

Modélisation biophysique de l'activité cambiale et de la formation du bois

Félix Hartmann

Directrice de thèse : Meriem Fournier

Co-encadrants : Cyrille Rathgeber et Bruno Moulia

LERFoB, UMR INRA – AgroParisTech

18 juin 2015, Nancy

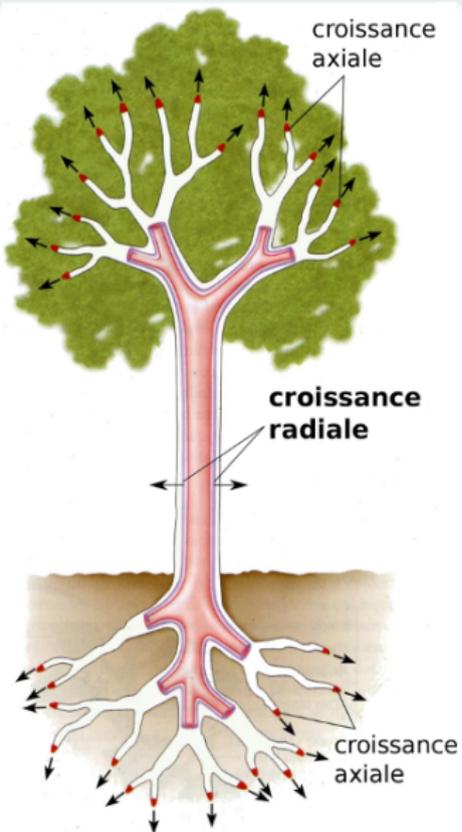
Lignes directrices

- 1 La formation du bois : phénoménologie et problématiques
- 2 La famille de modèles CoXyS (Conifer Xylogenesi Simulator)
- 3 Contrôle par un unique gradient morphogénétique
- 4 Contrôle par plusieurs gradients morphogénétiques
- 5 Conclusions et perspectives

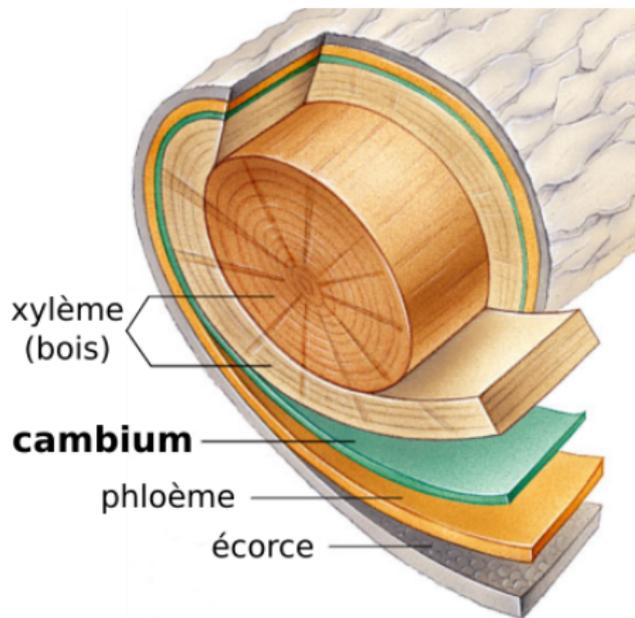
Lignes directrices

- 1 La formation du bois : phénoménologie et problématiques
- 2 La famille de modèles CoXyS (Conifer Xylogensis Simulator)
- 3 Contrôle par un unique gradient morphogénétique
- 4 Contrôle par plusieurs gradients morphogénétiques
- 5 Conclusions et perspectives

Ainsi pousse un arbre



D'après Nabors (2008).

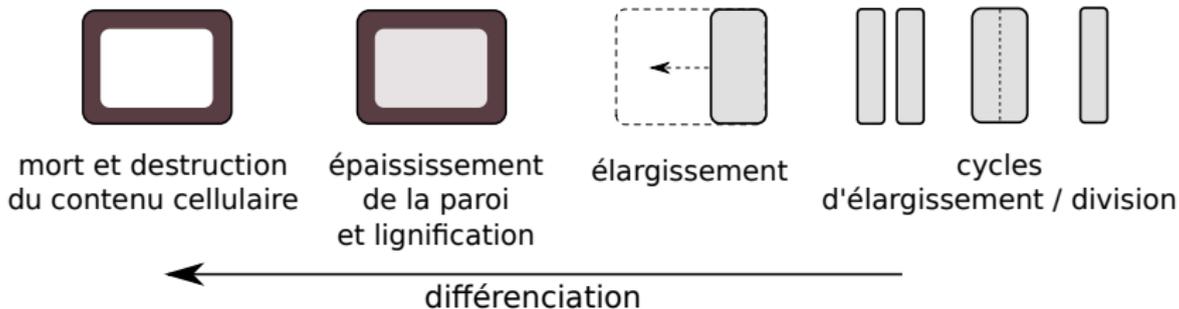


Le cambium produit deux tissus :

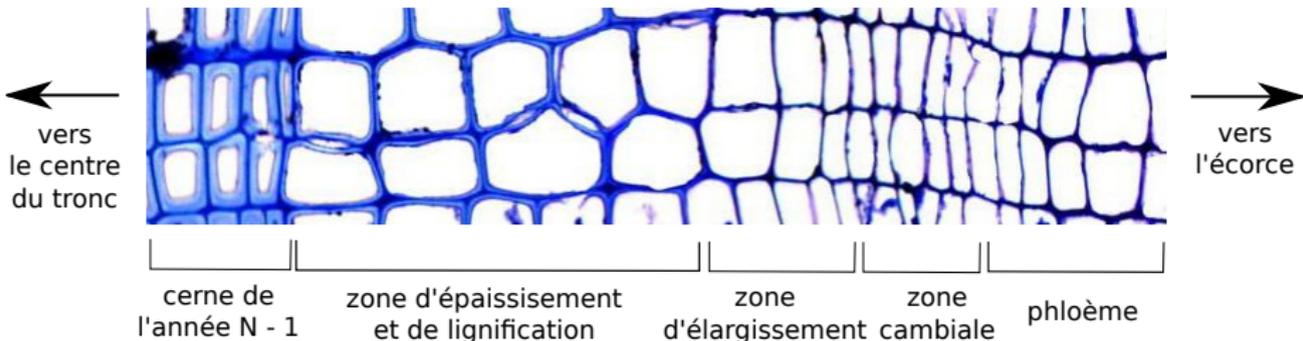
- xylème (conduit la sève ascendante)
- phloème (conduit la sève descendante)

Différenciation des cellules cambiales

Plusieurs phases de différenciation :



Zonation dans le xylème en développement :



Flot de cellules et coordination

Le regard du physicien

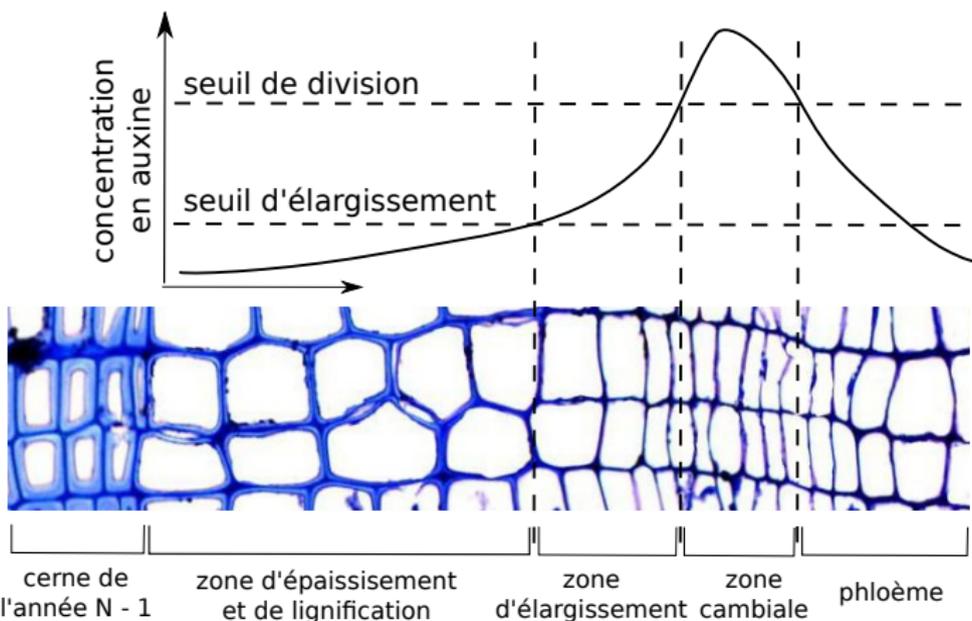
L'élargissement des cellules crée des mouvements dans le tissu, où les trajectoires des cellules sont liées les unes aux autres. On peut voir cela comme l'écoulement d'un fluide complexe.

