



HAL
open science

Modèles de morphogenèse tissulaire à partir de dynamiques cellulaires intégrées. Application principale à la croissance radiale secondaire des conifères.

Loïc Forest

► **To cite this version:**

Loïc Forest. Modèles de morphogenèse tissulaire à partir de dynamiques cellulaires intégrées. Application principale à la croissance radiale secondaire des conifères.. Modélisation et simulation. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2005. Français. NNT: . tel-00011401v1

HAL Id: tel-00011401

<https://theses.hal.science/tel-00011401v1>

Submitted on 17 Jan 2006 (v1), last revised 23 Jan 2006 (v2)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Modèles de morphogenèse tissulaire à partir de
dynamiques cellulaires intégrées**

**Application principale à la croissance radiale secondaire
des conifères**

THESE

présentée et soutenue publiquement le 7 décembre 2005
pour l'obtention du

Doctorat de l'Université Joseph Fourier – Grenoble I

Spécialité Modèles et Instruments en Médecine et Biologie

par

Loïc Forest

Composition du jury :

Peter Barlow	Examineur
Henri Berestycki	Rapporteur
Jacques Demongeot	Directeur de thèse
Danielle Dhouailly	Présidente
Jacqueline Lück	Rapporteuse
Jaime San Martín	Examineur
Lewis Wolpert	Examineur

Remerciements

Puisque tout a une fin, même une thèse, le moment est venu pour moi d'écrire les premières pages, qui ne sont pas du tout les plus faciles...

Je tiens, en premier lieu, à remercier toutes les personnes qui m'ont fait l'honneur de participer à mon jury de thèse, en commençant par Jacqueline Lück et Henri Berestycki, mes rapporteurs, pour leur lecture minutieuse de mon manuscrit. Les discussions et commentaires résultants m'ont permis de nettement progresser dans mes travaux.

Merci à Peter Barlow pour l'intérêt qu'il a manifesté et pour ses questions de spécialiste sur l'organisation microscopique des tissus végétaux. Je remercie également Lewis Wolpert pour sa participation et sa vision globale de la modélisation en biologie.

Je remercie Danielle Dhouailly, d'avoir courageusement présidé le jury et animé les débats dans des conditions de santé difficiles.

Je remercie tous les membres du jury pour leurs questions et leurs commentaires qui m'ont permis d'acquérir une vision plus générale.

Les racines de ce travail se situent dans un pays lointain, le Chili. C'est en effet outre-Atlantique et outre-Equateur, que j'ai eu le plaisir de rencontrer Jacques Demongeot. Je dois cette rencontre à Fabrice Chassat, ancien doctorant du TIMC, alors en séjour postdoctoral au CMM. Fabrice m'a aussi encadré avec efficacité et enthousiasme pendant mon stage de DEA au CMM, je n'oublierai pas son soutien sans faille.

Cette page me permet de remercier Jacques Demongeot pour ses quatre années d'encadrement (en comptant le DEA). Je le remercie pour la confiance absolue qu'il m'a témoignée, me laissant une grande liberté et beaucoup d'autonomie tout en me proposant de nombreuses idées et en étant présent dans les moments décisifs. Je le remercie d'avoir cru en moi constamment. Sa personnalité, sa grande activité, son enthousiasme et ses encouragements ont été essentiels dans la conduite des travaux.

Mon stage de DEA et une partie de mon doctorat ont été réalisés en collaboration avec le groupe forestier du CMM. Je remercie Jaime San Martín, le directeur du groupe, de m'avoir accueilli en DEA puis invité durant ma dernière année de thèse, et enfin participé à mon jury. Je remercie Fernando Padilla, ingénieur en science forestière, notamment pour tout ce temps où nous partagions le même bureau et les mêmes déjeuners, 9 mois durant. Je le remercie infiniment pour sa patience, sa gentillesse et ses nombreuses explications biologiques qui ont été pour moi un pilier de connaissances pour la suite.

Je veux souligner également le rôle de mon équipe de recherche au TIMC : le TIMB, dirigé par Jean-Louis Martiel. Mon intégration « géographique » au TIMB m'a permis d'accélérer certaines recherches en profitant des compétences en modélisation et des moyens informatiques adaptés. Je remercie tous les « thésards » de l'équipe : Nicolas, Michael, Adrien et particulièrement Mathieu et Julien pour respectivement 3 mois et 15 mois de partage de bureau, record en cours pour Julien. Je ne cacherai pas non plus ma reconnaissance envers les Markov Boys (David, Mathieu, Michael « Sakin ») et leur chef Olivier. Le quotidien du rez-de-chaussée restera à jamais marqué par le café de Mathieu, l'acharnement de Julien à vouloir

débattre de tout et (surtout) de rien, la capacité de Michael à envahir deux étages simultanément,...

Milles remerciements à Nicolas Glade, intermittent du TIMB et omniprésent de la recherche, pour sa passion et sa motivation communicative. Ses conseils et sa « flamme » m'ont été très utiles.

Je remercie aussi l'équipe GMCAO, dont j'ai partagé les locaux en première année de thèse. Merci à Catherine, Anne, Maud, Sandrine, Vincent, Christophe, Antoine, Eric... Une mention particulière pour José, encore un collègue de bureau, pour sa gentillesse et l'acceptation de l'espagnol comme langue officielle du bureau. Merci aussi à Franz pour les discussions multiples qui ont ponctué nos parcours au combien synchrones et à son directeur de thèse Yohan.

Je ne veux surtout pas oublier l'aide précieuse du système administratif avec en premier lieu Céline Fontant, assistante de Jacques Demongeot, dont le rôle a été déterminant depuis le DEA. Je tiens aussi à mentionner Kim Pla et Caroline Dos Santos.

Merci à Juan Asenjo et au personnel du CIBYB de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire. Ce deuxième séjour chilien m'a permis la découverte d'un nouvel environnement et d'autres thèmes de recherche. Je remercie la région Rhône-Alpes pour son soutien financier qui a rendu ce séjour possible.

Je souhaite aussi remercier les personnes que j'ai eu la chance de côtoyer ces quatre dernières années grâce à l'enseignement : Claude Perrier, Sophie Durbiano, David Nicolovski du CPP, Sylvain Gravier de « Math à Modeler », Eric Bonnetier de l'UFR IMA.... Merci aussi à mes étudiants successifs du CPP et de l'UFR IMA !

Je tiens aussi à mentionner Xavier Rijs, sculpteur d'arbre de son état, pour une improbable discussion où nous avons pu comparer les approches scientifiques et artistiques de l'arbre.

La recherche demande, entre autre, de l'inspiration, du soutien et de la compréhension : ma grande chance est d'avoir connu Elizabeth en même temps que la recherche. C'est elle qui m'accompagne depuis le début de mon DEA et m'encourage inlassablement. Merci pour tout ce que nous vivons et avons vécu ensemble.

Je veux remercier intensément mes parents pour « l'ensemble de leur œuvre ». Je veux les remercier de m'avoir laissé libre dans mes choix et mes opinions depuis toujours. Je remercie vivement ma sœur et mon frère pour leur soutien. Merci d'être venu tous les quatre à ma soutenance, par surprise, et ce malgré l'éloignement. Je remercie aussi ma famille au sens large, mes grands-parents, oncles, tantes et cousins pour tous ces inoubliables repas de famille, soirées d'anniversaires et autres week-end (à Modane),...

Ma mère aura compris que ce diplôme est aussi le sien.

Un grand merci à mes amis, en commençant par « l'éternel » Thibaud, mis à contribution à mes débuts pour des traductions d'anglais et pendant ma rédaction pour des traductions d'allemand. Merci à Bobby de suivre mon parcours, bien qu'il se demande toujours pourquoi je ne change pas pour un métier plus lucratif. Merci aux amis de l'ENSIMAG : les ex-collocataires (Gbourg, Jean-Phis, Simon B.,... et Sab), les grenoblois (Amélie, Caroline Cpo,

Catherine, Juliette, Adrien, Cyril, David (merci pour les sauvetage-words de dernières minutes), Jean Jpo, Pierre, Pilou,...) et les autres (Clo, Pbo, Remi,...). Merci aux chiliens et francochiliens (Claudia, Luisa, Maïte, Maria Isabel, Bertrand, Cirilo, Fabrice, Hector, Manu, Pedro, Rodrigo, Muga, Yan...). Merci aussi à tous ceux que je vois trop peu : Anne-Claire, Dorothée, Laurence, Bon's, Cresp', Lionel, Matthieu, Stéphane,... Et puisque le sport fut absolument indispensable à mon équilibre, je remercie les footeux de l'ESSM et les judokas, en particulier Daniel.

J'espère n'avoir oublié personne parmi ces pages qui tentent d'exprimer ma reconnaissance et que je conclue par une pensée pour les illustres oubliés.

*A ma Famille,
A mi Chilotita,
A tous ceux qui me sont chers.*

Résumé

Les mouvements morphogénétiques se caractérisent, au niveau tissulaire, par une succession d'événements cellulaires, précisément agencés temporellement et spatialement. Ce travail de thèse vise à étudier, par la modélisation mathématique, comment un mouvement morphogénétique global s'explique par l'intégration de dynamiques cellulaires locales. Les dynamiques morphogénétiques cellulaires principales sont la prolifération (division et croissance), la migration, la différenciation et l'élimination (apoptose, élimination du tissu,...). Dans nos modèles, chaque cellule est individualisée et constitue l'élément de base du système. Au sein d'un même tissu, chaque cellule est affectée d'une même loi de comportement qui représente les dynamiques dominantes. Ces dynamiques sont contrôlées de manière locale et (ou) globale par des facteurs mécaniques (forces de contact, élasticité, forces de contraction,...) et (ou) chimiques (hormones de croissance, enzymes, produits géniques,...). Le tissu est ainsi modélisé par un système complexe (ou multi-agents) qui prend en compte le comportement de chaque cellule et les facteurs de contrôle locaux. Cette structure est couplée avec un système d'équations aux dérivées partielles qui décrit le contrôle global.

Dans ce cadre, un modèle hybride a été développé pour la croissance radiale secondaire des conifères, envisagée dans le cas de croissances concentriques ou pathologiques. Un système dynamique discret modélise le cambium, considéré en deux dimensions dans une coupe transversale. Le cambium est un méristème qui génère la croissance en épaisseur du tronc de l'arbre par divisions et croissances successives de ses cellules constitutives. Un système d'équations continues tridimensionnelles modélise l'écoulement d'une hormone de la famille des auxines au sein du cambium du tronc, depuis l'apex de l'arbre, jusqu'aux racines. La répartition de l'hormone sur la coupe transversale considérée donne la répartition des taux de croissance des cellules cambiales. Dans le cas de troncs non verticaux, cette répartition n'est pas homogène, car le transport hormonal est influencé par la gravité. Nous étudions, dans plusieurs situations, les résultats de croissance locale et globale, obtenues par la modélisation. Nous montrons que les configurations obtenues s'accordent bien avec les données expérimentales.

La croissance radiale est un mouvement morphogénétique essentiellement régi par la prolifération cellulaire. Nous avons également étudié deux autres applications où dominent les deux autres grands types de dynamiques cellulaires. L'invagination épithéliale, qui intervient pendant les mouvements de la gastrulation, nous fournit un exemple de phénomène de migration et de déformation cellulaire. Nous montrons comment la méthode de modélisation utilisée pour la croissance radiale s'adapte à l'invagination. Nous nous intéressons enfin à un automate de différenciation, pour étudier l'importance des relations de voisinages dans la différenciation cellulaire, avec une application à la différenciation végétale nécessaire à la croissance radiale.

Mots-clés

Morphogenèse, prolifération, différenciation, migration, cellule, épithélium, croissance radiale, cambium vasculaire, xylème, invagination, morphogène, systèmes complexes, système dynamique discret, équations aux dérivées partielles, automate cellulaire.

Models of tissue morphogenesis by integrated cellular dynamics

Main application to the secondary radial growth of conifer trees

Abstract

Morphogenetic movements are characterized, at the tissue level, by a succession of cellular events, accurately located temporally and spatially. This work aims to study, using mathematical modelling, how a global morphogenetic movement can be explained by the integration of all the local dynamics of the cells. The main cellular morphogenetic dynamical processes are proliferation (division and growth), migration, differentiation and elimination (apoptosis, elimination from the tissue,...). In our models, each cell is individualized and is the basic element of the system. In the same tissue, each cell is affected by the same law of compartment which represents the main dynamics. These dynamics are controlled locally and (or) globally by mechanical factors (contact strength, elasticity, contraction strength,...) and (or) by chemical ones (growth hormones, enzymes, gene products,...). The tissue is modelled by a complex (or multi-agent) system which takes into account the behaviour of each cell and the local factors of control. This structure is coupled with partial differential equations systems which describe the global control.

In this framework, a hybrid system was developed for the secondary radial growth of conifer trees, for the cases of normal and pathological growth. A discrete dynamical system models the cambium, considered in two dimensions in a transversal section. The cambium is a meristem which generates the growth in width of the trunk of the tree by successive division and growth of its constitutive cells. A system of continuous three-dimensional equations models the flowing of a hormone, of auxin family, in the cambium of the trunk, from the apex of the tree to the roots. The repartition of the hormone, in the considered transversal section, provides the repartition of the growth rates of the cambial cells. In the case of non vertical trees, this repartition is not homogeneous, because the hormonal transport is influenced by gravity. We study, in various situations, the results of local and global growth, obtained by the modelling. We show that the simulated configurations suit the experimental data.

Radial growth is a morphogenetic movement essentially ruled by cellular proliferation. We have also studied two others applications where dominate the two other main types of cellular dynamics. The epithelium invagination, which occurs during the movements of gastrulation, provides us an example of phenomenon of cellular migration and deformation. We show how the modelling method used for radial growth is adapted for invagination. We are finally interested in an automaton of differentiation to study the importance of the neighbourhood relationships in the cellular differentiation, with an application to vegetal differentiation needed for radial growth.

Keywords

Morphogenesis, proliferation, differentiation, migration, cell, epithelium, radial growth, vascular cambium, xylem, invagination, morphogene, complex systems, discrete dynamical system, partial differential equations, cellular automaton.

Tables des matières

La table des matières est ici déclinée de manière concise. Chaque partie débute par une table des matières plus détaillée et une table des figures. Ce document s'achève par un glossaire des principales notations utilisées pour ce travail.

