérant que cette protéine pourrait dégrader les cytokinines dans le méristème même ou limiter leur apport *via* la tige, et ainsi conduire à une activité méristématique réduite. Au contraire, l'inactivation d'*OsCKX2* conduirait à une activité méristématique plus importante et à une panicule plus ramifiée. Récemment, un facteur de transcription DST activant l'expression d'*OsCKX2* dans l'apex a été identifié. La diminution de l'activité de DST conduit à une baisse d'expression d'*OsCKX2* et en conséquence à une augmentation de la teneur en cytokinines et du nombre de grains produits (Li et al., 2013).

- Taille du fruit de tomate et prolifération cellulaire.

La domestication de tomates sauvages s'est accompagnée d'une forte augmentation de la taille des fruits allant de moins de 1 cm et quelques grammes pour l'ancêtre sauvage à des fruits de tomate pouvant atteindre 1 kg et 15cm de diamètre pour certaines variétés cultivées. Un QTL, *fw2.2*, contribuant pour près de 30% à la différence de masse a été identifié. Il renferme un

gène qui code une protéine de fonction inconnue qui réprimerait la prolifération cellulaire (Frary et al., 2000). La domestication aurait eu pour effet de sélectionner des allèles ayant une expression plus tardive, prolongeant ainsi la période de prolifération et permettant le développement de fruits plus gros.

- Dissémination des grains

Une des cibles de la domestication est la limitation de la dissémination des grains permettant de conserver les grains sur la plante ou dans le fruit et ainsi de limiter les pertes sur pied avant récolte. Chez les espèces sauvages, la dissémination est rendue possible grâce à la mise en place de différents dispositifs biologiques permettant l'ouverture du fruit et la libération des graines ou le détachement du grain de la plante-mère.

Ainsi chez le riz, une zone d'abscission est formée à la base du grain et permet à ce dernier de se détacher de la plante-mère. Une analyse QTL entre deux cultivars présentant une forte et une faible dissémination des grains a permis d'identifier un QTL majeur contribuant pour près de 70% à cette variabilité phénotypique (Konishi et al., 2006). La cartographie fine de ce QTL a rendu possible l'identification d'une région de 612 paires de bases présentant un seul nucléotide polymorphe. Ce polymorphisme ne se trouve pas dans une région codante mais à 12kb d'un gène, *qSH1*. Des études par transformation et d'expression ont confirmé que ce polymorphisme, en modifiant spécifiquement l'expression de *qSH1* dans la future zone d'abscission du grain de riz, est bien responsable de la différence de dissémination. *qSH1* code un orthologue du gène *REPLUMLESS* (*RPL*) qui contribue à la différenciation du *replum*, la zone de déhiscence entre les deux valves de la silique d'*Arabidopsis thaliana*.

De façon inattendue, le même polymorphisme dans les séquences régulatrices des orthologues de *RPL* est responsable de la différence de morphologies observée au sein des fruits de Brassicacées comme *Arabidopsis* et le navet, différences apparues naturellement, avant le processus de domestication de certaines de ces espèces (Arnaud et al., 2011). Cette observation est étonnante, puisque bien que participant à la dissémination des graines, la zone d'abscission du grain de riz et le *replum* du fruit des Brassicacés ne sont nullement des structures homologues. Elle souligne également une sélection de « *recrutement* » parallèle des mêmes évènements moléculaires lors de l'évolution naturelle des espèces et de leur domestication.

Rappelons enfin que le méristème est un tissu important en **biotechnologie**. En effet, comme on ne détecte pas de virus dans les méristèmes d'une plante infectée, on peut régénérer une plante saine à partir d'une plante malade en faisant une culture *in vitro* de son méristème. Ce procédé est en outre très utilisé en horticulture pour produire des plantes d'un même génotype. C'est une technique de multiplication asexuée ou végétative.

11 Conclusions

Les quelques exemples décrits ci-dessus montrent que la domestication des espèces est un processus complexe faisant intervenir de profondes modifications des réseaux régulateurs biologiques. Malgré cette complexité, quelques modifications génétiques majeures peuvent être identifiées, contribuant pour une part importante aux modifications phénotypiques entre espèces sauvages et cultivées. Les connaissances, acquises sur quelques espèces modèles, facilitent grandement l'identification de ces facteurs en fournissant des gènes cibles candidats.

Les cibles de la domestication qui peuvent être des voies de signalisation par les hormones comme les gibbérellines ou les cytokinines, touchent principalement des facteurs de transcription. Ces facteurs de transcription contrôlant souvent des processus centraux du développement, des modifications importantes de leur fonction (leur inactivation ou la modification de leur site de liaison à l'ADN) seraient délétères pour les espèces concernées. C'est probablement pour cela que la domestication des espèces conduit généralement à la modification fine de l'expression de ces gènes, au niveau quantitatif (comme *tb1*), temporel (comme *fw2.2*) ou spatial (comme *RPL*).

Alors que pendant quelques millénaires la domestication des espèces a reposé sur l'identification et la sélection par l'homme de modifications apparues spontanément et aléatoirement, les connaissances fondamentales acquises au cours des dernières décennies permettent à présent d'envisager des méthodes alternatives plus ciblées. L'identification des causes majeures des modifications architecturales rend possible leur introduction plus facilement d'une variété à une autre. Les gènes candidats identifiés chez des espèces modèles diversifient de plus les leviers par lesquels il est possible d'améliorer les espèces. Enfin, des stratégies de « pyramidage » de QTL permettent d'associer plusieurs facteurs pour modifier plus profondément l'architecture des plantes. Ces différentes stratégies devraient contribuer à l'obtention de nouvelles variétés plus adaptées pour répondre aux besoins croissants en nourriture de la population humaine mondiale et à l'essor de l'utilisation non alimentaire de produits issus de l'agriculture.