Problème posé

Le flot de cellules doit être coordonné à l'échelle du tissu pour réguler la croissance et aboutir à la structure anatomique du cerne.

Coordination par des signaux biochimiques

L'hormone auxine forme un gradient de concentration dans le xylème en développement. Il a été supposé que ce gradient apporte une information positionnelle aux cellules :



D'après Bhalerao and Fischer (2014).

Coordination par un gradient morphogénétique

Hypothèse centrale

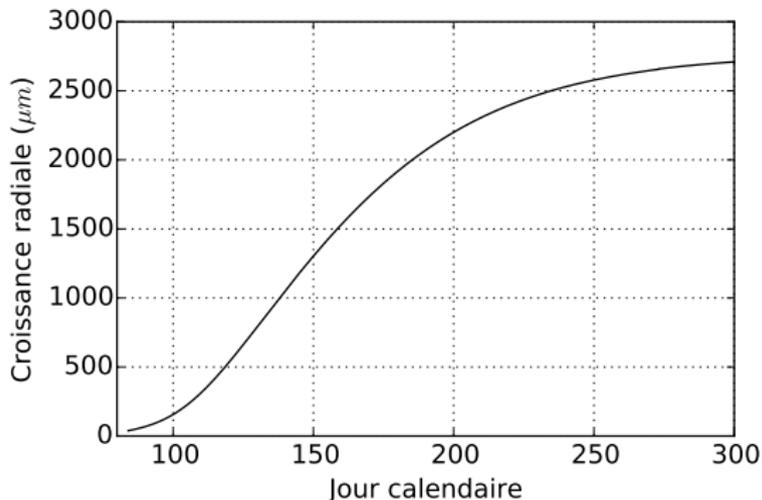
Un gradient de concentration en un signal biochimique apporte une information suffisante pour guider le développement du tissu et aboutir à la structure anatomique finale observée.

Plusieurs signaux candidats :

- l'auxine (le plus souvent évoqué) ;
- le peptide TDIF ;
- les cytokinines ;
- ...

Observable 1 : Dynamique de la croissance radiale du xylème

D'après les données de Michelot et al. (2012) :



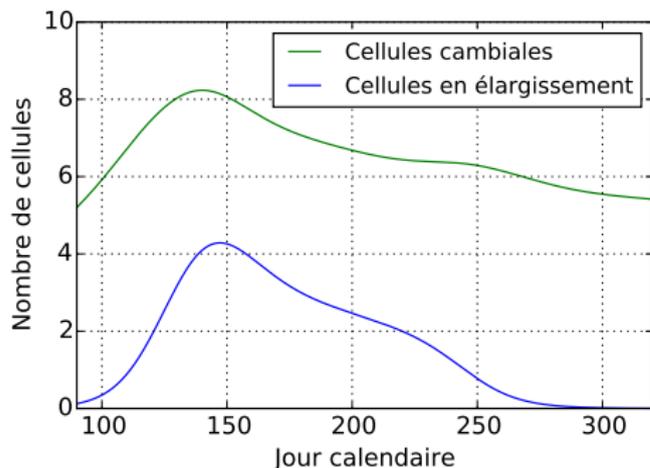
Après un démarrage exponentiel, la croissance devient linéaire, et cesse progressivement en fin de saison de végétation.

Question 1

Un gradient de concentration de signal peut-il contrôler la croissance radiale et brider la divergence exponentielle ?

Observable 2 : Nombre de cellules par zone développementale

En prélevant des microcarottes tout au long de l'année sur plusieurs arbres, on peut obtenir l'évolution moyenne du nombre de cellules par zone :



Il y a augmentation rapide du nombre de cellules par zone en début de saison puis diminution progressive.

D'après Cuny et al. (2013).

Question 2

Un gradient de concentration de signal peut-il contrôler la zonation et sa variation dans le temps ?

Observable 3 : Structure anatomique d'un cerne formé

La croissance du xylème forme des cerne successifs, dont la structure anatomique est caractéristique :

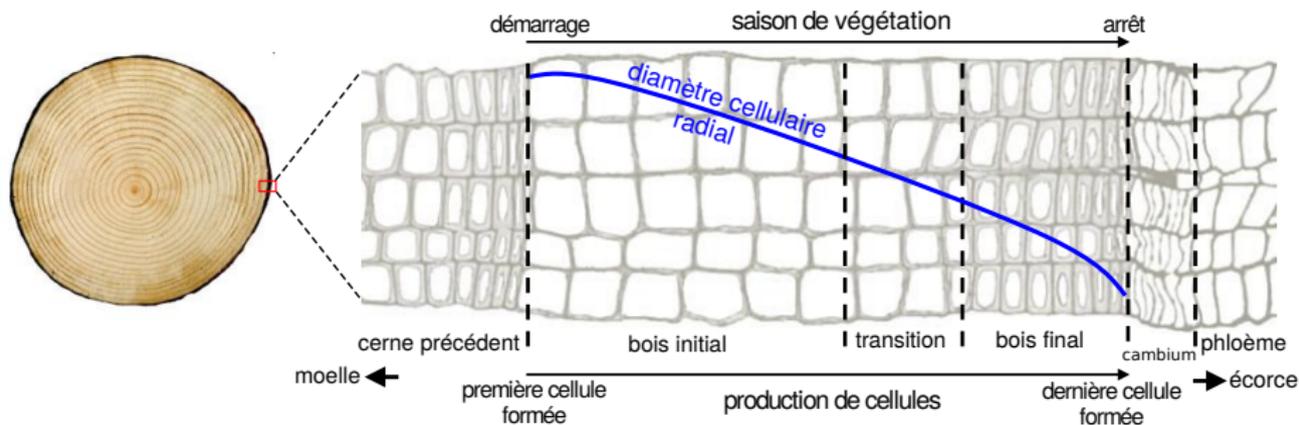


Illustration d'après Cuny et al. (2014).

⇒ cellules larges dans le bois initial / cellules étroites dans le bois final

Question 3

Un gradient morphogénétique peut-il expliquer la structure des cerne ?

Objectifs généraux et démarche suivie

Objectifs généraux

- Évaluer le pouvoir explicatif de l'hypothèse du gradient morphogénétique.
- De façon plus générale, comprendre les mécanismes internes ou externes qui contrôlent la formation du bois.

Démarche

- Se placer dans une situation où les ressources en sucre et en eau ne sont pas limitantes.
- Se focaliser sur les signaux biochimiques.
- Construire des modèles biophysiques de complexité modérée, décrivant précisément la spatio-temporalité, pour répondre aux questions posées.

Lignes directrices

- 1 La formation du bois : phénoménologie et problématiques
- 2 La famille de modèles CoXyS (Conifer Xylogensis Simulator)**
- 3 Contrôle par un unique gradient morphogénétique
- 4 Contrôle par plusieurs gradients morphogénétiques
- 5 Conclusions et perspectives

Cadre général

Cœur des modèles :

- unité de base = cellule
- par symétrie, restriction à une seule file de cellules, des initiales cambiales jusqu'au cerne de l'année précédente
- sources et puits de signaux placés aux extrémités de la file

Deux types de transport de signal :

- diffusion dans les parois (cas de TDIF)
- transporteurs polarisés (cas de l'auxine : PAT, *Polar Auxin Transport*)

Deux fonctions possibles pour les signaux :

- attribution de l'identité cellulaire (fonction d'identité)
- contrôle du taux d'élargissement cellulaire (fonction de contrôle)

Diagramme général des modèles CoXyS

Les modèles se construisent de manière modulaire :

CoXyS
cœur

- description géométrique
- information positionnelle
- relation dose-expansion

Diagramme général des modèles CoXyS

Les modèles se construisent de manière modulaire :