1	INTRODUCTION GENERALE	11
1.1	Les niveaux d'organisation biologique.....	17
1.2	Le niveau cellulaire et le contenu du travail de thèse	20
1.3	Modèles mathématiques et morphogenèse	22
1.4	Objectifs et « philosophie » du travail de thèse	32
1.5	Bibliographie	34
2	CONTEXTE DE LA CROISSANCE RADIALE	39
2.1	Contexte biologique de la croissance radiale secondaire des conifères	42
2.2	Applications	56
2.3	Etat de l'art des modèles	63
3	MODELISATION	71
3.1	Modèle discret de prolifération cellulaire	74
3.2	Système de contrôle : modèle continu de la répartition de l'auxine.....	110
3.3	Simulation de la répartition de la croissance radiale.....	123
3.4	Synthèse	127
4	RESULTATS ET VALIDATION.....	129
4.1	Résultats.....	132
4.2	Validation.....	169

5	DISCUSSION.....	179
5.1	Conclusion et discussion	180
5.2	Perspectives	184
5.3	Bibliographie	192
6	AUTOMATE DE DIFFERENCIATION CELLULAIRE	205
6.1	Contexte	206
6.2	Modélisation	207
6.3	Résultats.....	212
6.4	Différenciation cambiale.....	217
6.5	Conclusion	220
6.6	Bibliographie	222
7	GASTRULATION	223
7.1	Contexte	225
7.2	Modélisation cellulaire de l'invagination.....	230
7.3	Premiers résultats	237
7.4	Conclusion et perspectives.....	242
7.5	Bibliographie	246
8	CONCLUSION GENERALE	249
A	MODELES INTEGRANT LES RESEAUX METABOLIQUE ET GENETIQUE.....	263
A.1	Contexte biologique	268
A.2	Modélisation discrète des réseaux métabolique et génétique.....	279
A.3	Vers un modèle continu quantitatif pour E. Coli.....	312
A.4	Conclusion et perspectives.....	327
A.5	Bibliographie	330
	GLOSSAIRE DES PRINCIPALES NOTATIONS	337

1 INTRODUCTION GENERALE

*« Tout du moléculaire à l'évolutif est, peu ou prou,
en fin de compte, une affaire de forme ».*

Prochiantz, 2002.

Tables de matières

1.1	Les niveaux d'organisation biologique.....	17
1.2	Le niveau cellulaire et le contenu du travail de thèse	20
1.3	Modèles mathématiques et morphogenèse	22
1.3.1	Equations continues.....	22
1.3.2	Systèmes dynamiques discrets	27
1.3.3	Systèmes complexes et modèles multi-agents.....	30
1.4	Objectifs et « philosophie » du travail de thèse	32
1.5	Bibliographie	34

Tables des illustrations

Figure 1.1. Illustration du paysage morphogénétique de Waddington.....	15
Figure 1.2. Exemple de réseau d'interactions génétiques.	17
Figure 1.3. Illustration des malformations caractéristiques de la Spina Bifida.....	19
Figure 1.4. Illustration de la modélisation par équations de réaction-diffusion	25
Figure 1.5. Réseau génétique d' <i>Arabidopsis Thaliana</i> (Mendoza, 1998).....	27

Comment ne pas être fasciné par l'incroyable complexité qui permet la transformation d'un œuf fécondé en nouveau-né ? Sur le plan purement géométrique, ce développement implique des transformations extrêmement élaborées entre la géométrie sphérique initiale et la forme humaine finale. Les différents stades du développement impliquent des brisures de symétrie locale et globale de la forme de l'embryon, ces brisures étant précisément localisées temporellement et spatialement. D'une manière générale, tous les êtres vivants possèdent cette capacité étonnante de pouvoir construire des structures extrêmement complexes à partir d'une seule cellule initiale.

Les processus générateurs de forme sont regroupés sous le terme de morphogenèse. La théorie explicative classique de la morphogenèse et de la variété des phénotypes biologiques engendrée soutient que les gènes déterminent entièrement tous les paramètres de la vie. Selon cette approche, le développement de l'embryon est le déroulement presque linéaire du programme génétique établi par les gènes, hérités du père et de la mère. Dans la logique Darwinienne, le gène est au centre des théories et le développement est l'exécution de l'information contenue dans les gènes, de manière à produire les structures les plus adaptées aux conditions de sélection, privilégiant ainsi la fonction à la forme anatomique. Historiquement, la biologie s'est ainsi davantage développée autour de problèmes locaux concernant les gènes, les protéines et les molécules, en délaissant les aspects globaux de la morphogenèse.

Cependant, depuis quelques dizaines d'années, l'importance de facteurs extérieurs aux gènes est reconnue comme entrant en collaboration avec l'ADN des gènes : ce sont les champs morphogénétiques. Dans les années 40 à 50, Conrad H. Waddington distingue deux grands types de facteurs intervenant dans la construction de la forme : les facteurs génétiques et les facteurs épigénétiques. Les aspects génétiques sont la partie « programmée » de l'individu, tandis que la partie épigénétique regroupe toutes les composantes extérieures aux gènes.

Dès 1917, le naturaliste D'Arcy W. Thompson propose sa « théorie des transformations » dans son livre intitulé : *On growth and form (Forme et Croissance)* (Thompson, 1917). Il se propose d'apporter une vision de géomètre pour étudier les êtres vivants. Il s'interroge sur des questions fondamentales telles que l'origine de la forme des animaux. Il se demande dans quelle mesure la genèse de la croissance et de la forme est

dépendante des lois physiques et mathématiques. Sa démarche est résumée dans cette phrase de l'introduction de son livre :

« We want to see how, in some case at least, the forms of living things, and of part of living things, can be explained by physical considerations, and to realise that in general no organic forms exist save such as are in conformity with physical and mathematical laws. »

(« Nous voulons voir comment, au moins pour certains cas, les formes des êtres vivants, et des parties des êtres vivants, peuvent être expliquées par des considérations physiques, et montrer qu'en général, les formes organiques n'existent pas de manière stable si elles ne sont pas en conformité avec des lois physiques et mathématiques. »).

Il montre comment les formes vivantes répondent à des contraintes spatiales et à des jeux de forces physiques. Il montre, notamment, comment passer d'une morphologie de poisson à une autre en utilisant des transformations mathématiques linéaires ou non-linéaires. Il propose ainsi que des éléments extérieurs du monde physique contribuent fortement à l'organisation de la forme biologique.

C.H. Waddington reprend cette idée à une époque où les progrès de la génétique plaident pour une « toute puissance » des gènes. Il présente le concept de paysage épigénétique, introduit pour la première fois dans (Waddington, 1940), puis décrit en détail dans (Waddington, 1957). Waddington s'inspire de la théorie traditionnelle des systèmes dynamiques d'Henri Poincaré (Slack, 2002). Son paysage est représenté par une surface dans un espace à plusieurs dimensions. La forme de la surface est fixée par des lois physico-chimiques (réaction de métabolites, diffusion...), et présente des collines, des vallées et des bassins. Waddington établit une métaphore entre une balle qui roule sur cette surface et le développement en biologie. L'ensemble des trajectoires de la balle est une structure ramifiée, de part la présence des bosses et des creux. La balle « choisit » alors une trajectoire parmi l'ensemble des trajectoires admissibles (chréodes), autorisées par les lois physico-chimiques. Lorsque la balle se trouve au pied d'une colline elle doit choisir entre le contournement par la gauche ou par la droite. Selon cette métaphore, la balle est, par exemple, une cellule d'embryon qui choisit son chemin d'évolution parmi les possibles, en fonction des substances cellulaires, dont les concentrations fixent la géométrie de la surface. D'autre part, dans certaines représentations, le paysage épigénétique est représenté avec un réseau de cordes

reliées à des points du paysage, ces cordes étant fixées au sol par des attaches (Figure 1.1). Ce système ramifié de cordage symbolise l'action coopérée ou individuelle des gènes qui modulent la forme du paysage, et donc le développement.

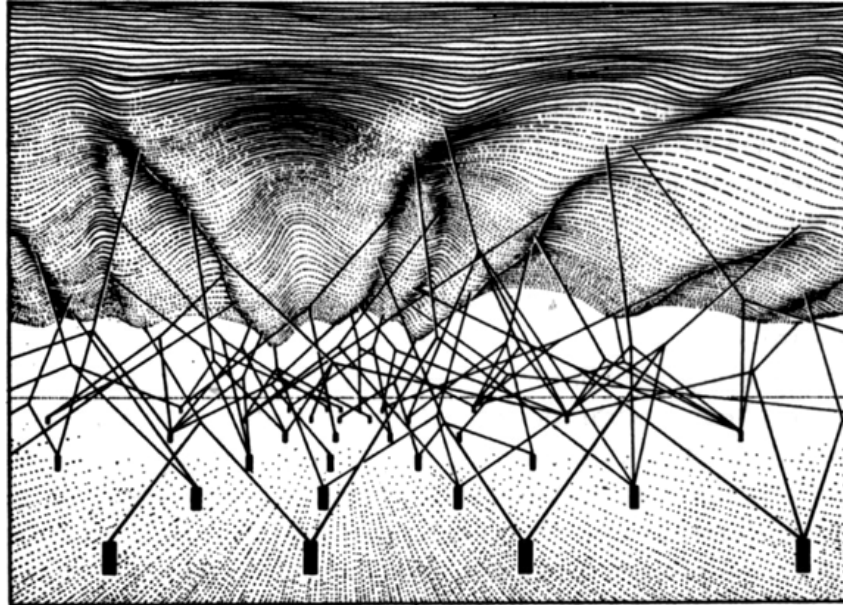


Figure 1.1. Illustration du paysage morphogénétique de Waddington, qui inclue la modulation du paysage en fonction des gènes (Waddington, 1957).

A partir des années soixante-dix, le célèbre mathématicien français René Thom développe sa « théorie des catastrophes », dans son livre *Stabilité Structurale et Morphogenèse*, avec pour but de donner un sens mathématique au concept de champ morphogénétique, en s'inspirant des travaux de D'Arcy Thompson et de Waddington (Thom, 1972). Cette citation, issue de la préface de (Chandebois, 1989), définit son point de vue :

« *Le thème essentiel du livre est de s'opposer à l'idée de "plan" ou "programme codé dans l'ADN" ».*

La théorie des catastrophes fut reprise dans de nombreux domaines, mais Thom l'avait bien développée pour étudier le problème de la forme biologique. Selon Thom, la morphogenèse est un problème de topologie et de géométrie différentielle. Thom établit un parallèle entre la notion de « champ morphogénétique », et les notions de « chréodes » et de « paysage épigénétique » de Waddington. Thom et Waddington ont d'ailleurs correspondu à ce sujet,

prestigieux exemple de collaboration entre un mathématicien et un biologiste. Thom étudie mathématiquement des processus mis en jeu dans le développement et montre que certaines formes et certains changements de formes sont plus probables que d'autres. Il conclut à l'existence de formes de référence.

Les études de D'Arcy Thompson, de Waddington et de Thom sont sans doute les travaux généraux les plus influents dans le domaine de la morphogenèse. L'origine scientifique (et philosophique) de ces auteurs montre bien que la morphogenèse est un problème fondamentalement pluridisciplinaire. Ces trois auteurs, pour ne citer qu'eux, ont mis en exergue la complexité de la morphogenèse, qui n'est donc pas réduite à la simple exécution du code génétique, mais qui est le résultat d'interactions entre le génétique et l'épigénétique, pour reprendre les termes de Waddington. Ils ont aussi montré que le vivant ne pouvait pas être compris de manière exclusivement linéaire. Les non-linéarités des lois du vivant permettent de générer une immense gamme de comportements, même à partir d'un ensemble de paramètres limités. La grande question est de savoir comment tous ces aspects cohabitent pour réaliser et contrôler la morphogenèse. L. Taber s'interroge ainsi sur la manière avec laquelle l'information unidimensionnelle du code génétique peut générer des formes tridimensionnelles complexes (Taber, 1985).

L'immense complexité de la morphogenèse réside aussi dans l'utilisation de toutes échelles de taille de l'organisme, du gène au tissu. La génération de l'ordre et de la forme nécessite une intégration de tous ces niveaux. L'importance de cette intégration a été mise en évidence par Thom :

« Le problème de l'intégration des mécanismes locaux en une structure globale est le problème central de la biologie ; celui de la morphogenèse... »

René Thom (Thom, 1980).

Nous décrivons dans la suite, très synthétiquement, l'organisation intra-niveau et inter-niveaux en biologie, en commençant par la plus petite échelle de taille.

1.1 Les niveaux d'organisation biologique

Niveau génétique

Il est bien connu que les gènes sont transcrits en protéines. Les protéines produites peuvent être des inhibiteurs ou des activateurs d'expressions géniques. Ainsi la protéine produite peut inhiber la transcription de son propre gène et (ou) celles d'autres gènes. Les mêmes interactions peuvent s'établir avec des protéines activatrices. Les inhibitions et activations protéiques nécessitent la plupart du temps la contribution de métabolites intermédiaires (Figure 1.2). On appelle réseau d'interactions génétiques l'ensemble des interactions entre un groupe de gènes, des produits géniques (protéines et enzymes) et des métabolites.

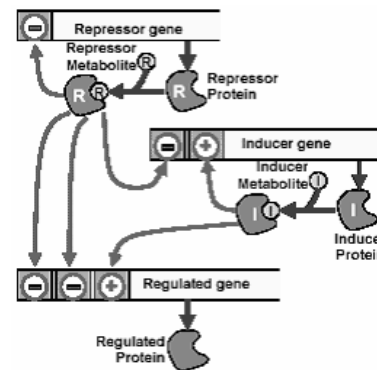


Figure 1.2. Exemple de réseau d'interactions génétiques.

Niveau protéique et moléculaire

Les produits géniques servent notamment à la production des enzymes nécessaires au déroulement du métabolisme des organismes. Les interactions entre les niveaux moléculaire et génétique sont fortes, puisque les métabolites interviennent en retour dans le réseau d'interactions génétiques.

Niveau macromoléculaire

Le métabolisme moléculaire produit des macromolécules, de première importance pour l'établissement de la forme cellulaire, tel que les filaments d'actine ou les microtubules. Ces macromolécules s'organisent en réseaux de filaments, qui constituent en quelque sorte le squelette des cellules. Elles interviennent dans plusieurs processus déterminants de la morphogenèse, tels que la croissance cellulaire, la migration cellulaire par formation de filopodes, ou la déformation cellulaire par contraction de filaments.

Niveau cellulaire

La cellule apparaît comme un système fermé, isolé par une membrane. Chaque cellule possède un noyau, où sont localisés les gènes, et un cytoplasme, comportant les molécules et les macromolécules. La membrane extérieure est perméable et permet une communication avec l'environnement, notamment par l'internalisation de molécules (endocytose). Plusieurs dynamiques cellulaires sont les moteurs élémentaires de la morphogenèse : la migration, la division, la croissance, l'apoptose (mort programmée) ou encore la différenciation.

Niveau tissulaire

Un tissu est un ensemble de cellules identiques, participant à une fonction commune. On distingue deux grands types de tissus : les épithéliums et les tissus conjonctifs. Les épithéliums sont caractérisés par des cellules jointives juxtaposées, généralement liées par des liaisons protéiques fortes. Ils sont particulièrement présents parmi les tissus végétaux. On peut aussi citer l'épiderme de la peau. Ce sont ces tissus qui ont un rôle prédominant dans la morphogenèse. Les tissus conjonctifs sont composés de cellules disjointes, séparées par des matériaux extracellulaires, comme le sang. Ils ont en général un rôle de soutien, qu'il soit actif, comme pour les muscles, ou passif, pour d'autres tissus comme le squelette des vertébrés. Chez les animaux triploblastiques, ces deux catégories de tissus ont une origine différente. Les épithéliums dérivent principalement des tissus embryonnaires de l'endoderme et de l'ectoderme, alors que les tissus conjonctifs proviennent du mésoderme. Ces trois tissus embryonnaires évoluent et s'interpénètrent pour donner les organes et les tissus des organismes adultes.

Niveaux macroscopiques

On trouve ensuite des niveaux d'organisation macroscopiques tels que les organes.

