

> jeunes pour l'auxine. Ce modèle moléculaire a depuis reçu des confirmations chez d'autres plantes évolutivement assez éloignées de l'arabette comme la tomate, le maïs ou l'orge.

Une seule molécule pour jouer le rôle d'activateur et d'inhibiteur: le mystère des champs inhibiteurs de la phyllotaxie est-il levé? Pas si sûr, la réalité est plus complexe. D'abord, le mécanisme moléculaire qui permet aux transporteurs de s'orienter correctement dans les cellules pour accumuler ou dissiper l'auxine reste inconnu. Plusieurs hypothèses s'affrontent sans qu'on puisse encore les départager: les transporteurs s'orientent-ils vers la cellule qui est la plus concentrée en auxine? Ou s'orientent-ils pour maximiser l'intensité des flux de cette hormone? On sait donc que les champs inhibiteurs correspondent à des zones de faibles concentrations en auxine créées par les transporteurs, mais on ne sait pas encore quels mécanismes contrôlent les transporteurs!

UN SIGNAL MÉCANIQUE?

Par ailleurs, le signal chimique fourni par l'auxine pourrait bien être secondé par un signal mécanique. En effet, entourées d'une paroi rigide, les cellules végétales sont mises sous pression par l'eau qu'elles emmagasinent. De plus, la forme des tissus engendre des tensions locales qui modifient le comportement de molécules du cytosquelette, de grands polymères qui contrôlent la mécanique et l'architecture des cellules. Et lorsque le tissu grandit et se déforme, les cellules et leur cytosquelette réagissent à ces tensions nouvelles en modifiant les propriétés des parois cellulaires (rigidité et direction de croissance), ce qui modifie en retour les forces mécaniques. Des champs mécaniques complexes émergent donc du tissu en croissance. Donneraient-ils une information qui positionnerait les nouveaux organes? Un tel rôle direct n'a encore pas été démontré. En revanche, chez l'arabette, la mécanique semble intervenir de manière indirecte.

Tout d'abord, notre laboratoire a montré que les forces mécaniques influent sur l'orientation des transporteurs d'auxine. Ensuite, grâce à l'étude de mutants, de perturbations génétiques ciblées ou à des suivis précis de la croissance en microscopie, plusieurs équipes ont mis en évidence que l'accumulation locale d'auxine promeut la synthèse des composés de la paroi des cellules et la ramollit, tout en favorisant la croissance cellulaire. Tous ces événements sont probablement essentiels pour déclencher la croissance de la feuille ou fleur.

Deux signaux: est-ce suffisant cette fois? L'une de nos découvertes récentes permet d'en douter. Car, à force de chercher, nous avons finalement trouvé un inhibiteur diffusant autour des organes en formation: il s'agit d'une petite molécule, nommée AHP6, qui, quand elle



est suffisamment concentrée, inhibe l'activité d'une autre hormone végétale, la cytokinine (voir la figure page 33). Étonnamment, le champ que produit AHP6 ne perturbe pas l'angle entre deux organes, mais impose un rythme régulier à la formation des organes: la formation de deux organes successifs est bien séparée dans le temps, ce qui conduit à un agencement plus régulier des fleurs le long des tiges.

L'image qui émerge est donc celle d'un champ inhibiteur à plusieurs composantes. La répartition d'auxine en est l'élément central, mais d'autres facteurs contribuent à la robustesse du motif. Pourquoi l'auxine n'est-elle pas la seule productrice du champ inhibiteur? Cette question, encore sans réponse, est l'une des voies de recherche actuelles.

Enfin, la quête de la nature des champs inhibiteurs a quelque peu oblitéré d'autres éléments du modèle: quels facteurs assurent une croissance continue? Pourquoi les organes ne peuvent-ils pas se former au centre du méristème, même si, comme nous l'avons démontré, l'auxine s'y accumule? Qu'est-ce qui fait varier le paramètre de contrôle prédit par les modèles déterministes? Est-ce juste la croissance de la plante comme supposé ou un autre mécanisme plus spécifique, encore inconnu? Des éléments de réponse disparates existent dans la littérature scientifique, mais leur intégration au sein d'un modèle moléculaire cohérent fait toujours défaut.

Il est aussi possible que les modèles déterministes soient insuffisants pour décrire les phyllotaxies. Une grande partie de la force d'un modèle scientifique réside dans son pouvoir explicatif, voire prédictif. Plus il reproduit d'observations réelles, plus on est en mesure de proposer des explications aux phénomènes observés en étudiant les paramètres et le fonctionnement du modèle. Or le modèle géométrique

Les cactus arborent souvent de magnifiques motifs géométriques, comme celui-ci, de phyllotaxie de type (8,13), à l'instar de la pomme de pin.



déterministe peine à reproduire certaines de nos observations. En effet, au fil de nos études de la phyllotaxie spiralée chez *Arabidopsis thaliana*, nous avons accumulé des mesures qui montrent des variations dans le motif, des imperfections par rapport à la séquence attendue. Notamment, l'angle de divergence s'écarte de l'angle d'or lorsqu'on le mesure le long des tiges. Toutefois, ces variations ne sont pas du bruit aléatoire : elles ont une structure stéréotypée très frappante. Leur étude statistique et mathématique, couplée à l'observation de la formation des organes en temps réel, nous indique qu'elles correspondent à des organes se formant en même temps et dont l'ordre se trouve de temps en temps permuté le long de la tige.