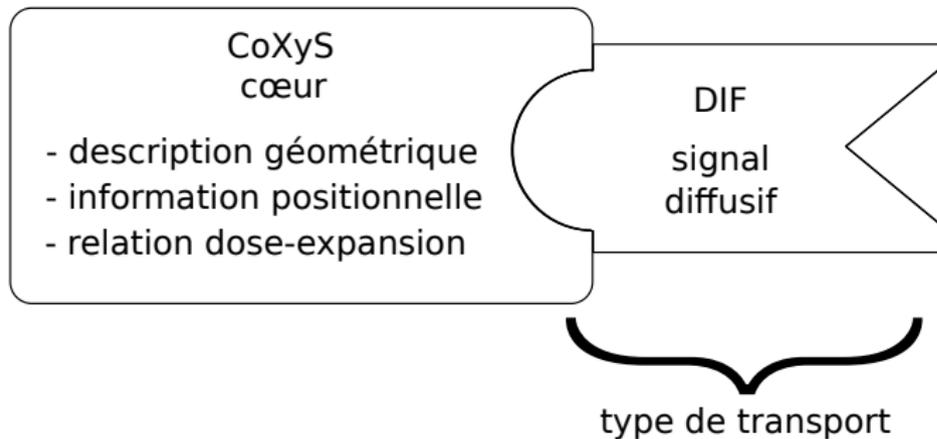


Diagramme général des modèles CoXyS

Les modèles se construisent de manière modulaire :

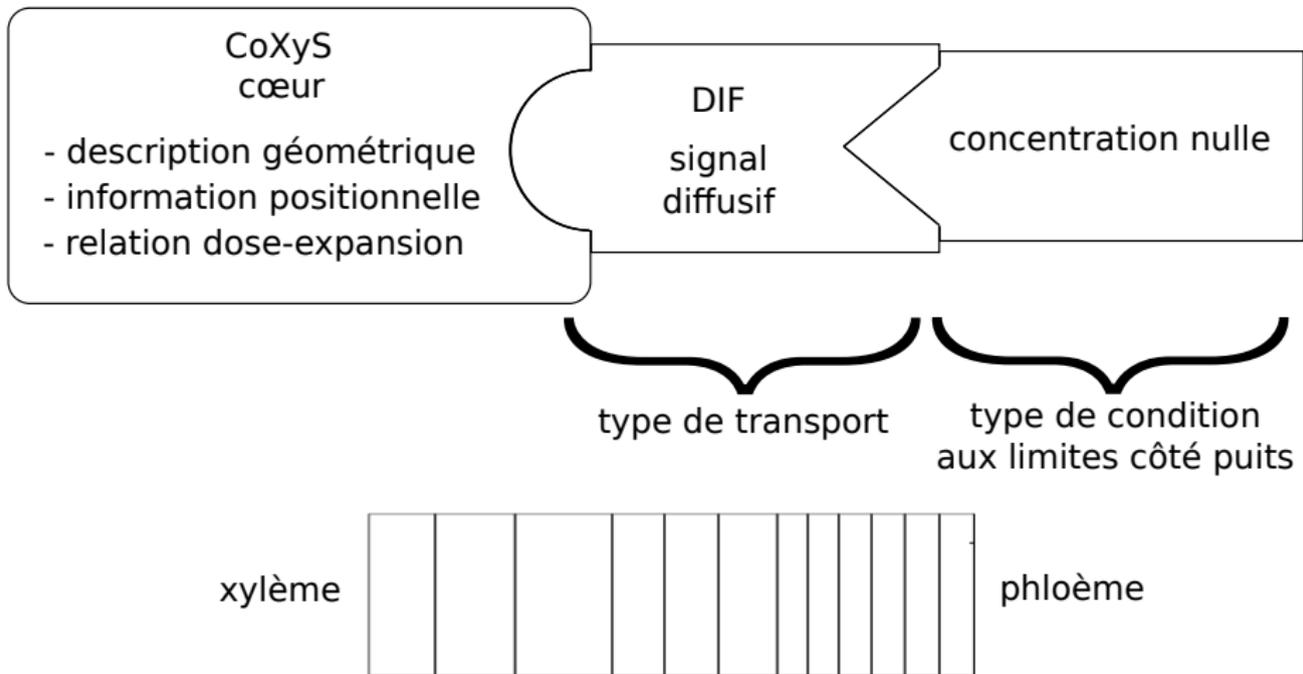


Diagramme général des modèles CoXyS

Les modèles se construisent de manière modulaire :

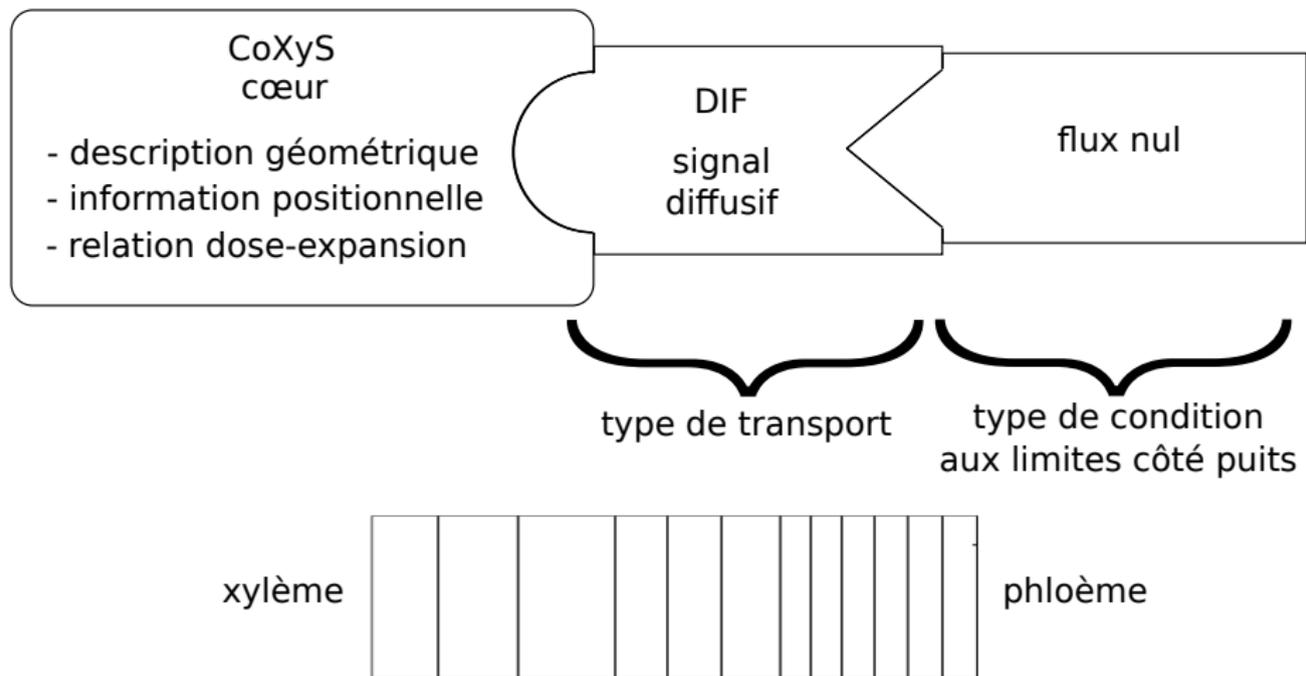


Diagramme général des modèles CoXyS

Les modèles se construisent de manière modulaire :