Une question sous-jacente de la morphogenèse est la compréhension des causes des formations pathologiques. L'origine et les causes des malformations peuvent se situer à différents niveaux d'organisation. Si, dans le cas des maladies paucigéniques, le niveau déclencheur défaillant est identifié, il l'est moins pour d'autres maladies comme la Spina Bifida (Figure 1.3). Cette malformation provient d'un défaut dans la formation du tube neural, pouvant créer une excroissance pathologique importante chez le nouveau-né par effraction de la moelle épinière hors du canal médullaire, du fait d'une absence localisée de la partie postérieure de certaines vertèbres (par défaut de migration des cellules en charge de fermer le canal neural au cours de l'embryogenèse).

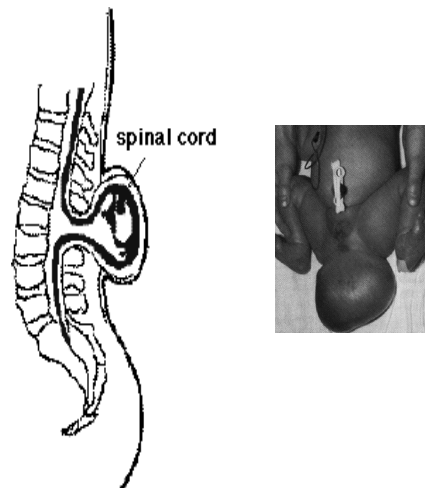


Figure 1.3. Illustration des malformations caractéristiques de la Spina Bifida.

1.2 Le niveau cellulaire et le contenu du travail de thèse

Le travail présenté dans cette thèse se situe principalement au niveau cellulaire et tissulaire. Il concerne l'interaction entre le niveau cellulaire et le comportement à l'échelle du tissu. L'objectif est d'étudier l'intégration des comportements cellulaires au sein du tissu. Chaque cellule est l'élément de base du système. On étudie alors le comportement global, résultant de toutes les dynamiques cellulaires individuelles. Ce travail est appliqué au cas précis du processus de morphogenèse végétale de la croissance radiale secondaire des conifères. Une partie de cette thèse est consacrée à l'utilisation de ce formalisme pour un autre mouvement de morphogenèse, composant important de la gastrulation : l'invagination épithéliale. En annexe, figure le seul travail qui ne se situe pas au niveau cellulaire, puisqu'il s'agit d'étudier un modèle couplant des réseaux métaboliques et génétiques. Une grande partie de ces travaux a été réalisée en collaboration avec différentes équipes de recherche, le détail de ces collaborations se trouvant dans la conclusion générale.

Les composantes fondamentales de la dynamique cellulaire pour la morphogenèse sont la migration, la prolifération, la différenciation et l'élimination du tissu. La prolifération est composée de la croissance et de la division cellulaire (ou mitose). La migration inclut les mécanismes de déformations cellulaires et l'élimination inclut l'apoptose. Dans le cas de la croissance secondaire des conifères, la composante de prolifération est largement dominante. Dans le cas de la gastrulation, la migration apparaît la plus importante. On a aussi étudié un cas théorique de différenciation dans un tissu, par relation de voisinage. Ce travail met l'accent sur la troisième composante de la dynamique cellulaire, la différenciation. La croissance secondaire des conifères, en tant qu'application principale, occupe les parties 2 à 5. La différenciation est traitée dans la partie 6 et la gastrulation dans la partie 7. Une dernière partie constitue la conclusion générale de la thèse.

Les dynamiques cellulaires sont, d'une manière générale, contrôlées par plusieurs types de facteurs que l'on regroupe en deux grandes catégories : la composante mécanique et la composante chimique et génétique. Les facteurs mécaniques regroupent les contacts mécaniques inter-cellulaires, l'adhésion des cellules au substrat ou à la matrice extracellulaire, les déformations, les propriétés élastiques des cellules,... L'autre composante inclut le rôle des enzymes, des hormones, des produits géniques,... Les systèmes de contrôle sont

explicitement modélisés pour la croissance radiale et la gastrulation, par la prise en compte d'une partie des éléments énumérés précédemment.

Les outils de modélisation utilisés pour ce travail de thèse sont variés, ils proviennent de différentes approches mathématiques de la morphogenèse.

1.3 Modèles mathématiques et morphogenèse

La complexité des phénomènes morphogénétiques a, en effet, naturellement séduit les mathématiciens et les modélisateurs qui, avec leurs outils, veulent apporter leurs contributions à la compréhension de ces processus. Les problèmes mathématiques résultants sont extrêmement variés : croissance de domaines, non-linéarités, instabilités, robustesse, bifurcations, convergence, émergence... Ils concernent les différents niveaux d'organisation biologique en fonction de l'adaptabilité des différents outils mathématiques à la variété des problèmes. On répertorie ici quelques grands types de modèles mathématiques pour la morphogenèse, ceux dans lesquels se classent des parties de notre travail.

Un état de l'art des modèles existants pour la croissance radiale des conifères et pour la gastrulation est spécialement développé dans les parties correspondantes.

1.3.1 Equations continues

Une première grande classe de modèles utilise des équations différentielles continues.

Equations différentielles ordinaires (E.D.O.)

Les équations différentielles ordinaires ont été utilisées comme formalisme naturel pour de nombreux modèles, par exemple, pour les réseaux d'interactions chimiques. Les métabolites sont alors représentés par leurs concentrations et l'évolution de cette concentration dans le temps est donnée par une équation différentielle ordinaire (E.D.O.). Les E.D.O. ont aussi été utilisées pour des modèles mécaniques de morphogenèse comme celui d'Odell, appliqué à l'invagination épithéliale (Odell, 1981). Cette approche a également une version stochastique, utilisée pour modéliser le contrôle génétique ou le métabolisme (Demongeot, 1977 ; Goss et Peccoud, 1997).

Nous avons étudié, pendant cette thèse, comment plusieurs systèmes classiques d'E.D.O. peuvent se décomposer d'une manière générale en deux termes : un terme potentiel P et un terme hamiltonien H , pour s'écrire :

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = -\frac{\partial P}{\partial x} + \frac{\partial H}{\partial y} \\ \frac{dy}{dt} = -\frac{\partial P}{\partial y} - \frac{\partial H}{\partial x} \end{cases}$$

Cette méthode est applicable à l'obtention de l'expression de P et de H pour des systèmes de type N-switch, utilisés pour modéliser la différenciation cellulaire (Cinquin et Demongeot, 2005), pour le système « huit » proposé par René Thom, pour la modélisation de l'embryogenèse des amphibiens (Thom, 1988), ainsi que pour d'autres équations plus éloignées du propos de la morphogenèse comme celles de Van der Pol, de Lotka-Volterra, de FitzHugh-Nagumo et de Liénard (Demongeot *et al.*, accepté ; Glade *et al.*, accepté).

Dans l'annexe, la version continue des modèles utilise également le formalisme des équations différentielles ordinaires.

Equations aux dérivées partielles (E.D.P.)

Les équations aux dérivées partielles restent l'outil mathématique de modélisation le plus employé en biologie. Les travaux du célèbre mathématicien anglais Alan Turing ont fortement contribué à cette popularité (Turing, 1952). Largement influencé par D'Arcy Thompson, Turing met en jeu deux substances chimiques diffusives qui réagissent entre elles selon des termes de réaction. Les concentrations des substances chimiques sont alors solutions d'équations différentielles partielles de réaction-diffusion. Turing a mis en évidence, il y a plus de 50 ans, l'existence d'hétérogénéités spatiales stables dans le profil de concentration de substances chimiques, à partir d'un état initial homogène présentant des faibles perturbations, caractéristiques du vivant. Il utilise les propriétés de bifurcation des solutions d'équations différentielles. Une bifurcation est un changement qualitatif profond de la solution suite à la variation d'un paramètre du système, lorsqu'il dépasse une valeur critique. Il nomme les substances chimiques utilisées « morphogènes », en expliquant choisir ce terme pour évoquer leur rôle de « form producer », c'est-à-dire de « producteur de forme ». L'autre partie de cette dénomination vient du fait que, pour Turing, les gènes eux-mêmes pourraient être des candidats de morphogènes. Il note toutefois qu'ils ne possèdent *a priori* aucun caractère diffusif. Le concept de morphogène est inspiré de celui des « évocateurs », présenté par Waddington (1940).

Turing désigne ainsi les morphogènes comme des acteurs directs de la morphogenèse, tels que peuvent l'être les hormones, les pigments de la peau, ... Si l'on considère deux morphogènes a et b , les équations de réaction – diffusion s'écrivent d'une manière générale :

$$\begin{cases} \frac{\partial a}{\partial t} = D_a \Delta a + f(a,b) \\ \frac{\partial b}{\partial t} = D_b \Delta b + g(a,b) \end{cases}$$

L'évolution temporelle des concentrations des substances dépend d'un terme de diffusion, avec un coefficient de diffusion *a priori* différent pour les deux substances (D_a et D_b). Les fonctions f et g expriment les termes de réaction entre a et b .

Des prémices de la théorie de Turing se trouvent dans les travaux de Kolmogorov de 1937 (Kolmogorov *et al.*, 1937), qui décrivent l'évolution de deux phénotypes, l'un dominant et l'autre récessif, à l'aide d'équations comprenant des termes de type diffusif et d'autres de type réactif. Nicolas Rashevsky est un autre prédécesseur de Turing : il montre comment des lois mathématiques simples peuvent refléter des comportements biologiques complexes (Rashevsky, 1940 et 1948 (première édition en 1938)). Ce mécanisme d'apparition de formes par brisure de symétrie dans des équations non-linéaires de réaction-diffusion a mis en place le premier paradigme important de création dynamique de la forme.

La théorie de Turing trouve une réelle consistance biologique grâce aux travaux théoriques de Lewis Wolpert. Wolpert montre que l'agencement des configurations cellulaires peut se comprendre selon un formalisme général qu'il nomme information de position (« positional information ») (Wolpert, 1969). Selon cette théorie, les cellules acquièrent une certaine activité en fonction de leur position dans un champ de concentration d'une ou plusieurs substances, du type des morphogènes de Turing. Les cellules sont capables « d'interpréter » la (ou les) concentration(s) de ces substances et réagissent en conséquence, selon, par exemple, le franchissement d'un seuil critique. La généralité du concept est illustrée par des applications aussi différentes que l'embryogenèse de l'oursin, la régénération de l'hydre *Tubularia* ou encore le développement des membres des vertébrés. Les morphogènes utilisés par Turing peuvent alors correspondre à des substances fournissant l'information de position et ainsi contrôler la morphogenèse.

L'informatique aussi a apporté des éléments de justification à la théorie de Turing. En effet, dans les années soixante-dix, les simulations informatiques commencent avec le groupe de Prigogine à Bruxelles. Ces simulations confirment largement que les systèmes de réaction-diffusion sont capables de rendre compte de certains mouvements morphogénétiques.

Le formalisme de Turing a été intensément repris depuis sa création. J.D. Murray résume dans son livre bon nombre d'applications des équations de réaction-diffusion (Murray, 2002 et 2003, première édition en 1989). D'autres ouvrages de référence sont ceux de

Meinhart (Gierer et Meinhardt, 1972 ; Meinhardt, 1982). Ces équations de réaction-diffusion ont été appliquées à divers exemples, avec une attention particulière pour les « patterns » de couleurs de la peau des animaux (Murray, 1981) (Figure 1.4). On peut citer comme exemple les études des taches du léopard (Murray, 1988), de la pigmentation de la peau du serpent (Murray et Myerscough, 1991) et de la formation des bandes de couleur du poisson *Pomacanthus* (Painter *et al.*, 1999). Certaines études ont parfois inclus de nouveaux termes dans les équations, pour mieux s'adapter aux phénomènes étudiés : ce fut le cas pour modéliser la chimiotaxie. La chimiotaxie dénote la capacité de migration active d'organismes en réponse à un stimulus chimique. Les équations font alors intervenir un chimio-attractant et une densité de cellules par exemple. Dans l'équation d'évolution de la densité de cellules, le flux n'aura plus seulement des termes de diffusion et de réaction, mais aussi un terme de chimiotactisme dépendant du gradient de la concentration du chimio-attractant (Painter *et al.*, 2000). Selon les cas, on parle de chimotactisme positif ou négatif, selon l'attraction des cellules vers les fortes ou vers les faibles concentrations. De même, certains modèles font intervenir des flux haptotactiques, pour prendre en compte le déplacement des cellules par gradient d'adhésion au substrat (Namy *et al.*, 2004).

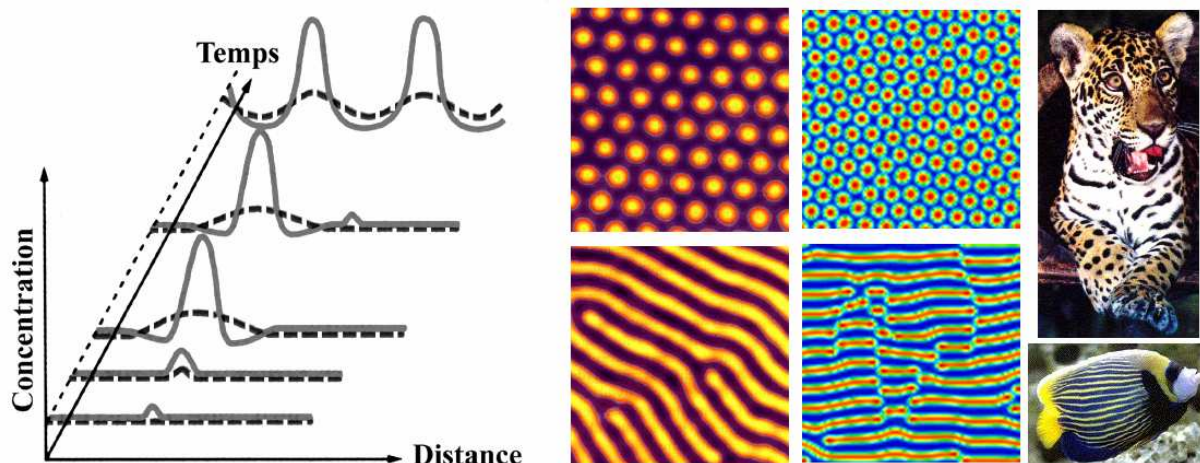


Figure 1.4. Illustration de la modélisation par équations de réaction-diffusion (d'après De Kepper *et al.*, 1998). A gauche, schémas de l'amplification d'une instabilité au cours du temps. La dernière courbe temporelle représente un état hétérogène stable avec deux pics de concentration. Au centre, les états hétérogènes stables sont représentés en deux dimensions : ils présentent une alternance périodique de pics de concentration. A droite, deux exemples de motifs observés dans la nature.

Les équations aux dérivées partielles sont aussi l'outil de la mécanique des milieux continus, qui est notamment utilisé dans des modèles où interviennent la migration cellulaire, la déformation, l'adhésion, la contraction, le réarrangement cellulaire, ... On peut donner l'exemple d'un tel modèle, toujours pour l'invagination épithéliale, celui de Davidson *et al.* (Davidson *et al.*, 1995). L. Taber a passé en revue une large gamme de modèles mécaniques pour la morphogenèse, utilisant des E.D.O. ou des E.D.P. (Taber, 1995). Récemment, P. Maini a également répertorié les différentes grandes catégories de systèmes d'équations aux dérivées partielles utilisés en modélisation biologique, qu'ils soient mécaniques ou chimiques (Maini, 2004).