Ces permutations sont relativement courantes chez *Arabidopsis thaliana* et on les observe facilement dans la nature sur des plantes ayant, comme l'arabette, une tige allongée qui sépare les éléments botaniques. Or, bien que possibles dans le cadre du modèle déterministe, les permutations obtenues n'atteignent jamais ni l'intensité ni la complexité que l'on a mesurées.

LA PART DU HASARD

Ces variations dessinent en filigrane les mécanismes à l'œuvre. Comment donc modifier les mécanismes du modèle déterministe pour corriger ses écarts à la réalité ? Dans ce modèle, le niveau local du champ inhibiteur détermine si un organe va se former. À chaque pas de temps et pour toute position sur le pourtour du disque central d'un méristème, l'ordinateur calcule si les champs des organes voisins inhibent la croissance d'un organe, selon qu'ils dépassent ou non un certain seuil. Il génère alors un organe dans chaque zone où ce seuil est dépassé. Pourtant, de plus en plus d'études indiquent que le déclenchement de la formation d'un organe n'est pas aussi déterministe. Nous avons donc élaboré un nouveau modèle qui reprend les aspects géométriques du précédent, mais dans lequel ce déclenchement est probabiliste.

Un organe est produit selon une probabilité qui dépend du niveau d'inhibition (intensité et temps d'exposition) que les cellules perçoivent localement. L'introduction de cette nouvelle hypothèse dans le modèle permet de reproduire de manière plus fidèle les permutations mesurées chez *Arabidopsis thaliana*. De plus, nous en avons dérivé de nouveaux paramètres de contrôle du système, reliés à des propriétés observables comme la géométrie de la phyllotaxie, le nombre de permutations ou l'intervalle de temps qui sépare la formation des organes.

Ce nouveau modèle stochastique nous a aussi permis de remonter à des propriétés encore non observables, comme la sensibilité des cellules aux champs inhibiteurs. En

particulier, il suggère que la perception des signaux par les cellules est un facteur important à prendre en compte pour expliquer les motifs de phyllotaxie. Surtout, comme tout modèle, il offre un cadre pour proposer de nouvelles expériences et tester sa validité.

LES DÉFIS DES BIOLOGISTES

Tester un modèle n'est cependant pas une chose aisée, encore faut-il disposer des outils adéquats pour réaliser les expériences suggérées. Un premier défi consiste aujourd'hui à mesurer de façon précise et rapide plusieurs paramètres macroscopiques de l'architecture des plantes. Que ce soit pour étayer statistiquement les résultats ou pour distinguer les effets de différents gènes, la génétique nécessite souvent de mesurer de nombreuses plantes. Pourtant, l'étude de grosses cohortes n'est pas encore envisageable pour mesurer des paramètres comme l'angle de divergence, le nombre de permutations, la taille des tiges, le temps qui sépare la formation de deux organes, etc. Des procédures d'automatisation de ces mesures sont en développement, mais elles sont indispensables pour réaliser ce saut du qualitatif au quantitatif dans l'étude de la phyllotaxie.

Le deuxième défi est de relier quantitativement les paramètres de contrôle parfois assez abstraits définis dans les modèles à des données moléculaires ou cellulaires mesurables expérimentalement. Quelle est la taille d'un champ inhibiteur ? Quelle est celle de la zone centrale où aucun organe ne peut se former ? La difficulté provient cette fois du fait que ces paramètres ne sont pas nécessairement morphologiques, donc accessibles par la simple observation, mais fonctionnels. Il est donc nécessaire de connaître un minimum d'informations sur les bases moléculaires de ces fonctions pour en suivre la trace.

Par exemple, si les champs inhibiteurs correspondent aux concentrations d'auxine dans le méristème, il suffirait de suivre celles-ci au cours du temps pour déduire la dynamique des champs. Or jusque très récemment, il n'existait pas de moyen de mesurer quantitativement les niveaux d'hormones dans le méristème avec une sensibilité suffisante, à la résolution cellulaire. Mais en 2012, notre équipe a levé cet obstacle en élaborant un nouveau biocapteur (une protéine fluorescente sensible à la concentration d'auxine, voir la figure page 33) qui indique les concentrations d'auxine que les cellules perçoivent. En couplant ce biocapteur d'auxine avec d'autres marqueurs de l'activité et de la différenciation des cellules, il devient possible de suivre la dynamique spatiotemporelle de la distribution des signaux et de l'autoorganisation du méristème. Face aux modèles informatiques, la biologie moléculaire n'a donc pas dit son dernier mot ! ■

BIBLIOGRAPHIE

Y. Refahi et al., **A stochastic multicellular model identifies biological watermarks from disorders in self-organized patterns of phyllotaxis**, *eLife*, vol. 5, article e14093, 2016.

C. Golé et al., **Fibonacci or quasi-symmetric phyllotaxis. Part I : Why ?**, *Acta Soc. Bot. Pol.*, vol. 85(4), article 3533, 2016.

F. Besnard et al., **Cytokinin signalling inhibitory fields provide robustness to phyllotaxis**, *Nature*, vol. 505, pp. 417-421, 2014.

G. Brunoud et al., **A novel sensor to map auxin response and distribution at high spatio-temporal resolution**, *Nature*, vol. 482, pp. 103-106, 2012.

T. Vernoux et al., **The auxin signalling network translates dynamic input into robust patterning at the shoot apex**, *Mol. Syst. Biol.*, vol. 7, article 508, 2011.