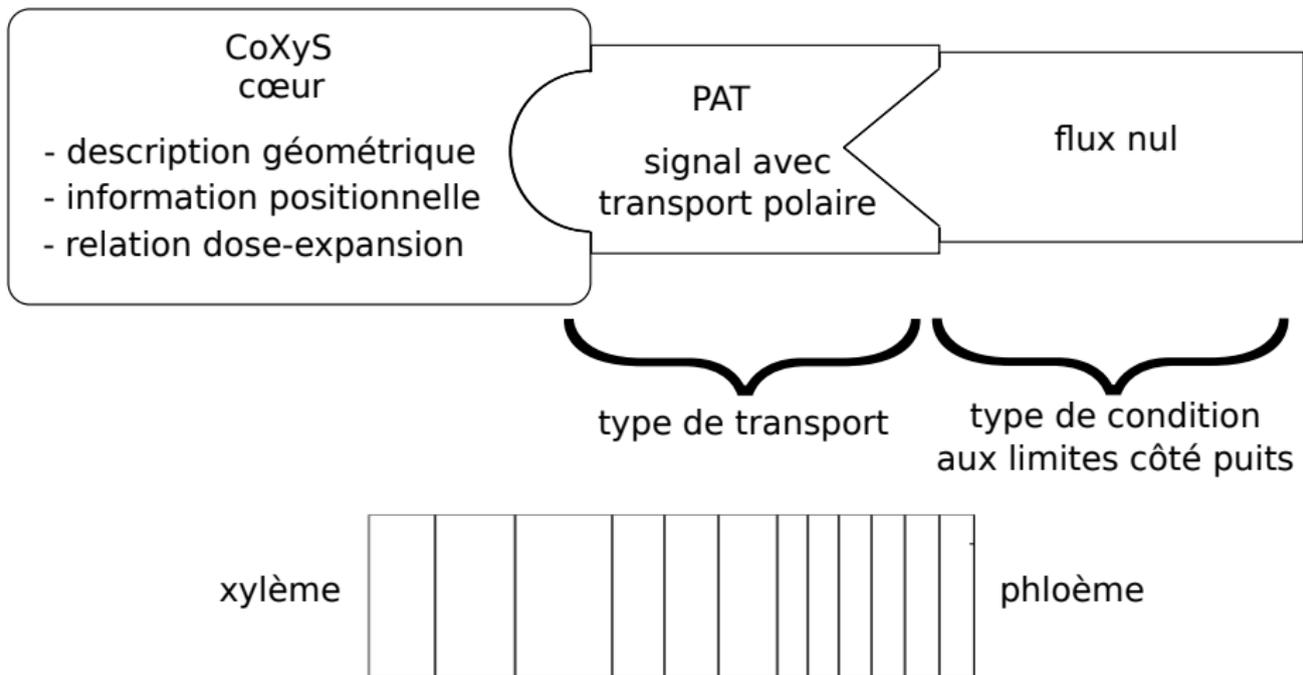
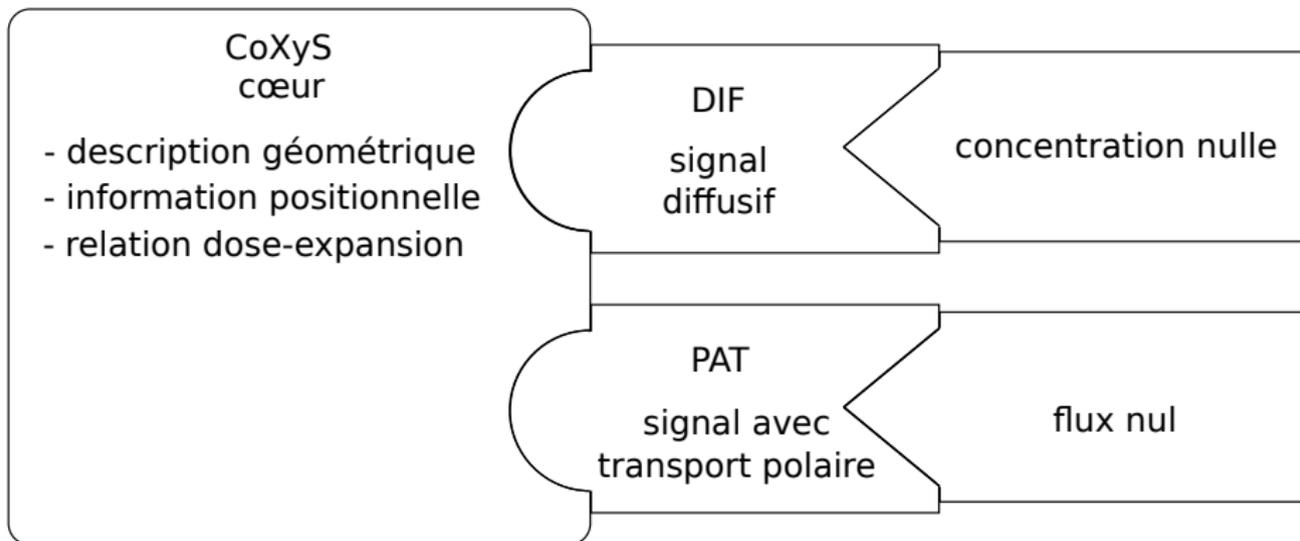
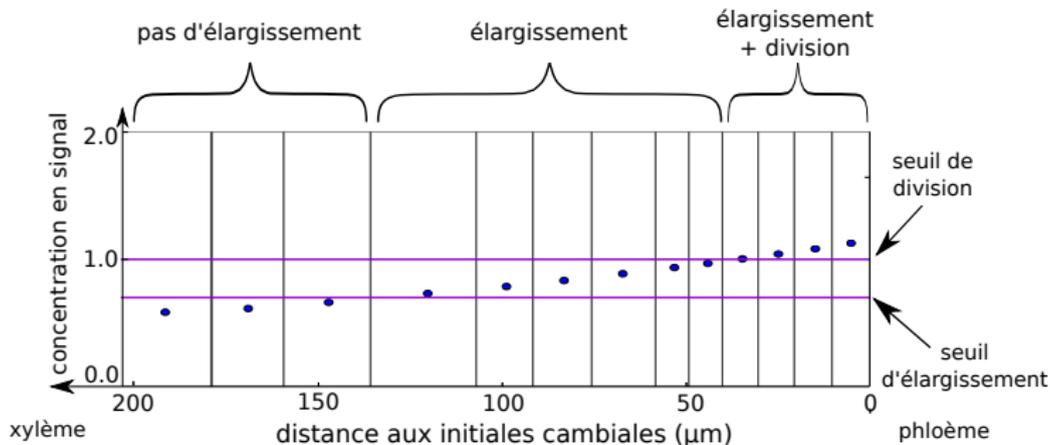


Diagramme général des modèles CoXyS

Les modèles se construisent de manière modulaire :



Cœur du modèle : identité et expansion cellulaires



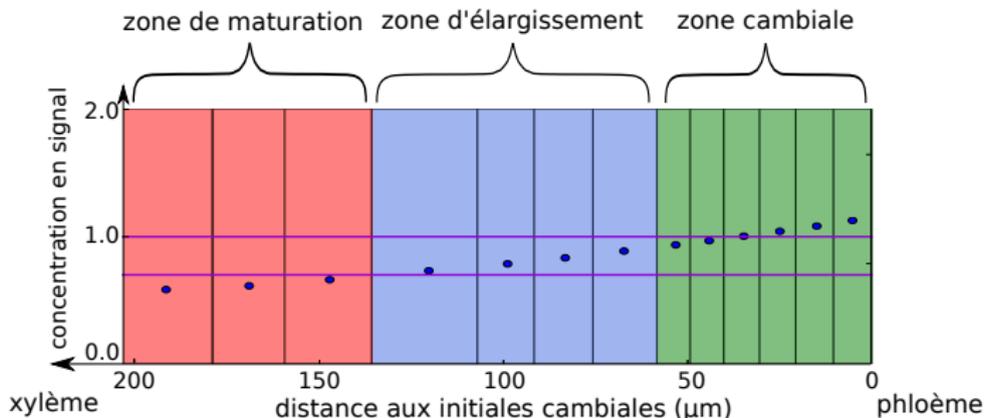
La concentration en signal dans une cellule définit son identité :

- si concentration $>$ seuil de division, la cellule peut s'élargir et se diviser ;
- entre les deux seuils, la cellule s'élargit sans division ;
- en-dessous de seuil d'élargissement, la cellule ne s'élargit plus.

Le taux d'élargissement est proportionnel à la concentration en signal. Une cellule se divise lorsqu'elle atteint deux fois son diamètre initial, si son identité le permet.

Comparaison avec les données expérimentales

Définition des zones développementales



Je définis les zones développementales en me rapprochant le plus possible des critères utilisés lors des observations :

- cellules cambiales : diamètre $< 2 \times$ diamètre initial
- cellules en élargissement : diamètre $> 2 \times$ diamètre initial
- cellules en maturation : plus d'expansion

Les sorties CoXyS face aux données expérimentales

Sortie CoXyS	Donnée expérimentale	Question
longueur totale de la file	courbe de croissance du xylème	1
nombre de cellules par zone	comptages cellulaires moyennés	2
taille finale des cellules de la file	diamètre des trachéides	3

Objectifs généraux des modèles CoXyS et stratégie

Approche avant tout qualitative : tester la vraisemblance d'hypothèses et explorer la dynamique du cambium. On part donc de valeurs de paramètres réalistes, sans chercher à ajuster précisément ces paramètres.

Régime transitoire

Évolution du système juste après l'imposition d'une commande, avant d'arriver à un état stationnaire.

Régime permanent

Régime atteint par le système quand ses variables d'état sont indépendantes du temps (état stationnaire).

Stratégie

On va assembler progressivement des modèles CoXyS de complexité croissante pour aborder les problématiques posées.