Dans nos applications de la croissance radiale secondaire et de la gastrulation, le formalisme des E.D.P. a été utilisé pour décrire le système de contrôle global des épithéliums. Dans les deux cas, le système de contrôle est chimique et l'utilisation des E.D.P. est adaptée, puisque la production et la diffusion des substances sont continues (parties 3 et 7). Le formalisme des E.D.P. a aussi été utilisé pour décrire l'évolution des cellules à l'aide de lois linéaires de la mécanique des milieux continus, dans le cas de la gastrulation (partie 7).

Ces deux premiers types de formalismes, fondés sur des équations différentielles, permettent une description « moyennée » des phénomènes. Les modèles d'équations différentielles ont été utilisés avec succès pour de nombreuses applications. Cet outil n'est par contre pas naturellement adapté à tous les problèmes biologiques. Il ne semble pas capable de modéliser facilement des interactions inter-niveaux mettant en jeu différentes échelles de taille, et il ne peut guère prendre en compte les aspects particuliers d'un milieu biologique, comme par exemple l'assemblage des macromolécules telles que les microtubules. On évoquera pour cela, dans la prochaine section, une deuxième grande classe de modèles : les modèles discrets.

1.3.2 Systèmes dynamiques discrets

Un système dynamique discret décrit l'évolution de variables dans un temps discrétisé.

Réseaux discrets d'interactions génétiques

Stuart Kauffman a proposé, il y a plus de trente ans, une description discrète synchrone des réseaux de régulation génétique (Kauffman, 1969, 1973, 1993) de manière parallèle à René Thomas dans le cas asynchrone (Thomas, 1973). Ce formalisme approxime les lois d'interactions entre les gènes par des fonctions discrètes simples. Ces interactions sont usuellement décrites par des équations continues non-linéaires. L'approche discrète permet de s'affranchir de la connaissance exacte des constantes biologiques, des valeurs des concentrations des composés,..., l'objectif étant une description qualitative. Typiquement, chaque gène est associé à une variable booléenne qui indique si le gène est actif ou inactif.

Ces travaux supposent que l'acquisition d'un état cellulaire spécifique (différenciation, prolifération, mobilité,...) est directement déterminé par la configuration d'un groupe de gènes. Les phénotypes observés sont alors associés à un attracteur du réseau. Cette modélisation repose notamment sur la conjecture de Delbrück de 1949, qui propose que la différenciation des cellules s'établit par un seul système de régulation, possédant plusieurs états distincts d'équilibre (Delbrück, 1949). Luis Mendoza en apporte une belle illustration, montrant comment un réseau génétique de 11 gènes participant à la morphogenèse florale d'*Arabidopsis Thaliana* peut comporter plusieurs états stables correspondant à différents phénotypes de fleurs (Mendoza, 1998).

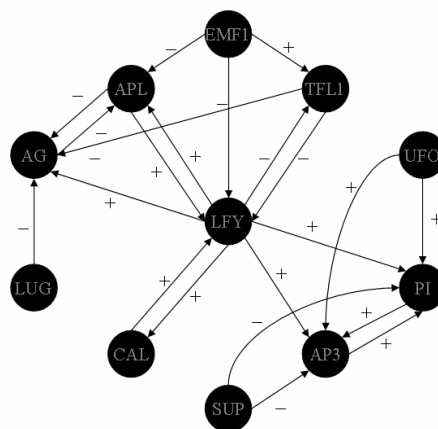


Figure 1.5. Réseau génétique d'*Arabidopsis Thaliana* (Mendoza, 1998).

Les études mathématiques ont notamment porté sur les conditions de multi-stationnarité des réseaux (Demongeot, 1998 ; Thomas, 1988). Ces modèles permettent notamment d'étudier certaines composantes biologiquement inconnues des réseaux de régulations (Aracena, 2001 ; Bledig *et al.*, 1996 ; Charpentier *et al.*, 1998).

Mathématiquement, un tel réseau est décrit par un 3-uplet (G, Q, F) où :

- $G = (V, E)$ est un graphe fini, appelé graphe de connexions.
- $V = [1, \dots, n]$ est l'ensemble des sommets qui représentent les gènes et leurs produits qui forment le réseau d'interaction.
- $E \subseteq V \times V$ est l'ensemble des arcs du réseau reliant les éléments en interaction, par exemple (j, i) pour l'arc orienté reliant j à i .
- $Q \subseteq \mathbb{Z}$ est un ensemble fini d'états représentant différents niveaux d'activation. Typiquement, $Q = \{0, 1\}$ pour un réseau booléen : la variable associée à un élément vaut 0 si l'élément est inactif et 1 s'il est actif.
- $F = (f_1, \dots, f_n) : Q^n \rightarrow Q^n$ est la fonction de transition globale du système.

L'évolution du système à partir d'un état initial $x_0 \in Q^n$ est calculée par l'itération de la loi de transition globale. Chaque fonction f_i prend comme variables les états des voisins du sommet i dans le graphe :

$$\forall i \in [1, \dots, n], F(x)_i = f_i(x_j, j \in \Gamma_G^-(i)), \text{ avec } \Gamma_G^-(i) = \{j \in V / (j, i) \in E\}.$$

Ces fonctions de mise à jour des valeurs peuvent s'exécuter en parallèle (de manière synchrone), séquentiellement ou par blocs. La dernière alternative met à jour séquentiellement des groupes de gène. Au sein d'un groupe, les gènes sont mis à jour en parallèle. L'exécution par blocs peut permettre de prendre en compte des conditions de proximité spatiale des gènes. Dans son étude, Mendoza montre qu'il est nécessaire d'opérer une remise à jour par blocs pour obtenir les bons phénotypes (Mendoza, 1998).

Plus récemment, des études cherchent à intégrer, sous forme discrète, les réseaux métaboliques et génétiques pour prendre en compte les interactions entre les niveaux génétique et moléculaire (Ramirez, soumis). Ce modèle est présenté en annexe. Une analyse mathématique est détaillée pour valider les résultats du modèle.

Automate cellulaire

Les automates cellulaires ont été inventés par Stanislaw Ulam et John von Neumann à la fin des années 40 (von Neumann, 1949). La question était d'étudier l'évolution de constructions graphiques engendrées par des règles simples. Ulam découpe l'espace en une grille de « cellules » qui peuvent être allumées ou éteintes. En partant d'une configuration donnée, la suivante est calculée selon des règles de voisinage : chaque cellule évolue selon une même loi qui prend en compte son état et (ou) l'état de ces voisins. Ce procédé s'est vite avéré capable de générer des figures complexes et esthétiques, des règles extrêmement simples permettant de construire ces structures complexes. Le procédé est rendu célèbre par « le jeu de la vie » de John H. Conway présenté pour la première fois par Gardner (Gardner, 1970). La question qui se pose est de savoir si de tels mécanismes peuvent expliquer la complexité du réel.

On peut définir formellement un automate cellulaire par un quadruplet (β, γ, q, F) .

- β est l'ensemble des cellules de l'automate.
- γ est l'ensemble des cellules du voisinage d'une cellule donnée, supposé identique pour toutes les cellules de β . Cet ensemble est décrit dans un référentiel local, translaté ensuite à chaque cellule de β .
- q est l'ensemble des états finis que peuvent adopter les cellules.
- F désigne la fonction globale de transition.

β et γ représentent ainsi l'aspect structurel de l'automate, alors que q et F en donnent l'aspect fonctionnel. Chaque composante F_i de la fonction de transition, qui s'applique à la cellule i de β , est telle que $F_i : q^{Card(\gamma)} \rightarrow q$.

Contrairement au réseau discret, les interactions entre les éléments sont données par un voisinage spatial défini de manière identique pour chaque cellule.

Les automates cellulaires ont été utilisés pour rendre compte de processus morphogénétiques tels que les mouvements d'épibolies en embryogenèse (Longo *et al.*, 2004), la genèse des vaisseaux (formation de veines dans les feuilles d'un arbre ou formation des vaisseaux sanguins (angiogenèse) (Markus *et al.*, 1999)), la formation des patterns de couleurs chez les animaux (Cocho *et al.*, 1987). Ermentrout et Edelstein-Keshet ont passé en revue bon nombre d'automates cellulaires qui ont servi à la modélisation biologique de

phénomènes de réaction-diffusion, de branchement, de déplacement de fourmis,... (Ermentout et Edelstein-Keshet, 1993).

Nous présentons dans cette thèse une contribution dans le domaine des automates cellulaires avec un automate de différenciation cellulaire (partie 6).

1.3.3 Systèmes complexes et modèles multi-agents

Il n'existe pas de définition formelle universelle pour les systèmes complexes. On les caractérise plutôt par certaines de leurs propriétés. Un tel système implique un grand nombre d'éléments (ou agents) qui peuvent exister à plusieurs niveaux d'échelle. Le système évolue selon des règles d'interaction, souvent non-linéaire, entre les différents éléments. Dans un tel système, même si les règles d'interaction utilisées sont simples, les comportements globaux peuvent s'avérer d'une grande complexité et d'une grande variété. On peut considérer que les automates cellulaires et les réseaux discrets d'interactions génétiques sont des cas particuliers des systèmes complexes où les éléments (cellules) sont figés, ainsi que les voisinages. Dans le cadre des systèmes complexes, les éléments sont quelconques, et peuvent, selon les règles d'évolution, bouger, se reproduire, se déformer, interagir,... Selon un vocabulaire plus employé en informatique, un système complexe est aussi appelé un système multi-agents.

Le but est de représenter plus fidèlement certains phénomènes à partir des lois constitutives des éléments de base. La science de la complexité vise ainsi à expliquer que le tout n'est pas seulement la somme de toutes ses parties. En effet, la combinaison de lois aux niveaux élémentaires peut faire émerger des comportements globaux nouveaux aux niveaux supérieurs, parfois inattendus, issus de la coopération entre les éléments. L'évolution du modèle est alors, sauf exception, impossible à étudier sans simulations numériques. Ce formalisme offre un cadre réaliste pour la modélisation. Les éléments peuvent être les molécules d'un gaz, les voitures sur une route, les fourmis ou les individus d'une société,... et les systèmes complexes s'appliquent dans n'importe quel domaine. Les lois constitutives peuvent donc être aussi variées que les domaines d'applications, il peut s'agir de lois physiques, mathématiques, chimiques, économiques, sociologiques,...

En biologie, il offre aussi un cadre de modélisation nouveau, qui s'est naturellement développé ces dernières années de par sa capacité à générer de l'ordre et des formes. Le

modèle d'Odell de 1981, déjà évoqué précédemment, utilise d'ailleurs une approche multi-agents avant que la terminologie de la complexité apparaisse (Odell *et al.*, 1981). Walker *et al.* l'utilisent pour simuler la cicatrisation épithéliale (Walker *et al.*, 2004). Dans ces deux cas, l'agent considéré est la cellule. Une telle approche est aussi utilisée par N. Glade *et al.* pour étudier la génération d'ordre dans la polymérisation des microtubules, en prenant comme agent les extrémités réactives des microtubules (Glade *et al.*, 2002 et 2004).

Les systèmes complexes offrent ainsi un cadre naturel pour notre étude, puisque l'on veut individualiser les comportements de chaque cellule au sein du tissu. On choisira alors comme agent la cellule. Nos modèles de morphogenèse épithéliale de la croissance secondaire et de la gastrulation se rangent ainsi dans cette catégorie des systèmes complexes (partie 3 et 7). La loi d'évolution des cellules est décrite par un système dynamique discret dans le premier cas et par un système d'E.D.P. dans le second.

1.4 Objectifs et « philosophie » du travail de thèse

Ce travail de thèse, à travers des cas d'application précis, cherche à étudier les aspects fondamentaux de la morphogenèse tissulaire, à l'échelle cellulaire. L'objectif est d'étudier comment l'intégration des comportements de chaque cellule au sein d'un épithélium génère le mouvement global de morphogenèse. L'enjeu du travail est notamment de montrer comment l'utilisation de lois cellulaires relativement simples permet de générer des mouvements morphogénétiques structurés. Ce travail se focalise sur l'application de cette méthode à la modélisation de la croissance radiale des conifères, mais un objectif est aussi de proposer un cadre général pour la morphogenèse, comme le montre l'utilisation du même formalisme pour la gastrulation.

L'approche utilisée relève des systèmes complexes, dans le sens où l'épithélium est modélisé comme un système collectif, composé de ses N cellules constitutives. Chaque cellule évolue selon une même loi de comportement, définie en fonction du cas d'application. Ces lois doivent, d'une manière générale, rendre compte des comportements fondamentaux des cellules pour la morphogenèse que sont la prolifération, l'élimination, la différenciation et la migration. La loi de comportement définit donc le fonctionnement de chaque cellule. Chaque loi dépend de paramètres liés aux différents contrôles mécaniques et chimiques (exogènes ou endogènes) pris en compte. On étudie alors le comportement de chaque cellule comme coopération entre ses caractéristiques intrinsèques et l'effet des systèmes de contrôle.

La modélisation « individu-centrée » utilisée est propre aux systèmes complexes, mais localement, chaque cellule évolue selon des lois de comportements héritées des systèmes dynamiques discrets ou des E.D.P. L'intégration des comportements nécessite par contre la définition d'un système complexe capable de gérer l'évolution du nombre de composants cellulaires, qui varie par division et par élimination cellulaire. Le système complexe permet aussi d'inclure naturellement les relations de voisinages entre les cellules, à la manière d'un automate cellulaire, et d'insérer ainsi un contrôle mécanique local. Le système est, de plus, soumis à un contrôle chimique qui régule globalement une partie des comportements cellulaires. Ce système de contrôle, sera toujours, dans nos modèles, modélisé par un système d'équations aux dérivées partielles. Cette modélisation permet aussi de considérer la

substance de contrôle comme un morphogène. Généralement, le concept de morphogène est utilisé dans les modèles de réaction-diffusion purs. Dans ce cas, la concentration du morphogène est liée à la forme biologique par une relation directe, souvent peu réaliste. On peut donner comme exemple celle de Spirov, utilisée pour la gastrulation (Spirov, 1993). Ce modèle est décrit plus précisément dans la partie consacrée à la gastrulation (partie 7.1.2). Notre méthode de modélisation permet, quant à elle, d'intégrer de manière naturelle l'action des morphogènes dans les lois de comportement des cellules. Par exemple, dans le cas de la croissance radiale, le contrôle chimique est assuré par une hormone de croissance végétale de la famille des auxines. Cette hormone est considérée, dans notre modèle, comme un morphogène : sa concentration contrôle les comportements cellulaires, en régulant précisément les quantités de croissance des cellules.

Un des buts de la modélisation entreprise est d'essayer de partir du problème biologique et ensuite de décider des outils mathématiques à utiliser selon leur adaptation aux problèmes, et non l'inverse. Il en résulte l'utilisation de plusieurs outils mathématiques différents. Par exemple, dans le cas de la croissance radiale des conifères, le modèle possède une partie continue et une autre discrète. La partie continue modélise le transport d'une hormone produite en permanence par le sommet de l'arbre. La partie discrète est réservée à la dynamique lente de croissance des cellules.