Remerciements

Les auteurs remercient les Editions Dunod qui les ont autorisés à reproduire dans cet article plusieurs illustrations extraites du livre « Biologie végétale, tome II : Croissance et Développement » Editions Dunod (2009), 242 pp.

Bibliographie

- Arnaud, C., Bonnot, C., Desnos, T. et Nussaume, L. (2010) 'The root cap at the forefront', *Comptes rendus biologies* 333(4): 335-43.
- Arnaud, N., Lawrenson, T., Ostergaard, L. et Sablowski, R. (2011) 'The same regulatory point mutation changed seed-dispersal structures in evolution and domestication', *Current biology : CB* 21(14): 1215-9.
- Ashikari, M., Sakakibara, H., Lin, S., Yamamoto, T., Takashi, T., Nishimura, A., Angeles, E. R., Qian, Q., Kitano, H. et Matsuoka, M. (2005) 'Cytokinin oxidase regulates rice grain production', *Science* 309 (5735): 741-5.
- Bohn-Courseau, I. (2010) 'Auxin: a major regulator of organogenesis', *Comptes rendus biologies* 333(4): 290-6.
- Bommert, P., Nagasawa, N. S. et Jackson, D. (2013) 'Quantitative variation in maize kernel row number is controlled by the FASCIATED EAR2 locus', *Nature genetics* 45(3): 334-7.
- Brand, U., Hobe, M. et Simon, R. (2001) 'Functional domains in plant shoot meristems', *Bioessays* 23(2): 134-41.
- Doebley, J., Stec, A. et Hubbard, L. (1997) 'The evolution of apical dominance in maize', *Nature* 386(6624): 485-8.
- Doebley, J. F., Gaut, B. S. et Smith, B. D. (2006) 'The molecular genetics of crop domestication', *Cell* 127(7): 1309-21.

- Frary, A., Nesbitt, T. C., Grandillo, S., Knaap, E., Cong, B., Liu, J., Meller, J., Elber, R., Alpert, K. B. et Tanksley, S. D. (2000) 'fw2.2: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size', *Science* 289(5476): 85-8.
- Green, P. B., Steele, C. S. et Rennich, S. C. (1996) 'Phyllotactic patterns: a biophysical mechanism for their origin', *Ann. Bot.* 77: 515-527.
- Hasson, A., Blein, T. et Laufs, P. (2010) 'Leaving the meristem behind: the genetic and molecular control of leaf patterning and morphogenesis', *C R Biol* 333(4): 350-60.
- Jiao, Y., Wang, Y., Xue, D., Wang, J., Yan, M., Liu, G., Dong, G., Zeng, D., Lu, Z., Zhu, X. et al. (2010) 'Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice', *Nature genetics* 42(6): 541-4.
- Konishi, S., Izawa, T., Lin, S. Y., Eban, K., Fukuta, Y., Sasaki, T. et Yano, M. (2006) 'An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication', *Science* 312(5778): 1392-6.
- Laufs, P., Jonak, C. et Traas, J. (1998) 'Cells and domains: Two views of the shoot apical meristem in *Arabidopsis*.', *Plant. Physiol. Biochem.* 36: 33-45.
- Li, S., Zhao, B., Yuan, D., Duan, M., Qian, Q., Tang, L., Wang, B., Liu, X., Zhang, J., Wang, J. et al. (2013) 'Rice zinc finger protein DST enhances grain production through controlling Gn1a/OsCKX2 expression', *Proc Natl Acad Sci USA* 110(8): 3167-72.
- Miura, K., Ikeda, M., Matsubara, A., Song, X. J., Ito, M., Asano, K., Matsuoka, M., Kitano, H. and Ashikari, M. (2010) 'OsSPL14 promotes panicle branching and higher grain productivity in rice', *Nature genetics* 42(6): 545-9.
- Rameau, C. (2010) 'Strigolactones, a novel class of plant hormone controlling shoot branching', *Comptes rendus biologies* 333(4): 344-9.
- Shani, E., Yanai, O. et Ori, N. (2006) 'The role of hormones in shoot apical meristem function', *Curr Opin Plant Biol* 9(5): 484-9.
- Silverstone, A. L. et Sun, T. (2000) 'Gibberellins and the Green Revolution', *TIPS* 5(1): 1-2.
- Springer, N. (2010) 'Shaping a better rice plant', *Nature genetics* 42(6): 475-6.
- Tucker, M. R. et Laux, T. (2007) 'Connecting the paths in plant stem cell regulation', *Trends Cell Biol* 17(8): 403-10.

Ouvrages à consulter :

- G. Ducreux (2002) Introduction à la Botanique. Editions Belin-Sup: 256 pp.
- J.F. Morot-Gaudry et R. Prat (2009) Biologie végétale, tome II: Croissance et Développement Editions Dunod: 242 pp.
- L. Taiz et E. Zeigler (2006) Plant Physiology (4^{ème} édition) Sinauer Associates Inc, publishers: 764 pp.