Lignes directrices

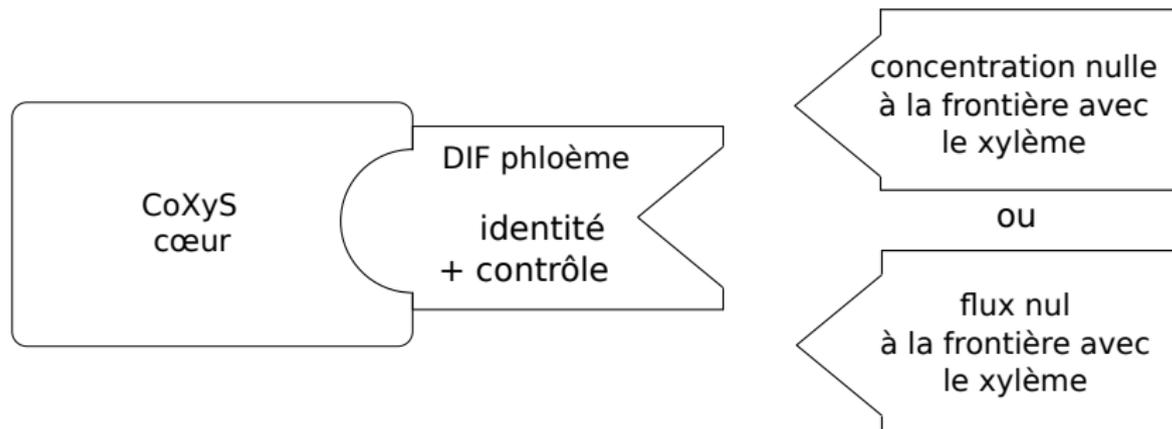
- 1 La formation du bois : phénoménologie et problématiques
- 2 La famille de modèles CoXyS (Conifer Xylogensis Simulator)
- 3 Contrôle par un unique gradient morphogénétique**
- 4 Contrôle par plusieurs gradients morphogénétiques
- 5 Conclusions et perspectives

Intérêt biologique

Un signal phloémien

Plusieurs morphogènes potentiels comme l'auxine ou TDIF proviennent du phloème. On s'intéresse donc à ce cas en premier.

On va commencer par étudier TDIF, qui est diffusif.

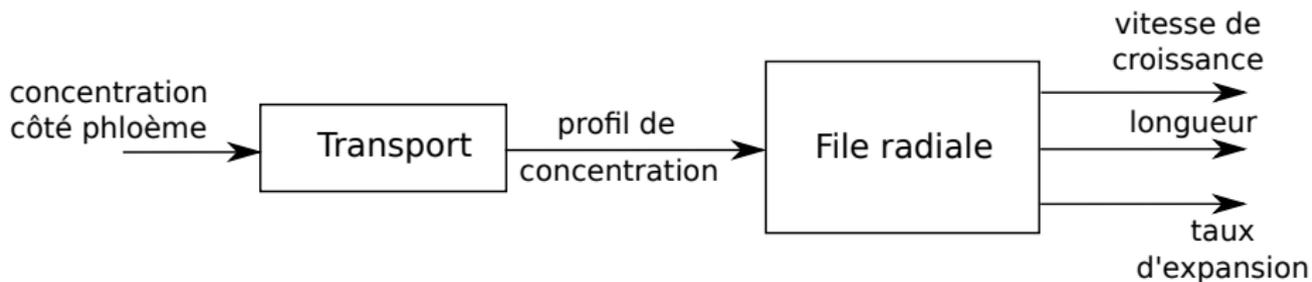


Contrôle de la vitesse de croissance radiale

Question 1

À quelle(s) condition(s) ce signal peut-il contrôler la croissance radiale ?

La commande est la concentration imposée côté phloème. Le transport la transforme en un profil :



Signal non absorbé et à diffusion rapide

Hypothèse

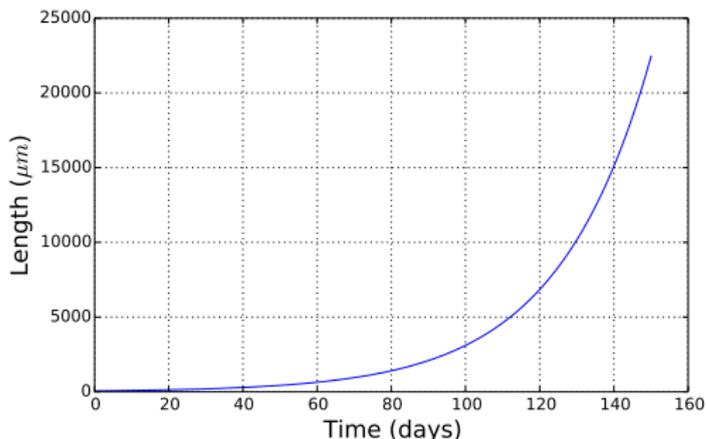
Le signal n'est pas absorbé par le tissu et diffuse assez vite pour que la dilution due à la croissance soit négligeable.

Forme du profil de concentration

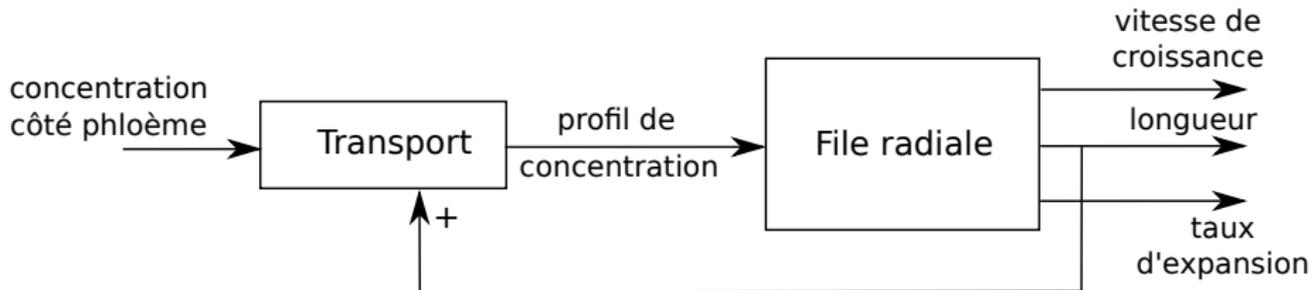
Si la concentration est aussi imposée côté xylème, le profil est linéaire.

Pause vidéo.

Signal non absorbé et à diffusion rapide



L'étalement du profil provoque l'emballage exponentiel de la croissance. Plus la file est longue, plus la croissance est rapide : rétroaction positive de la croissance sur elle-même.



Signal absorbé et à diffusion rapide

Hypothèse

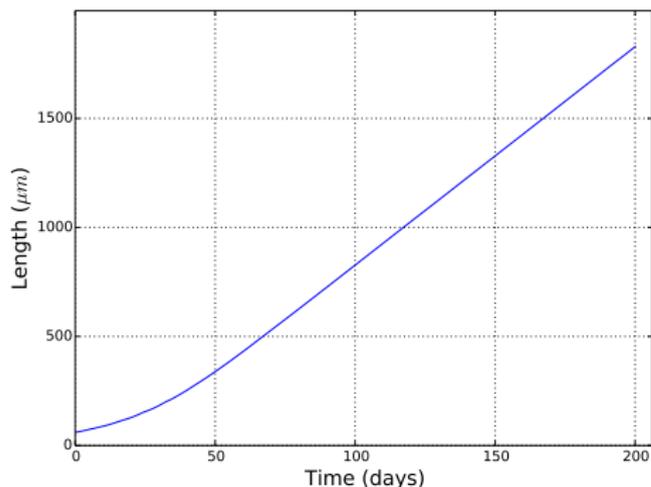
Cette fois, le signal est absorbé par le tissu. La dilution reste négligeable.

Forme du profil de concentration

Le profil tend vers une exponentielle décroissante stationnaire.

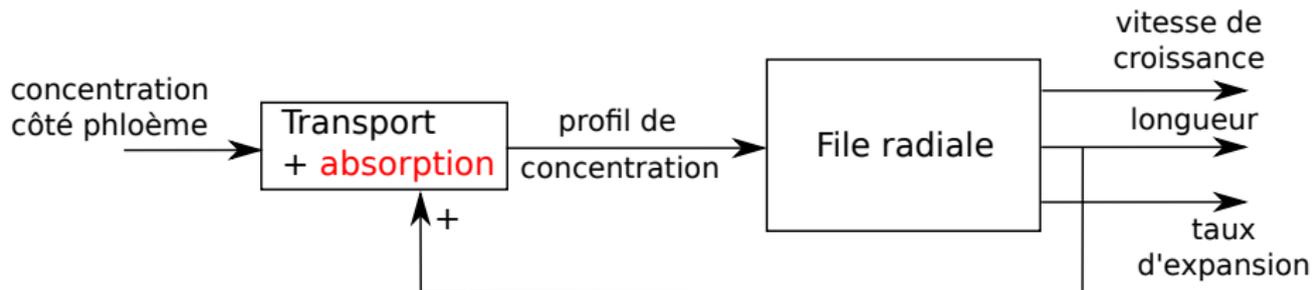
Pause vidéo.