D'une manière générale, nous montrons la bonne adéquation d'une modélisation par système complexe contrôlé par un système d'équations aux dérivées partielles, pour les problèmes de morphogenèse tissulaire. Ce formalisme pourrait inclure une intégration des niveaux subcellulaires (gène, protéine, macromolécule,...), en donnant une description plus précise du modèle cellulaire utilisé. Chaque cellule deviendrait alors en soi un système complexe.

1.5 Bibliographie

1. Aracena, J. (2001). *Modelos Matemáticos Discretos Asociados a Sistemas Biológicos. Aplicación a las redes de regulación génica*. Tesis de Doctor en Cs. de la Ingeniería, mención Modelamiento Matemático, Universidad de Chile, 129 pp.
2. Bledig, S.A., Ramseier T.M. and Saier M.H. Jr (1996). Fructose mediates catabolite activation of pyruvate kinase (pykF) gene expression in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 178(1), 280–283.
3. Charpentier, B., Bardey V., Robas N. and Branlant C. (1998). The EIIGlc Protein Is Involved in Glucose-Mediated Activation of *Escherichia coli* gapA and gapB-pgk Transcription. *Journal of Bacteriology* 180(24), 6476-6483.
4. Cinquin, O. and Demongeot J. (2005). High-dimensional switches and the modeling of cellular differentiation. *J. Theor. Biol.* 233(3), 391-411.
5. Cocho, G., Perez-Pascual R., Rius J.L. and Soto F. (1987). Discrete systems, cell-cell interactions and color pattern of animals. II. Clonal theory and cellular automata. *J. Theor. Biol.* 125(4), 437-447.
6. Davidson, L.A., Koehl M.A.R., Keller R.E., and Oster G. F. (1995). How do sea urchins invaginate ? Using biomechanics to distinguish between mechanisms of primary invagination. *Development* 121, 2005-2018.
7. De Kepper, P., Dulos E., De Wit A., Dewel G. and Borckmans P. (1998). Taches, rayures et labyrinthes. *La Recherche* 305, 84-89.
8. Delbrück, M. (1949). Discussion. In : *Unités biologiques douées de continuité génétique. Colloques internationaux du CNRS*. Lyon : Editions du CNRS, 33-34 pp.
9. Demongeot, J. (1977). A stochastic model for the cellular metabolism. In : *Recent Developments in Statistics*, eds. J.R. Barra *et al.*, North Holland, Amsterdam, 655-662 pp.
10. Demongeot, J. (1998). Multi-stationarity and cell differentiation. *J. Biol. Syst.* 6, 1-2.

11. Demongeot, J., Glade N. and Forest L. Liénard systems and potential-Hamiltonian decomposition. I. Methodology, *C. R. Acad. Sc. Accepted*.
12. Ermentrout, G.B. and Edelstein-Keshet L. (1993). Cellular automata approaches to biological modeling. *J. Theor. Biol.* 160(1), 97-133.
13. Gardner, M. (1970). Mathematical Games : The fantastic combinations of John Conway's new solitaire game « life ». *Scientific American* 223, 120-123.
14. Gierer, A. and Meinhardt H. (1972). A theory of biological pattern formation. *Kybernetik* 12, 30-39.
15. Glade, N., Demongeot J. and Tabony J. (2002). Numerical simulations of microtubule self-organisation by reaction and diffusion. *Acta Biotheor.* 50(4), 239-68.
16. Glade, N., Demongeot J. and Tabony J. (2004). Microtubule self-organisation by reaction-diffusion processes causes collective transport and organisation of cellular particles. *BMC Cell Biol.* 3, 5-23.
17. Glade, N., Forest L. and Demongeot, J. Liénard systems and potential-Hamiltonian decomposition. II. Applications in biology. *C. R. Acad. Sc. Accepted*.
18. Goss, P.J. and Peccoud J. (1998). Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic Petri nets. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95(12), 6750-5.
19. Kauffman, S.A. (1969). Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets. *J. Theor. Biol.* 22, 437-467.
20. Kauffman, S.A. (1973). Control circuits for determination and transdetermination. *Science* 181, 310-318.
21. Kauffman, S.A. (1993). *The origins of order, self-organization and selection in evolution*. Oxford University Press.
22. Kolmogorov, A.N., Petrovsky I.G. and Piskunov N.S. (1937). *Une investigation de l'équation de la diffusion combinée avec un accroissement de masse et son application à*

- un problème biologique* (Traduit du Russe), dans « *Selected works of A.N. Kolmogorov* ». V.M. Tikhomirov (Ed.), Kluwer Academic Publishers, 1991.
23. Longo, D., Peirce S.M., Skalak T.C., Davidson L., Marsden M., Dzamba B. and DeSimone D.W. (2004). Multicellular computer simulation of morphogenesis : blastocoel roof thinning and matrix assembly in *Xenopus laevis*. *Dev Biol.* 271(1), 210-222.
 24. Markus, M., Bohm D. and Schmick M. (1999). Simulation of vessel morphogenesis using cellular automata. *Math Biosci.* 156(1-2), 191-206.
 25. Meinhardt, H. (1982). *Models of biological pattern formation*. Academic Press, London. 211 pp.
 26. Mendoza, L. and Alvarez-Buylla E.R. (1998). Dynamics of the genetic regulatory network for *Arabidopsis thaliana* flower morphogenesis. *J. Theor. Biol.* 193(2), 307-319.
 27. Murray, J.D. (1981). A pre-pattern formation mechanism for animal coat markings. *J. Theor. Biol.* 88, 161- 199.
 28. Murray, J.D. (1988). Les taches du leopard. *Pour la Science* mai 1988. 78 pp.
 29. Murray, J.D. and Myerscough, M.R. (1991). Pigmentation Pattern Formation on Snakes. *J. Theor. Biol.* 149, 339-360.
 30. Murray, J.D. (2002). *Mathematical biology I : An introduction*. Third edition. Springer-Verlag. New York. 551 pp.
 31. Murray, J.D. (2003). *Mathematical biology II : Spatial Models and Biomedical Application*. Third edition. New York. 811 pp.
 32. Namy, P., Ohayon J. and Tracqui P. (2004). Critical conditions for pattern formation and in vitro tubulogenesis driven by cellular traction fields. *J. Theor. Biol.* 227(1), 103-20.

33. Odell, G., Oster G., Alberch P. and Burnside B. (1981). The mechanical basis of morphogenesis I. Epithelial folding and invagination. *Dev. Biol.* 85, 446-462.
34. Painter, K.J, Maini P.K. and Othmer H.G. (1999). Stripe formation in juvenile *Pomacanthus* explained by generalized Turing mechanism with chemotaxis. *Dev. Biol.* 96, 5549-5554.
35. Painter, K.J, Maini P.K. and Othmer H.G. (2000). A Chemotactic Model for the Advance and Retreat of Primitive Streak in Avian Development. *Bull. Math. Biol.* 62, 501-552.
36. Peyret, F. and Prochiantz A. (2002). *La génisse et le pythagoricien. Traité des formes I*, Paris, Odile Jacob.
37. Ramirez, P., Andrews B.A., Aracena J., Goles E. and Asenjo J.A. A discrete mathematical model applied to genetic regulation and metabolic networks. *Submitted*.
38. Rashevsky, N. (1940). An approach to the mathematical biophysics of biological self-regulation and of cell polarity. *Bull. Math. Biophys.* 2, 15-25.
39. Rashevsky, N. (1948). *Mathematical biophysics : Physico-mathematical foundations of biology*. Second edition. Univ. of Chicago Press, Chicago Press.
40. Slack, J.M.W. (2002). Conrad Hal Waddington : the last Renaissance biologist ? *Nat. Rev. Genet.* 3(11), 889-95.
41. Spirov, A.V. (1993). The change of initial symmetry in the pattern-form interaction model of sea urchin gastrulation. *J. Theor. Biol.* 161, 491-504.
42. Taber, L.A. (1995). Biomechanics of growth, remodeling, and morphogenesis. *Appl. Mech. Rev.* 48, 487-545.
43. Thom, R. (1972). *Stabilité structurelle et morphogénèse. Essai d'une théorie générale des modèles*. Massachusetts : W. A. Benjamin, Inc. 362 pp.
44. Thom, R. (1980). *Modèles mathématiques de la morphogénèse*. Christian Bourgeois, Paris.

45. Thom, R. (1988). *Esquisse d'une sémiophysique*. Interéditions, Paris.
46. Thomas, R. (1973). Boolean formalization of genetic control circuits. *J. Theor. Biol.* 42, 563-585.
47. Thomas, R. and Richelle J. (1988). Positive feedback loops and multistationarity, *Discr. Appl. Math.* 19, 381-396.
48. Thompson, W. Sir D'Arcy. (1917). *On growth and form*. Cambridge University Press. Réédition version française (Forme et croissance), 1994, Le Seuil.
49. Turing, A.M. (1952). The chemical basis of morphogenesis. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B.* 237, 37-72.
50. Von Neumann, J. (1949). Theory and Organization of Complicated Automata, In : *Theory of Self-Reproducing Automata [by] John von Neumann*, 1966, A. W. Burks, ed., University of Illinois Press, Urbana, pp. 29-87 (Part One). Based on transcripts of lectures delivered at the University of Illinois, in December 1949. Edited for publication by A.W. Burks.
51. Waddington, C.H. (1940). *Organisers and Genes*. Cambridge Univ Press UK.
52. Waddington, C.H. (1957). *The strategy of genes*. Geo Allen and Unwin, London.
53. Waddington, C.H. (1966). *Principles of Development and Differentiation*. Macmillan, New York.
54. Walker, D.C., Hill G., Wood S.M., Smallwood R.H. and Southgate J. (2004). Agent-based computational modelling of wounded epithelial cell monolayers. *IEEE Trans. Nanobioscience* 3, 153-163.
55. Wolpert, L. (1969). Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. *J. Theor. Biol.* 25(1), 1-47.

2 CONTEXTE DE LA CROISSANCE RADIALE

« L'arbre - quel beau sujet. »

Paul Valery, cité par Robert Dumas.

Table de matières

2.1	Contexte biologique de la croissance radiale secondaire des conifères	42
2.1.1	Structures végétales.....	42
2.1.2	Organisation cellulaire de la croissance cambiale.....	46
2.1.3	Le système de contrôle de la croissance radiale secondaire.....	50
2.1.3.1	Contrôle mécanique.....	50
2.1.3.2	Contrôle chimique.....	51
2.2	Applications.....	56
2.3	Etat de l'art des modèles	63
2.3.1	La croissance radiale.....	63
2.3.2	Modélisation du transport de l'auxine.....	65
2.3.3	Autres modèles.....	67

Table des illustrations

Figure 2.1. Observation microscopique d'une section transversale de <i>Pinus radiata</i>	42
Figure 2.2. Terminologie de Butterfield pour le cambium et ses cellules dérivées.....	43
Figure 2.3. Observation microscopique du patron d'un parallépipède de xylème de pin	44
Figure 2.4. Anneaux de croissance du <i>Pinus radiata</i>	45
Figure 2.5. Le bois de compression.....	46
Figure 2.6. Schématisation des différentes divisions et processus de différenciation.....	47
Figure 2.7. Graphe des « transitions » des cellules entre les tissus.	48
Figure 2.8. Coupe transversale réelle de <i>Pinus radiata</i> montrant une configuration concentrique	56
Figure 2.9. Effet du vent sur un arbre isolé	56
Figure 2.10. Photographie d'un parasite <i>Rhyacionia buoliana</i>	57
Figure 2.11. Exemples de <i>Pinus radiata</i> déformés suite à une attaque parasitaire (Padilla, 2001).....	58
Figure 2.12. Etude sur le terrain de F. Padilla	59
Figure 2.13. Exemple de coupe transversale d'un arbre déformé	60
Figure 2.14. Le processus de récupération	61
Figure 2.15. Elagage d'une branche	62
Figure 2.16. Géométrie et notations utilisées par Kramer,.....	63
Figure 2.17. Croissance radiale par itération de la loi de Kramer (Kramer, 2001) (échelle en cm).....	65
Figure 2.18. Exemple de règle pour un L-system.	68

La croissance radiale des conifères fournit un exemple de processus de morphogenèse principalement régi par la prolifération cellulaire. Les conifères appartiennent à la famille des végétaux vasculaires (Tracheobionta). Au sein de cette famille, se trouvent les spermatophytes (ou spermatophytes), qui regroupent les plantes qui produisent des graines. Cette famille se divise ensuite en deux sous-catégories : les gymnospermes et les angiospermes. C'est dans la famille des gymnospermes que se classent les conifères (Coniferophyta). On recense actuellement environ 550-600 espèces de conifères parmi lesquels les pins, les sapins, les séquoias, les cèdres, les genévriers, les cyprès, et les mélèzes.

La croissance des conifères est assurée par des tissus particuliers : les méristèmes. Les méristèmes sont essentiels au développement des végétaux, puisque ce sont les seuls tissus capables de créer de nouvelles cellules. Ce terme vient du grec *meristos* qui signifie division. Les méristèmes créent toute la plante : ils sont à l'origine de la tige, des feuilles, des racines, des fleurs ou encore des branches. Ils sont constitués de cellules souches, mises en place durant l'embryogenèse. Ces cellules souches sont capables de générer à la fois des cellules identiques à elles-mêmes et des cellules destinées à se différencier. Les méristèmes sont ainsi des ensembles cellulaires organisés de cellules indifférenciées qui s'auto-entretiennent et génèrent des organes et des tissus tout au long de la vie végétale. Il existe deux types de méristème, différents par leur localisation dans la plante, leur caractère cytologique et leur rôle dans la construction des tissus : le méristème primaire ou apical, situé, comme son nom l'indique, dans les zones apicales de l'arbre (les extrémités des tiges et des racines) et le méristème secondaire, disposé en circonférence des tiges.

Les méristèmes primaires sont les premiers à se mettre en place ; ils forment tous les tissus primaires de la plante et permettent notamment l'élongation des tiges et des racines. La croissance secondaire est générée par les méristèmes secondaires et permet le développement en diamètre des tiges. Cette croissance secondaire n'a lieu qu'après la mise en place de la structure primaire de la plante : il s'agit d'une croissance en épaisseur ou croissance radiale. Le méristème secondaire principal est le cambium vasculaire, aussi appelé assise génératrice interne ou assise génératrice libéro-ligneuse.

2.1 Contexte biologique de la croissance radiale secondaire des conifères

La croissance radiale est donc engendrée par la dynamique d'un méristème spécialisé : le cambium vasculaire, aussi appelé plus simplement cambium. On rappelle ici les principaux mécanismes de la croissance radiale secondaire. Pour plus de détails, on pourra se reporter à (Han, 2001 ; Harris, 1991 ; Larson, 1994).

2.1.1 Structures végétales

Un conifère est organisé en plusieurs tissus, qui diffèrent selon leurs fonctionnalités. Le plus connu de ceux-ci est sans nul doute l'écorce, puisqu'il s'agit du tissu externe. Son rôle est de protéger l'arbre du milieu extérieur. Tous ces tissus sont en général disposés concentriquement autour du centre de l'arbre, où l'on trouve la zone médullaire. Cette zone médullaire est entourée d'un tissu épais dans la direction radiale : le xylème, aussi appelé bois.