Signal absorbé et à diffusion rapide



Après un démarrage exponentiel, la croissance atteint une vitesse constante.

L'absorption bride la vitesse croissance.



Signal non absorbé et à diffusion lente

Hypothèse

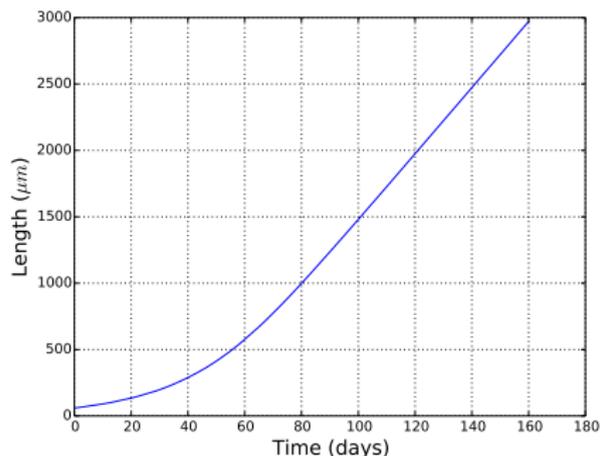
Le signal n'est pas absorbé par le tissu. En revanche, il ne diffuse plus assez rapidement pour que la dilution soit négligeable.

Forme du profil de concentration

Le profil tend vers une exponentielle décroissante stationnaire dans la zone de croissance.

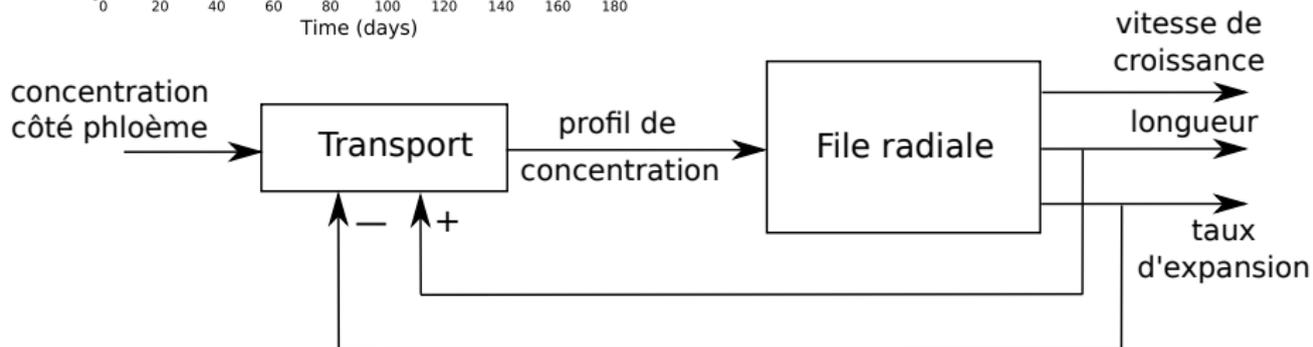
Pause vidéo.

Signal non absorbé et à diffusion lente



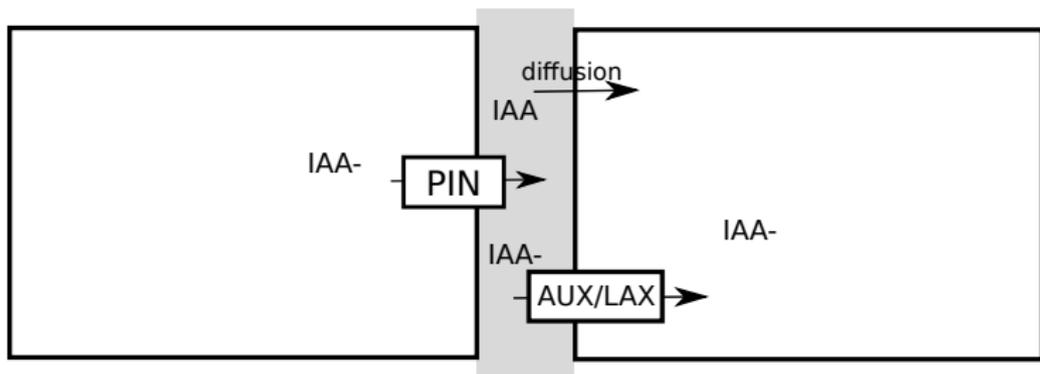
Après un démarrage exponentiel, la croissance atteint une vitesse constante.

C'est la croissance qui se bride elle-même via la dilution :
rétroaction négative.



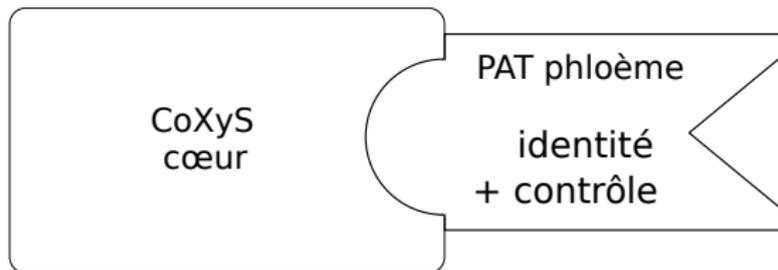
Transport polaire de l'auxine / IAA

L'auxine (ou IAA) a besoin de protéines de transport spécialisées (PIN et AUX/LAX) pour passer d'une cellule à l'autre :



La localisation non-uniforme des PIN sur la membrane polarise le transport.

Contrôle de la croissance avec des transporteurs polarisés



- Transporteurs orientés vers le xylème : le signal s'accumule et la croissance s'emballe.
- Transporteurs orientés vers le cambium : le profil se stationnarise et la croissance est sous contrôle.

Résumé sur le contrôle de la vitesse de croissance

Mécanismes de contrôle possibles

- absorption : pour un signal diffusif de coefficient d'absorption suffisamment élevé
- dilution : pour un signal diffusif de coefficient de diffusion suffisamment faible
- transporteurs polarisés : pour un signal transporté polairement, si la polarisation est adéquate

Arrêt de la croissance en fin de saison

Les modèles CoXyS ne rendent pas compte l'arrêt progressif de la croissance, qui ne s'explique pas facilement par des mécanismes internes. Il semble donc que l'entrée en dormance soit un processus complexe, dans lequel l'environnement jouerait un rôle substantiel.

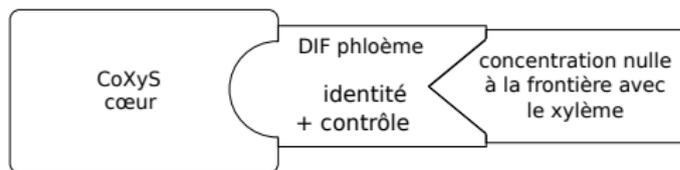
Contrôle de la zonation

Question 2

Le gradient peut-il contrôler la zonation au cours d'une saison de végétation ?

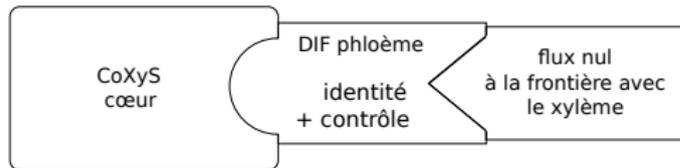
Régimes transitoires (démarrage de la croissance)

(a) Concentration nulle côté xylème

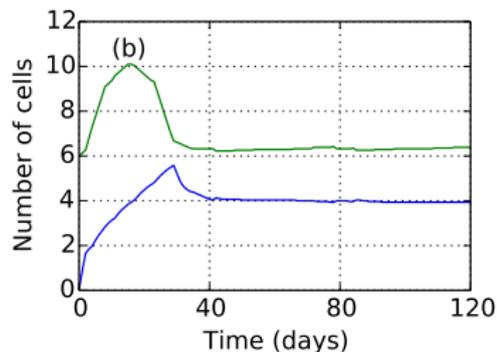
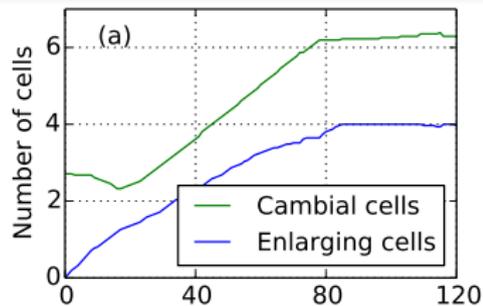


⇒ augmentation progressive

(b) Flux nul côté xylème



⇒ bouffée initiale car accumulation de signal



Conclusion

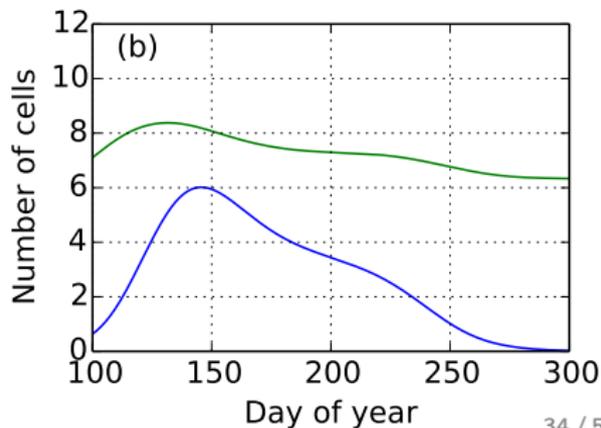
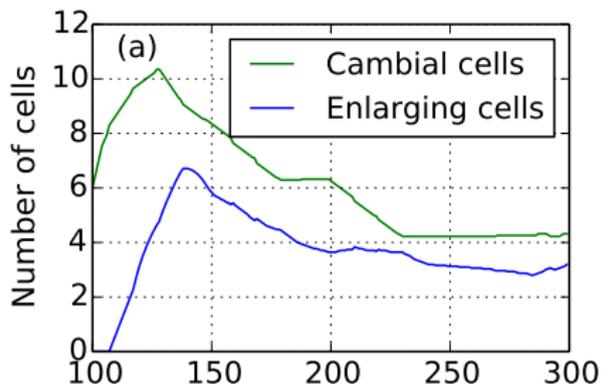
L'imperméabilité du xylème au signal explique l'augmentation rapide du nombre de cellules cambiales et en élargissement en début de saison.

Reproduction de la zonation sur une saison

(a) Simulation

Par une variation du coefficient d'absorption, il est possible de simuler l'évolution de la zonation sur une saison de croissance.

(b) Données expérimentales



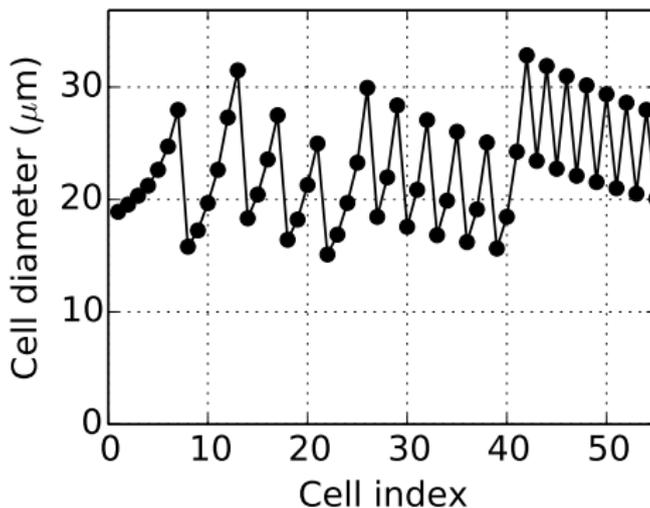
Taille finale des cellules

Question 3

Un gradient morphogénétique contrôlant la croissance radiale et la zonation peut-il aussi aboutir à un profil de tailles de cellules réalistes ?

Taille finale des cellules

Taille des cellules d'un cerne obtenues avec une zonation réaliste :



- pas de différence entre le bois initial et le bois final
- oscillations de taille de cellules

Lignes directrices

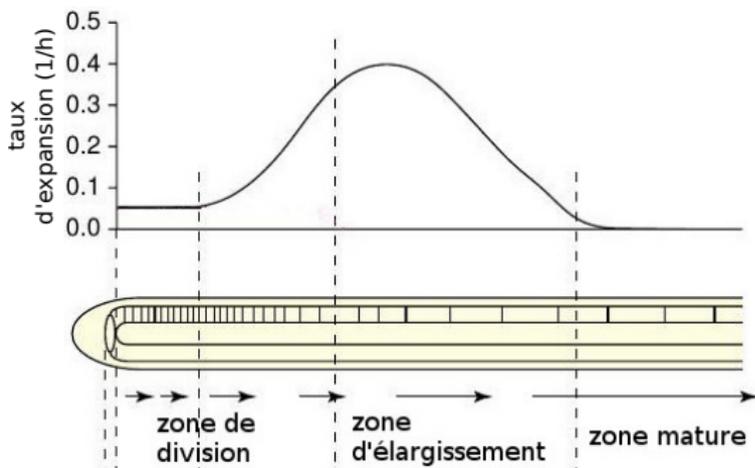
- 1 La formation du bois : phénoménologie et problématiques
- 2 La famille de modèles CoXyS (Conifer Xylogensis Simulator)
- 3 Contrôle par un unique gradient morphogénétique
- 4 Contrôle par plusieurs gradients morphogénétiques**
- 5 Conclusions et perspectives

Une question d'expansion ?

Un problème de la configuration précédente

Le taux d'élargissement des cellules suit le profil de concentration. Il décroît donc du phloème vers le xylème.

Situation différente dans la racine :



Le taux d'expansion est maximal juste après la zone de division. Idem pour les tiges primaires et les feuilles.

On peut supposer que c'est aussi le cas du cambium.

D'après Beemster et al. (2003).

Comment obtenir un pic d'expansion ?

Idée

Il faudrait qu'il y ait un pic de concentration de signal au début de la zone d'élargissement. Le transport polaire est une piste tentante pour y arriver.

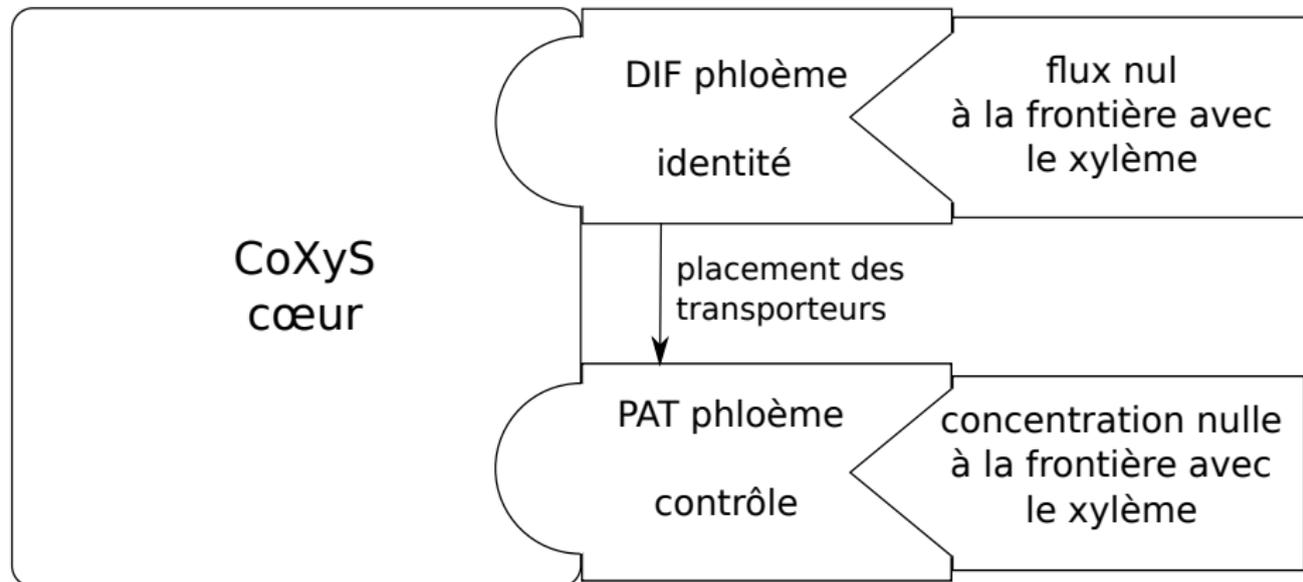
Problème

Cela nécessite un mécanisme pour gérer l'orientation et le placement des transporteurs.

Solution proposée

Les transporteurs sont orientés vers le xylème et présents uniquement dans les cellules en état de se diviser. Le signal d'identité est diffusif et fixe l'emplacement des transporteurs. Le signal de contrôle est PAT.