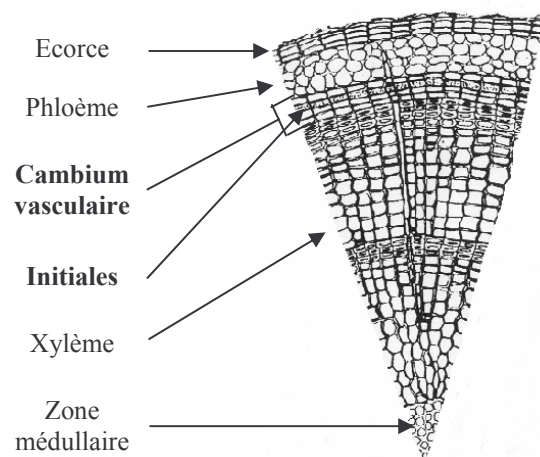


Figure 2.1. Observation microscopique d'une section transversale de *Pinus radiata*, selon (Zimmermann et Brown, 1971).

Le xylème est un tissu mort, dont le rôle est la conduction de la sève brute (l'eau et éléments minéraux issus des racines) vers les organes aériens et les feuilles. Ce transport est assuré par l'aspiration résultant de la transpiration des feuilles. Les cellules du xylème sont imprégnées de lignine ; cette substance rigidifie les parois cellulaires ce qui permet au xylème d'assurer un rôle de soutien de l'édifice végétal. C'est le xylème qui permet aux arbres d'atteindre des hauteurs considérables. Vers l'extérieur, l'écorce entoure un autre tissu conducteur, peu épais dans le cas des conifères : le phloème, encore appelé liber. Ce tissu transporte activement la sève élaborée, amenant les sucres issus des feuilles vers les autres organes.

Entre le phloème et le xylème, se trouve le cambium vasculaire. Le cambium est un tissu extrêmement fin composé, selon les terminologies utilisées, d'environ une dizaine de cellules dans la direction radiale, soit une épaisseur de l'ordre du millimètre. C'est le seul tissu entièrement composé de cellules vivantes en prolifération. Les cellules cambiales sont capables de croître et de se diviser, entraînant la croissance radiale de l'arbre, qui est ainsi générée par accrétions successives de matériel cellulaire. Ce tissu garde une épaisseur environ constante au cours du temps, puisque les cellules situées à l'extérieur du cambium, se différencient progressivement en cellules de xylème ou de phloème.

Butterfield, en 1975, a proposé une classification précise des différentes zones cellulaires situées entre le xylème et le phloème. Selon cette terminologie, citée par Larson (Larson, 1994), le cambium est constitué de trois couches tissulaires : celle des cellules cambiales initiales (ou initiales du cambium), celle des cellules mères du phloème et celle des cellules mères du xylème (Figure 2.2).



		Nom		Caractéristiques
ECORCE  ZONE MEDULLAIRE 	Phloème Secondaire		Tissu Mature	
	Phloème en différenciation		Construction du mur secondaire Croissance des cellules Division cellulaire limitée	
	Cambium	Cellules mères du phloème	Division périclinale	
		Cellules initiales	Division périclinale et anticlinale	
		Cellules mères du xylème	Division périclinale	
	Xylème en différenciation		Division cellulaire limitée Croissance des cellules Construction du mur secondaire	
	Xylème secondaire		Tissu mature	

Figure 2.2. Terminologie de Butterfield pour le cambium et ses cellules dérivées.

Le tissu des cellules initiales du cambium est absolument déterminant, puisqu'il est le seul à posséder des cellules pouvant se diviser selon les deux directions possibles : selon la

direction radiale (division anticlinale) et selon la direction perpendiculaire à la direction radiale (division péricleinale). Les cellules directement voisines de ce tissu sont les cellules mères du xylème, si elles se trouvent du côté du xylème par rapport au cambium et dans l'autre cas, ce sont des cellules mères du phloème. Ces cellules mères, comme les autres cellules périphériques du cambium, ne se divisent pas de manière anticlinale. Plus à l'extérieur, on trouve les cellules en voie de différenciation vers le xylème ou vers le phloème. Ces cellules sont caractérisées par un faible taux de division cellulaire, une étape de croissance (auxèse) et une autre de construction du mur cellulaire secondaire qui va rigidifier l'édifice cellulaire en vue des besoins fonctionnels du xylème et du phloème. Les cellules intègrent finalement les tissus matures du xylème ou du phloème, après la phase de différenciation. On définit quelquefois la zone cambiale comme l'ensemble formé par le cambium et les cellules du phloème et du xylème en différenciation.

Le tissu cambial initial est composé de deux types cellulaires : les cellules initiales fusiformes et les cellules initiales de rayons. Les premières sont largement majoritaires dans le cambium. Les cellules cambiales ont un axe privilégié : les fusiformes initiales sont allongées dans la direction verticale tandis que les cellules initiales de rayons sont allongées dans la direction radiale. Les fusiformes initiales sont 10 à 20 fois plus longues que larges (Romberger *et al.*, 1993), la largeur typique pour les pins étant de 50 µm. Les cellules filles conservent les proportions des cellules initiales et, finalement, le xylème et le phloème sont organisés par un système axial de cellules fusiformes et un système horizontal de cellules de rayons.

Le système axial assure le rôle de conduction entre le haut et le bas de l'arbre, le système horizontal permet une communication entre le phloème et le xylème. La Figure 2.3 présente une coupe cellulaire de xylème selon différents plans d'observation. L'ensemble de ces coupes constitue le patron d'un parallélépipède de xylème de pin. Les deux coupes carrées

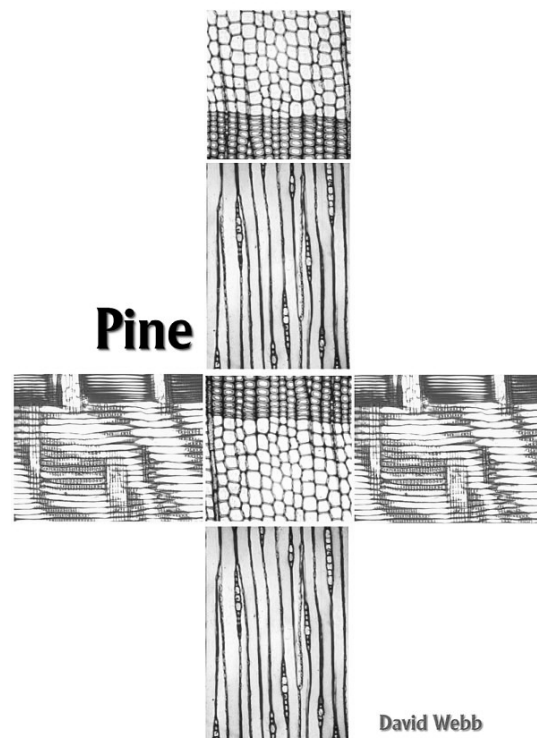


Figure 2.3. Observation microscopique du patron d'un parallélépipède de xylème de pin (Webb, 2005).

sont des coupes transversales. Quelques cellules de rayons apparaissent en longueur dans ces coupes. L'une d'entre elles est bien visible, sur la gauche de la coupe carrée inférieure. Les cellules majoritairement représentées sont les cellules fusiformes. Les autres coupes sont perpendiculaires aux deux coupes carrées. Elles mettent en évidence le système axial, organisé par les morphologies allongées des cellules fusiformes. Le système horizontal apparaît lorsque les plans d'observation coupent des cellules de rayons.

Les coupes carrées montrent aussi que le xylème formé n'a pas une densité constante ; celle-ci varie selon l'alternance des saisons. En effet, pendant les périodes de forte croissance, le xylème est moins dense que pendant les périodes de faible croissance. Cette succession de différences de densité produit les anneaux de croissance, qui sont observables macroscopiquement et microscopiquement (Figure 2.4), permettant, pour certains arbres, de distinguer très clairement ces anneaux et d'avoir ainsi un bon estimateur de leur âge (calcul favori de la dendrochronologie).

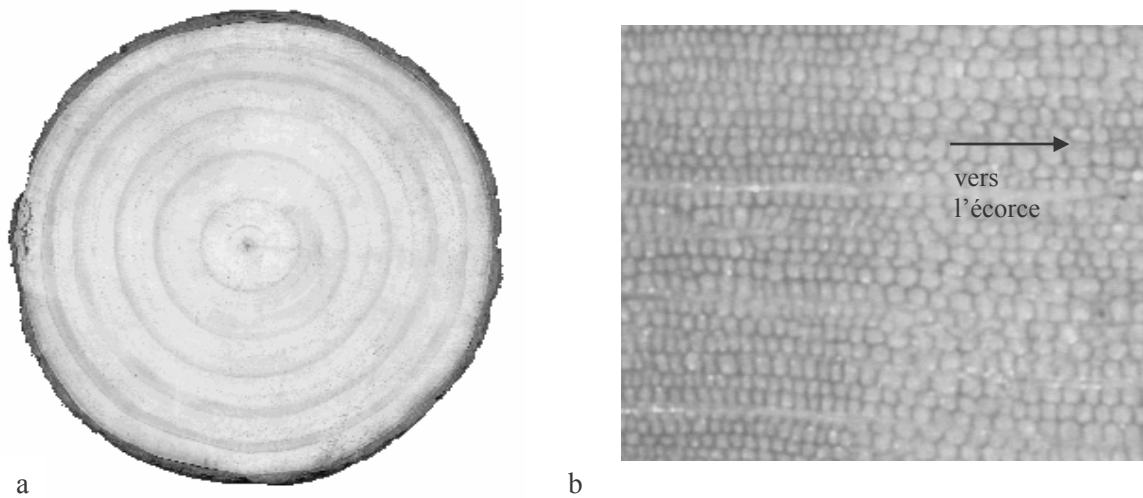


Figure 2.4. Anneaux de croissance du *Pinus radiata*.

(a) observation macroscopique (Padilla, 2001).

(b) observation microscopique de l'alternance de densité cellulaire (Forest *et al.*, 2004).

La structure du bois peut aussi présenter une particularité de densité dans le cas du bois dit de compression. Ce bois, généralement formé dans des zones de fortes déformations, se caractérise par une densité supérieure à la normale, souvent observable macroscopiquement

(Figure 2.5a). Il est, de plus, constitué de cellules rondes séparées par d'importants espaces intercellulaires (Figure 2.5b).

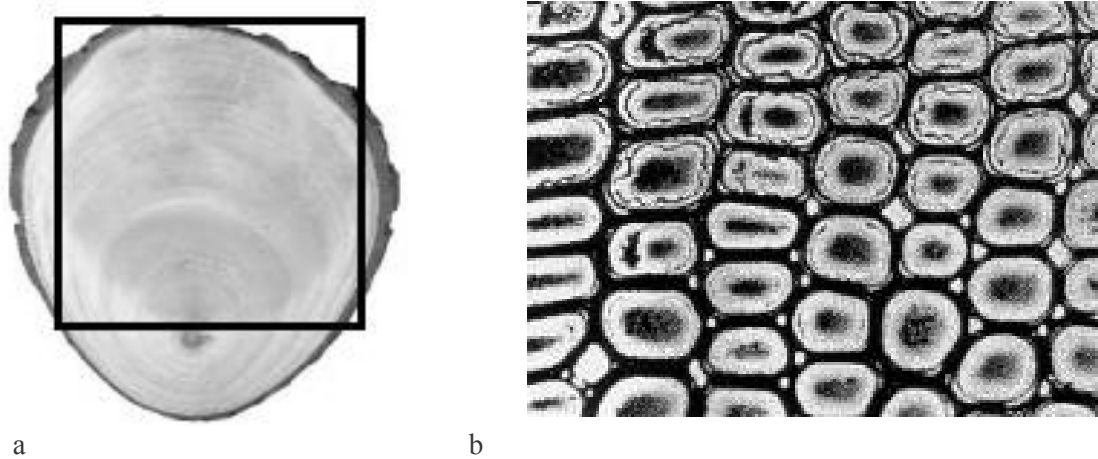


Figure 2.5. Le bois de compression.

(a) Section transversale comprenant une partie dense de bois de compression délimitée par le cadre noir (Padilla, 2001).

(b) Observation microscopique du bois de compression (Bamber et Burley, 1983).

2.1.2 Organisation cellulaire de la croissance cambiale

L'activité des cellules cambiales initiales est donc essentielle pour la croissance radiale secondaire. Comme nous l'avons vu, les divisions cambiales se classent en deux grandes catégories, selon leur orientation. Le premier type est la division périclinale pour laquelle le nouveau mur cellulaire séparant les deux futures cellules filles s'oriente parallèlement à la base de la cellule mère, c'est-à-dire dans la direction tangente à la circonférence du tronc. L'autre type, anticlinale, place le nouveau mur dans la direction radiale.

Le destin des cellules filles dépend du type de division. Lorsqu'il s'agit d'une division anticlinale, les deux cellules filles restent dans le tissu des initiales du cambium et entament alors un nouveau cycle de croissance. Par contre, sur les deux cellules filles issues d'une division périclinale, une seule reste une cellule initiale. L'autre cellule entame une voie de différenciation vers le xylème ou vers le phloème.

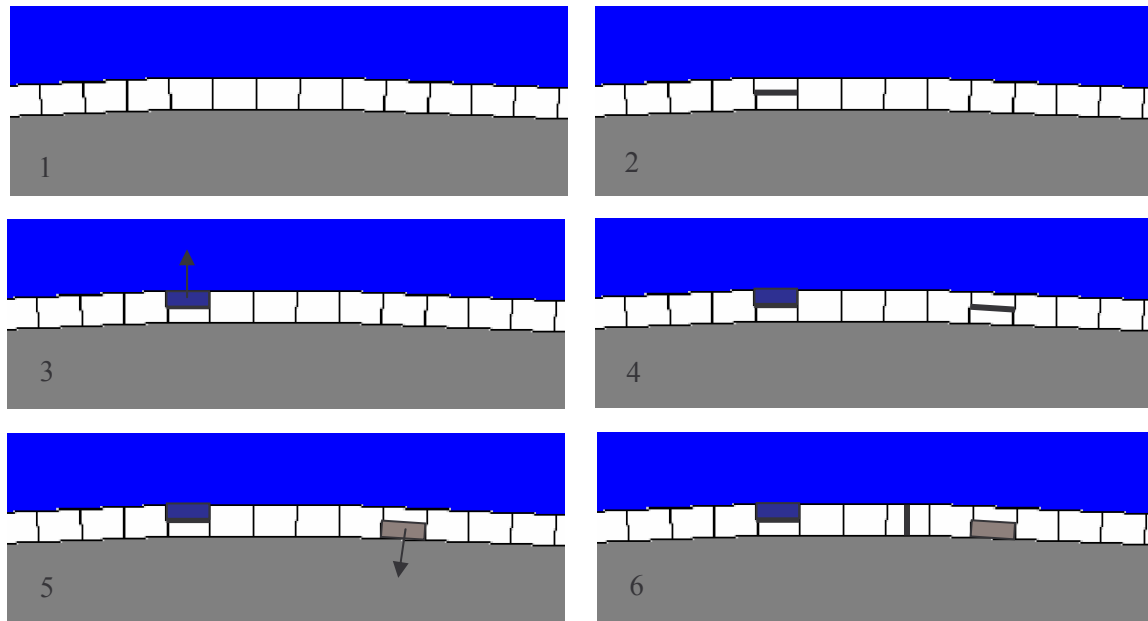


Figure 2.6. Schématisation des différentes divisions et processus de différenciation.