Avec un diagramme

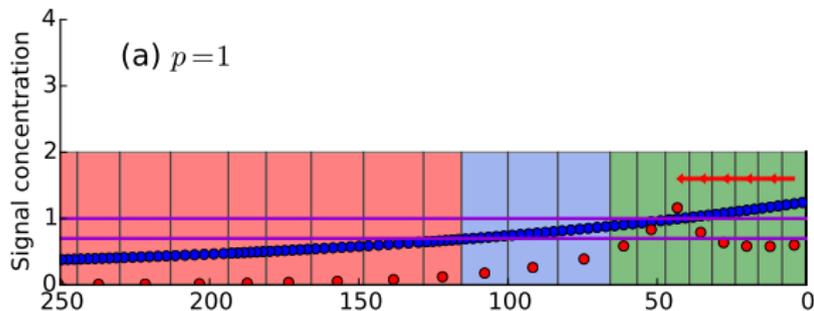


Contrôle de la hauteur du pic

Le paramètre p représente la densité de transporteurs.

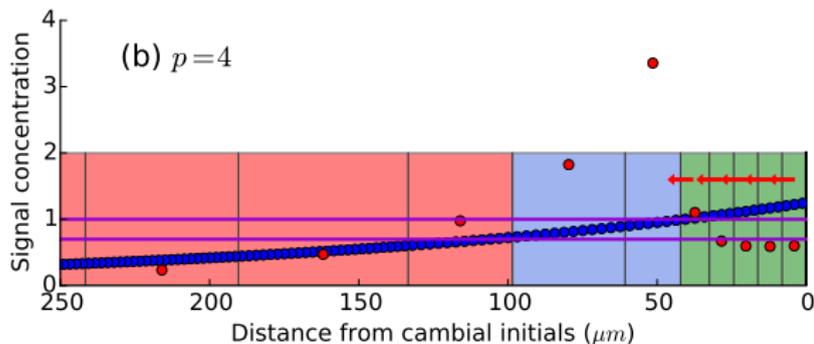
(a) Transport polaire faible

Le pic est peu marqué et situé dans la zone cambiale.

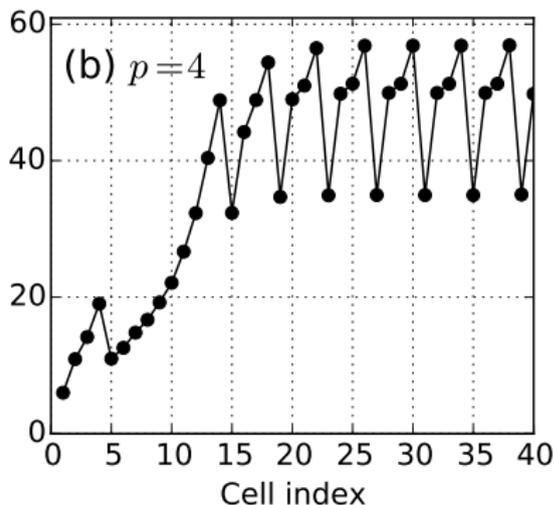
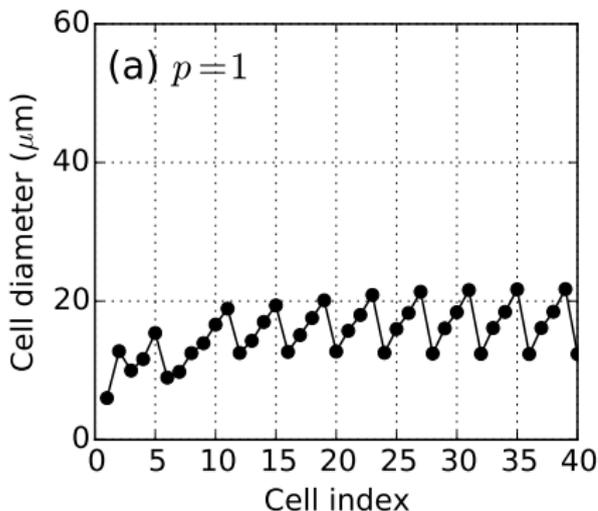


(b) Transport polaire fort

Le pic est très marqué et situé au début de la zone d'élargissement.



Contrôle de la taille finale des cellules



La force du transport polaire contrôle aussi la taille finale des cellules : plus le pic est haut, plus les cellules formées sont larges.

Les oscillations de tailles de cellules n'ont pas été supprimées.

Lignes directrices

- 1 La formation du bois : phénoménologie et problématiques
- 2 La famille de modèles CoXyS (Conifer Xylogensis Simulator)
- 3 Contrôle par un unique gradient morphogénétique
- 4 Contrôle par plusieurs gradients morphogénétiques
- 5 Conclusions et perspectives

Conclusions à retenir

Retour sur l'hypothèse du gradient morphogénétique

- ① Contrôle de la dynamique de croissance : **oui**.
- ② Contrôle de la zonation : **oui**.
- ③ Contrôle de la structure anatomique : **en partie**.
 - Contrôle possible en moyenne de la taille des cellules avec deux signaux.
 - Mais les oscillations persistent dans tous les cas.

Message plus général

Le cambium dispose d'une large autonomie dans son fonctionnement, avec de nombreux mécanismes de régulation interne :

- Le cambium peut réguler de lui-même son niveau d'activité, même si les ressources en sucre et eau sont illimitées.
- Le transport polaire au sein du xylème en développement peut contrôler la zonation, et en partie la taille finale des cellules.

Intérêt des modèles à structure cellulaire et à cinématique explicite

C'est la première fois qu'un modèle décrit précisément les aspects spatio-temporels du xylème en développement, par une approche cinématique. Cela a permis d'avancer dans la compréhension du fonctionnement interne du cambium, qui s'est révélé très riche.

Mise en lumière du phénomène des oscillations, qui est une lacune importante dans notre compréhension.

Le cambium, un modèle biologique de choix pour l'étude du développement végétal

- une géométrie simple, avec une organisation en files de cellules
- des zones développementales bien marquées
- mesures précises d'un gradient d'auxine, mises en correspondance avec les zones
- anatomie du tissu formé caractéristique (bois initial / bois final) qui oblige à s'interroger sur le contrôle de la taille finale des cellules

Pistes expérimentales suggérées

Les modèles proposés suggèrent quelques expériences pour les valider ou les amender :

- mesures plus directes de la densité et de la distribution des transporteurs d'auxine dans le xylème en développement
- pour connaître l'orientation des transporteurs, utiliser des mutants dont le transport polaire est déficient et comparer la distribution de l'auxine avec le type sauvage
- tester l'influence de TDIF (et d'autres signaux) sur le transport de l'auxine

Perspectives du côté du modèle

- tenter d'éliminer les oscillations en assouplissant l'hypothèse du gradient morphogénétique : en perdant l'identité de division, chaque cellule a un stock défini de signal et s'élargit jusqu'à épuisement du stock
- explorer l'effet de stress environnementaux : par exemple par le biais du taux de réponse des cellules au signal, qui est affecté par un stress
- inclure l'épaississement des parois pour avoir un vrai modèle de formation du bois, par exemple à partir de la relation entre taille de cellule et épaisseur de paroi observée par Cuny et al. (2014)

Merci pour votre attention !



Max Ernst, *Ils sont restés trop longtemps dans la forêt*

Références

- Beemster, G. T. S., Fiorani, F., and Inzé, D. (2003). Cell cycle : the key to plant growth control? *Trends Plant Sci.*, 8(4) :154–8.
- Bhalerao, R. P. and Fischer, U. (2014). Auxin gradients across wood – instructive or incidental? *Physiologia Plantarum*, 151(1) :43–51.
- Cuny, H. E., Rathgeber, C. B. K., Frank, D., Fonti, P., and Fournier, M. (2014). Kinetics of tracheid development explain conifer tree-ring structure. *New Phytologist*, 203(4) :1231–1241.
- Cuny, H. E., Rathgeber, C. B. K., Kiessé, T. S., Hartmann, F. P., Barbeito, I., and Fournier, M. (2013). Generalized additive models reveal the intrinsic complexity of wood formation dynamics. *J. Exp. Bot.*, 64(7) :1983–1994.
- Michelot, A., Simard, S., Rathgeber, C., Dufrêne, E., and Damesin, C. (2012). Comparing the intra-annual wood formation of three European species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*) as related to leaf phenology and non-structural carbohydrate dynamics. *Tree Physiology*, 32(8) :1033–1045.
- Nabors, M. W. (2008). *Biologie végétale : structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies*. Pearson Education.