La Figure 2.6 représente schématiquement, pour des cellules fusiformes, une succession de deux divisions périclinales (2-4) suivies d'une division anticlinale (6) parmi les cellules du cambium représentées en blanc. Les flèches symbolisent la « direction » des voies de différenciation, vers le xylème ou vers le phloème. Cette représentation très simplifiée réduit le cambium au tissu des cellules initiales et prend uniquement en compte la division cellulaire sans inclure la croissance des cellules. Après une division cellulaire, le nombre total de cellules augmente forcément de 1. Différentes régulations permettent notamment de définir quel tissu parmi le phloème, le xylème et le cambium voit son nombre de cellules incrémenté d'une unité.

Les fréquences relatives des types de division doivent être précisément contrôlées. En effet, les divisions périclinales produisent des cellules dans la direction radiale, ce qui contribue directement à la croissance en épaisseur. Cette croissance radiale s'accompagne naturellement d'une croissance en circonférence. Les cellules cambiales ne peuvent pas s'allonger indéfiniment dans la direction tangentielle : les divisions anticlinales permettent de faire face à la croissance en circonférence, car ce type de division entraîne une augmentation de un du nombre de cellules cambiales. Les régulations permettent de doser la fréquence relative des deux types de division pour permettre une évolution cohérente entre croissance en épaisseur et croissance en circonférence.

Une autre composante intervient fortement dans la régulation du nombre de cellules cambiales : l'élimination possible de cellules du cambium. Les cellules cambiales entrent en compétition pour l'espace de croissance, et le cambium vasculaire peut se réarranger en éliminant certaines de ses cellules. Par exemple, en cas d'augmentation locale du nombre de cellules suite à une surproduction, le cambium réagit par élimination. Les cellules issues de divisions anticlinales sont souvent les victimes de ces éliminations, car elles sont généralement plus fines que les autres : elles sont caractérisées par un taux d'élimination élevé (Larson, 1994). La régulation de la croissance radiale résulte donc d'un contrôle entre fréquence de division périclinale, fréquence de division anticlinale et fréquence d'élimination cellulaire.

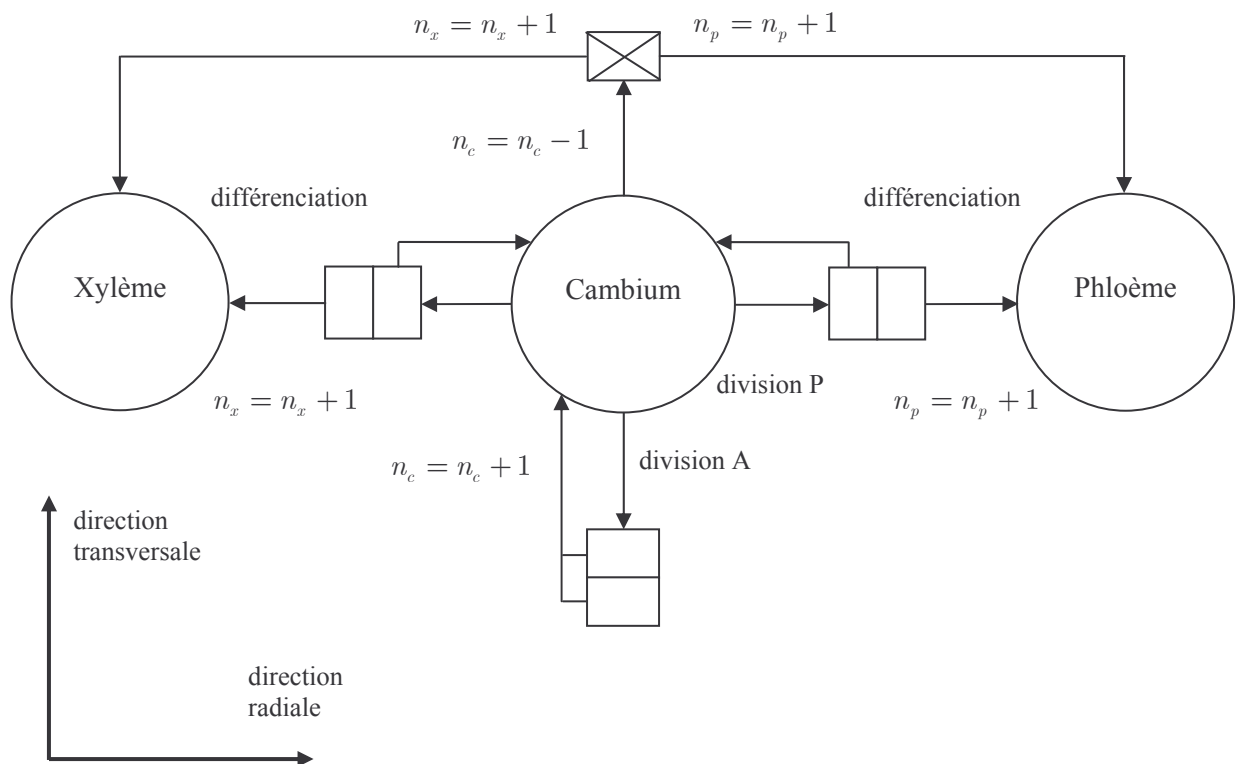


Figure 2.7. Graphe des « transitions » des cellules entre les tissus.

(n_x : nombre de cellules de xylème, n_p : nombre de cellules de phloème, n_c : nombre de cellules cambiales).

La Figure 2.7 symbolise la dynamique de la croissance radiale sous la forme d'un graphe. Le tissu central est le cambium. Il peut « échanger » des cellules avec ses voisins, les tissus du phloème et du xylème. Le flux de cellules est toujours dirigé vers l'extérieur du

cambium. Le graphe représente la régulation du nombre de cellules cambiales pendant les événements de division et d'élimination cellulaire. Les cellules du cambium sont en moyenne de mêmes dimensions au cours des générations. Cette conservation de la taille est le résultat d'un équilibre entre les différents types de division et les éliminations.

Le paradoxe du « ruban autour de la terre »

Considérons que l'on a enroulé la circonférence de la terre dans un ruban circulaire tendu. Imaginons que l'on veuille soulever le ruban pour qu'il soit à 1 m de hauteur de tous les points de la surface de la terre. On peut se demander de combien il faut rallonger le ruban pour pouvoir satisfaire cette contrainte. On peut se reposer la question dans le cas d'une orange. Vu l'immensité du rayon de la terre, on pourrait s'imaginer que l'ordre de grandeur du rallongement dans le cas de la terre est très élevé et par contre très petit pour l'orange.

Considérons un cercle de rayon R qui croît radialement jusqu'à atteindre un rayon de $R + \Delta R$. Son périmètre croît par cette transformation de $2\pi R$ à $2\pi(R + \Delta R)$, soit une augmentation de $2\pi\Delta R$, c'est-à-dire que, finalement, d'une manière contre-intuitive, l'augmentation en circonférence est indépendante du rayon initial et ne dépend que de l'amplitude de la croissance en rayon ΔR . Pour répondre au paradoxe ci-dessus, on calcule que le rallongement pour la terre *et* pour l'orange est de 2π mètres.

On peut reporter ces conclusions au cas de la croissance radiale secondaire, si on la considère comme étant donnée par une succession de cercles concentriques autour de la zone médullaire. Ce résultat montre que l'augmentation du périmètre par croissance radiale est la même quelque soit le rayon de l'arbre. C'est-à-dire que le nombre de cellules à produire par division anticlinale est le même au cours du temps. Ceci implique une décroissance de la fréquence d'occurrence des divisions anticlinales au cours du temps.

2.1.3 Le système de contrôle de la croissance radiale secondaire

La croissance cambiale décrite dans le paragraphe précédent est contrôlée par des facteurs chimiques et mécaniques. Les facteurs génétiques, qui influent sur le métabolisme des facteurs chimiques, ne sont pas envisagés dans notre travail.

2.1.3.1 Contrôle mécanique

Les facteurs mécaniques mettent essentiellement en jeu les forces de contact entre les cellules et les propriétés mécaniques des cellules (élasticité, taux de compressibilité,...). Ces propriétés varient sensiblement selon la nature des cellules. Par exemple, une cellule suffisamment différenciée en xylème forme son second mur cellulaire à base de cellulose et de lignine, ce qui la rend très rigide ((Harris, 1991a ; Zimmermann et Brown, 1971). Cette étape est absolument importante, puisque ensuite la cellule de xylème est définitivement fixée en forme et en position dans l'organisation de l'arbre. Les cellules du cambium paraissent par contre plus déformables. L'aspect mécanique est aussi déterminant dans le choix de la direction de croissance des cellules cambiales. Comme pour nombre de systèmes biologiques, la croissance tend à s'effectuer dans la direction des moindres contraintes. Ainsi, lorsqu'une cellule cambiale croît, elle le fait principalement vers l'extérieur en direction du phloème, puisque vers l'intérieur le xylème forme un tissu rigide. Cette croissance peut aussi se répartir minoritairement dans la direction tangentielle (perpendiculairement à la direction radiale), puisque les cellules voisines du cambium sont déformables. La tendance principale des cellules est ainsi de s'aligner pour former des lignes radiales, comme l'illustre la Figure 2.4b.

Des études supposent aussi un rôle mécanique dans l'orientation du nouveau mur cellulaire pendant la cytokinèse (Smith, 2001). Selon cette étude, une cellule sphérique, sans contrainte particulière, oriente aléatoirement son plan de division alors qu'une cellule contrainte privilégie une direction spécifique.

Les facteurs mécaniques jouent ainsi un rôle local important dans le contrôle de la croissance radiale. Ils interviennent aussi globalement, par exemple par l'effet des efforts créés par les branches sur le tronc. Parallèlement à ces aspects mécaniques, agissent des facteurs hormonaux.

2.1.3.2 Contrôle chimique

Il existe de nombreuses évidences expérimentales qui prouvent l'influence prédominante des hormones végétales sur la régulation de la croissance radiale via un contrôle des divisions cellulaires et de la croissance cellulaire (Clare *et al.*, 2000). Comme l'indique Davies, ces hormones influencent les processus de croissance, de différenciation et de développement en agissant à faible concentration (Davies, 1995).

Notre travail se concentre sur le rôle d'une hormone de la famille des auxines appelée acide indole-3-acétique, on la nommera aussi dans la suite IAA ou auxine. Bien que d'autres hormones aient un rôle dans les processus de croissance, l'IAA est considérée comme le plus important régulateur de la croissance végétale. On peut cependant citer plusieurs travaux étudiant le rôle d'autres hormones, telles que l'éthylène (Chen *et al.*, 1999 ; Eklund et Little, 1998 ; Eklund et Tiltu, 1999), les cytokinines (Chen *et al.*, 1999) ou les gibbérellines (Little et Pharis, 1995 ; Kalev et Aloni, 1998 ; Wang *et al.*, 1997). Les gibbérellines jouent notamment un rôle dans l'élongation des tiges et le développement du fruit. L'éthylène est un inhibiteur de croissance, qui est aussi un promoteur du mûrissement des fruits. Il intervient aussi dans les processus d'abscission, ou chute physiologique d'un organe, tels que les chutes des feuilles en automne ou des fruits en été. Les cytokinines sont impliquées dans la croissance en épaisseur et la division cellulaire. Leurs effets s'intensifient en présence d'auxine. Elles induisent aussi la différenciation des bourgeons. On compte généralement cinq classes d'hormones végétales, la dernière étant celle de l'acide abscissique. Cet acide est également reconnu comme un promoteur de l'abscission. Il agit aussi comme un inhibiteur de croissance et maintient les bourgeons en état de dormance.

IAA, transport et régulation

L'acide indole-3-acétique est l'hormone végétale la plus étudiée. Elle est reconnue comme étant une hormone importante dans la régulation de nombreux phénomènes, tels que la croissance et le développement des plantes et des arbres (Goldsmith, 1977, 1993 ; Little et Savidge, 1987 ; Ugglu *et al.* 1998, 2001). Elle stimule la croissance radiale par une action sur les cellules cambiales. L'auxine active des enzymes qui permettent l'expansion du mur cellulaire.

Cette hormone est produite aux différents apex de l'arbre par les bourgeons et les jeunes feuilles (Goldsmith, 1977 ; Little et Savidge, 1987 ; Parker et Briggs, 1990 ; Aloni, 2004). Les sources principales d'IAA sont les jeunes feuilles de l'apex principal (c'est-à-dire

le sommet de l'arbre) (Ljung *et al.*, 2001). L'IAA est ensuite transportée en direction des racines. Ce transport est actif et s'effectue principalement via les cellules du cambium. En effet, Uggla *et al.* (1998) montrent que la répartition de la concentration de l'IAA sur une direction radiale présente le profil d'une Gaussienne dont le maximum se situe au-dessus du cambium et plutôt du côté du phloème. Le maximum est sûrement localisé au-dessus de la zone des initiales. La concentration décroît rapidement, lorsque l'on s'éloigne des initiales et vient s'annuler en s'approchant des zones du xylème et du phloème. Nous utilisons le terme de Gaussienne pour signifier que les hétérogénéités de la courbe de la concentration de l'auxine sur une direction radiale sont bien prises en compte par le graphe d'une fonction de type gaussien. Nous appellerons fonction de type gaussien et par abus de langage Gaussienne

les fonctions d'équation $f(x) = k_1 + k_2 e^{-\frac{(x-k_3)^2}{k_4}}$.

L'IAA est ainsi principalement localisée au sein du cambium et son transport s'effectue via les cellules cambiales. Ce résultat peut aussi signifier qu'une partie de l'auxine est synthétisée par le cambium. Il n'y a pas à ce jour de preuves ou de réfutations significatives de cette hypothèse. De la même manière, l'hypothèse de l'existence d'un taux de consommation de l'auxine au cours de son transport n'est pas clairement élucidée.

Selon le modèle chimiosmotique, le transport de l'auxine est assuré à l'échelle cellulaire par un mécanisme actif dû à des protéines situées dans la membrane plasmique. Chaque cellule cambiale possède deux types de protéines de contrôle, l'un permettant l'entrée de l'IAA dans la cellule (« influx carrier »), l'autre permettant sa sortie (« efflux carrier ») (Rubery et Sheldrake, 1974). L'hypothèse stipule que les protéines de sortie sont localisées majoritairement du côté basal de la cellule (Mitchison, 1980 ; Jacobs et Gilbert, 1983). Ceci détermine un flux net d'IAA depuis le haut de la cellule vers sa base (Estelle, 1998). Le transport est ainsi polarisé selon la direction longitudinale descendante (Goldsmith, 1977 ; Lomax *et al.*, 1995 ; Rashotte *et al.*, 2003). On parle de mouvement basipétal, c'est-à-dire dirigé vers la base. La direction locale de polarisation suit principalement la direction du grand axe des cellules cambiales fusiformes.

Plusieurs travaux expérimentaux ont été menés pour identifier des protéines liées au transport de l'auxine. Bennett *et al.* ont mis en évidence que la protéine AUX1 pouvait agir comme un « influx carrier » (Bennett *et al.*, 2002), alors que Friml *et al.* ont montré que la protéine membranaire PIN3 était un candidat pour jouer le rôle d'un « efflux carrier » (Friml *et al.*, 2002). Muday *et al.*, en 2000, s'intéressent à deux complexes de protéines qui

contrôleraient les mouvements d'entrée et de sortie de l'IAA dans les cellules : le complexe d'entrée AUX et celui de sortie PIN (Muday *et al.*, 2000).

La vitesse de ce transport actif est de l'ordre du centimètre par heure. Les valeurs expérimentales estimées par différentes études se situent entre 0.5 et 2 cm/hr (Hollis et Tepper, 1971 ; Zamski et Wareing 1974 ; Lachaud et Bonnemain, 1982 et 1984 ; Odani, 1985 ; Lomax 1995). En plus de la composante du transport actif largement dominante, l'IAA est également soumise au phénomène de diffusion. Comme le précise Kramer, cette diffusion est anisotropique (Kramer, 2002). On peut en effet considérer que les principales barrières à la diffusion sont les membranes cellulaires. Comme les cellules cambiales sont beaucoup plus allongées que larges, la diffusion est facilitée dans la direction du grand axe des cellules par rapport aux directions transversales.

IAA, tropisme et croissance différentielle

Les plantes peuvent adapter leurs patterns de taux de croissance en fonction de stimuli extérieurs tels que la lumière (phototropisme) et la gravité (gravitropisme ou géotropisme), ou encore en réponse à des signaux internes (Parker et Briggs, 1990). La plante (ou l'arbre) peut alors présenter des profils de croissance différentielle, où les taux de croissance dépendent de la position. L'auxine est aussi considérée comme le principal signal médiateur des tropismes de la plante. A la fin des années 20, l'hypothèse Cholodny-Went a été formulée, pour expliquer la réponse de la plante au gravitropisme. Cette hypothèse propose que les taux de croissance différentiels de la réponse gravitropique sont engendrés par une redistribution de l'auxine, elle-même causée par une redirection du flux de transport d'auxine (Evans, 1991). Cette hypothèse biologique est soutenue par des expériences qui ont montré que l'utilisation d'inhibiteurs du transport d'auxine abolit complètement la réponse gravitropique (Katekar et Geissler, 1977 ; Muday et Haworth, 1994, cité par Lomax *et al.*, 1995). La redistribution d'auxine a, elle aussi, été mise en évidence expérimentalement (Friml *et al.*, 2002 ; Funada *et al.*, 1990 ; Ottenshläger *et al.*, 2003 ; Parker et Briggs, 1991; Rashotte *et al.*, 2000). On peut également citer des travaux plus anciens, où cette redistribution avait déjà été décelée (Dolk, 1936 ; Gillespie et Thimann, 1963 ; Goldsmith et Wilkins, 1964). Ce mécanisme de tropisme lié au transport d'auxine est en accord avec la théorie chimiosmotique. En effet, comme l'affirment Friml *et al.*, la gravité semble provoquer une réorientation du positionnement membranaire des « efflux carriers » et donc une réorientation du flux d'auxine (Friml *et al.*, 2002).

L'IAA est aussi la médiatrice du phototropisme selon un mécanisme de réorientation semblable. En effet, des concentrations plus importantes d'auxine apparaissent du côté opposé au stimulus de lumière. Ceci crée une croissance plus intense de ce côté et donc, globalement, la plante se penche du côté de la lumière. La mise en évidence du phototropisme est attribuée à Charles Darwin, aidé de son fils Francis. Ils observent ensemble que les plantes se plient où demeurent statiques selon l'orientation du flux de lumière. Ils utilisent, pour la première fois, la notion de « messenger contrôlant la croissance ». Les travaux des Darwin, père et fils, sont publiés dans « *The power of movement in plants* » (« *Le pouvoir du mouvement chez les plantes* ») en 1880. Historiquement, l'identification du messenger comme étant l'IAA, est attribuée à F.W. Went, une cinquantaine d'années plus tard (il apporte ainsi son nom à la théorie Cholodny-Went) (Went, 1928).

Outre des facteurs comme la gravité ou la lumière, on peut citer d'autres cas de croissance différentielle chez la plante : la nutation et le thigmotropisme (ou haptotropisme). Le phénomène de nutation désigne un type particulier de croissance en élongation, observé lorsque les apex décrivent une trajectoire en spirale. Ce phénomène intervient généralement selon de très faibles amplitudes et ne s'observe pas directement. Chez certaines catégories de plantes seulement, ce mouvement est intrinsèque et de grande amplitude : la plante explore les possibilités de l'espace environnant. Le thigmotropisme est un tropisme dont le stimulus est le contact direct. Le contact d'un objet au niveau d'une zone de croissance peut provoquer une inhibition locale de croissance qui se traduit par une courbure de la plante vers l'objet. Le cumul de ces deux phénomènes expliquent pourquoi certaines plantes, comme la glycine ou le liseron, peuvent croître en s'enroulant autour d'un axe.

IAA et densité cellulaire

L'auxine semble aussi être impliquée dans les changements de densité cellulaire au sein du cambium (Ugglå *et al.*, 2001 ; Funada *et al.*, 2001). En période normale, la croissance des cellules cambiales est fortement activée par l'auxine. Pendant les périodes de faible croissance, l'activation est largement atténuée. Ceci peut être provoqué par une augmentation de la production d'éthylène ou (et) être une conséquence directe des moins bonnes conditions extérieures (température plus basse, diminution de la période photosynthétique,...). Cette inhibition de l'effet de l'auxine explique pourquoi la quantité de xylème produite pendant les périodes de basse croissance est si faible. Les cellules formées à cette période sont aussi plus petites, ce qui explique une densité de bois plus importante en basse saison (Figure 2.4b).

L'auxine semble aussi être impliquée dans la formation du bois de compression des arbres (Funada *et al.*, 1990 ; Sundberg *et al.*, 1994 ; Yamaguchi *et al.*, 1980).

IAA, autres fonctions

D'autres fonctions ont été répertoriées pour l'auxine. L'IAA est un inhibiteur de la croissance des bourgeons latéraux pouvant amener la naissance de branche. Cette propriété est connue comme étant la dominance apicale. Elle stimule la croissance des fruits, la formation des racines latérales, la différenciation de cellules cambiales en cellules de xylème, inhibe l'abscission,...

2.2 Applications

Notre travail est appliqué au cas du conifère *Pinus radiata*. Il s'appuie sur une étude sur le terrain menée par Fernando Padilla en 2001 (Padilla, 2001).

La configuration de croissance la plus habituellement observée est la croissance concentrique, lorsque le xylème et le phloème sont produits concentriquement autour de la couche préexistante. Ceci se traduit par une disposition régulière des anneaux annuels de croissance, délimités par des zones sombres fines correspondant aux périodes de basse croissance (Figure 2.8).



Figure 2.8. Coupe transversale réelle de *Pinus radiata* montrant une configuration concentrique (Forest *et al.*, 2004).

Dans ce cas, la forme globale du tronc est cylindrique. La configuration concentrique que l'on appellera aussi croissance normale est prise comme référence. Ce cas est caractérisé par des taux de croissance radiale homogènes sur la circonférence du tronc. Nous nous intéressons aussi à des perturbations de cette configuration.

Plusieurs facteurs peuvent en effet modifier le développement concentrique, localement ou globalement. Ce sont souvent des cas où le tronc n'a plus une forme cylindrique. Les effets globaux sont, par exemple, les tropismes de la plante (phototropisme, géotropisme). On peut aussi mentionner l'effet du vent (Figure 2.9). Un arbre isolé, qui n'est pas protégé par ses voisins dans une forêt peut présenter des déformations s'il croît dans une région fortement ventée. Un effet local est par exemple une attaque parasitaire.



Figure 2.9. Effet du vent sur un arbre isolé

Certains parasites tels que *Rhyacionia buoliana*, (en photo sur la Figure 2.10) sont capables d'attaquer l'apex principal d'un jeune arbre en se nourrissant de ses cellules lorsqu'ils sont dans leur état larvaire. Ils bloquent localement la croissance, ce qui provoque une concavité dans le cambium. Il s'ensuit une déformation globale de l'arbre. La Figure 2.11 présente plusieurs types de déformations dues à une attaque parasitaire.



Figure 2.10. Photographie d'un parasite *Rhyacionia buoliana* (Padilla, 2001).

Ces photographies proviennent de l'étude expérimentale de F. Padilla, qui eut pour but d'étudier spécifiquement la croissance d'arbres présentant des déformations liées à l'action parasitaire. Sur le premier arbre, on a représenté la direction de la pesanteur, pour mettre en évidence l'amplitude des déviations provoquées. Ces arbres ont été observés dans une zone spécifique du Chili, dans le sud du pays, près de la ville de Valdivia (Figure 2.12c). Dans cette région, le parasite *Rhyacionia buoliana* est particulièrement répandu. L'étude de ces déformations est de première importance pour les industries qui exploitent les domaines forestiers, puisqu'un tronc possédant des déformations perd énormément en valeur économique. Premièrement, ces troncs sont nettement plus difficiles à transporter, puisque plus volumineux. De plus, leur découpe produit des planches droites de longueur limitée. La perte de rentabilité provient aussi de la formation de bois de compression dans les zones déformées de l'arbre (Plomion *et al.*, 2000). Ce type de bois est plus dense, très dur, fragile, compliquant fortement les étapes de découpe. Il se prête également moins bien aux traitements chimiques.

L'étude sur le terrain a consisté à choisir 50 arbres dans une forêt du sud du Chili pour les échantillonner en sections transversales. De chaque arbre ont été extraites entre 10 et 15 sections transversales d'une épaisseur de 3 à 5 cm. Le plan de chaque section transversale est repéré par trois points. Les délimitations de chaque anneau de croissance ont été numérisées. Toutes les informations ont ensuite été stockées dans une base de données. Le but de l'opération était d'élaborer une méthode pour reconstruire les années de croissance des arbres, afin de reconstituer leur historique de croissance et ainsi visualiser l'évolution des déformations, année après année, en trois dimensions. La méthode consistait à interpoler les anneaux de croissance successifs entre les différentes sections d'un même arbre.



Figure 2.11. Exemples de *Pinus radiata* déformés suite à une attaque parasitaire (Padilla, 2001).



a



b



c

Figure 2.12. Etude sur le terrain de F. Padilla (Padilla, 2001).

- (a) Forêt du Chili.
- (b) Extraction et numérotation de sections transversales.
- (c) Localisation de la forêt dans le pays.

Les résultats des interpolations montrent que, dans la plus grande partie des cas, les arbres « récupèrent » progressivement leurs déformations, c'est-à-dire qu'ils tendent à croître de manière à atténuer l'intensité de leurs zones courbées, afin de retrouver une stature globale verticale (Cominetti *et al.*, 2002). D'autres ont été tellement affectés qu'ils n'ont plus de réaction. La tendance de récupération se reflète au niveau des sections transversales, par des répartitions non concentriques de la production de xylème. La Figure 2.13 montre une coupe transversale issue de la zone déformée d'un arbre parasité. L'asymétrie des dispositions des anneaux de croissance dénote un différentiel de taux de croissance. Sur la gauche de la coupe, la croissance a été très lente par rapport à celle qui s'est produite sur la droite, qui est le côté de la déformation. Entre ces deux extrêmes, les taux de croissance ont été intermédiaires. Globalement, les anneaux de croissance sont proches de la forme circulaire, mais leur centre s'est déplacé (ici vers la droite). La comparaison des Figures 2.8 et 2.13 prouvent que deux coupes transversales peuvent avoir un aspect extérieur (défini par l'écorce) très similaire et une disposition interne des anneaux de croissance très différente : c'est-à-dire que l'on peut atteindre le même état avec plusieurs historiques de croissance différents.



Figure 2.13. Exemple de coupe transversale d'un arbre déformé (Forest *et al.*, 2004).

Le phénomène de récupération global est illustré par le schéma de la Figure 2.14, où l'on a choisi un arbre qui présente un plan de symétrie par souci de simplification. La Figure 2.14a montre deux étapes de croissance d'un arbre présentant une déformation, obtenues par la méthode d'interpolation. La Figure 2.14b représente le même arbre, mais avec une année de croissance interpolée supplémentaire. Le comportement décrit sur la coupe transversale précédente se retrouve : si l'on se place au niveau du plan d'étude de la Figure 2.14, nous observons bien une croissance différentielle, favorisée du côté de la déformation. Si l'on étudie le phénomène globalement sur tout l'arbre, on voit que tout l'intérieur de la zone déformée est caractérisé par des taux de croissance élevés. L'hypothèse biologique pour expliquer cette récupération s'appuie sur l'hormone acide indole-3-acétique. Comme précisé en introduction, cette hormone est produite principalement par l'apex principal de l'arbre et s'écoule par le cambium jusqu'au racine. Cette hormone est, de plus, un promoteur de la croissance radiale et son transport est sensible à l'action de la gravité. Dans les zones de courbure de l'arbre, l'action de la gravité provoque une certaine déviation du flux d'auxine par rapport à la direction longitudinale, ce qui permet certains transports latéraux vers la zone déformée. La Figure 2.14 schématise cette hypothèse. Deux lignes particulières d'écoulement de l'auxine sont représentées, celle qui passe du côté de l'attaque est renforcée dans la zone courbe par l'apport de flux latéraux d'auxine. Au contraire, la ligne opposée est affaiblie au niveau de la courbure par la perte d'auxine. Ainsi, selon cette hypothèse, la zone courbe du côté de l'attaque est plus fortement irriguée en auxine, ce qui explique son fort taux de croissance radiale. On explique ainsi la croissance différentielle par une différence dans les apports en auxine, la croissance différentielle étant le moteur de la récupération d'une forme plus cylindrique. Les angles présents sur la figure permettent de visualiser l'amplitude de la récupération dans la partie haute de la section du tronc.

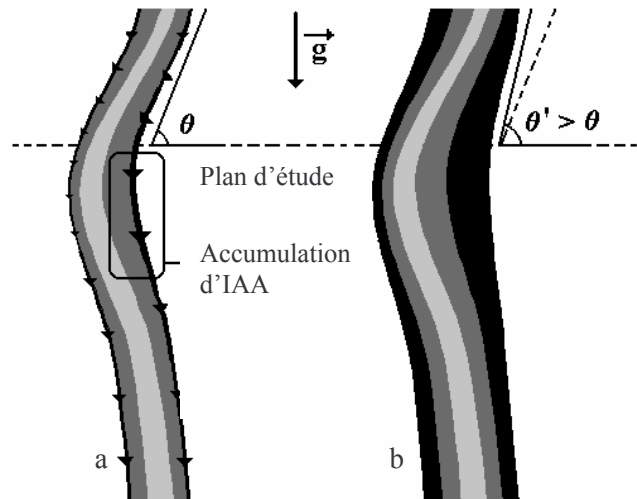


Figure 2.14. Le processus de récupération (Forest *et al.*, 2004).

(a) Interpolation de deux géométries annuelles d'un arbre. Les flèches représentent deux lignes de transport de l'auxine.

(b) Interpolation de trois géométries annuelles.

En plus de cette récupération globale, s'opère une récupération locale au niveau de l'attaque du parasite. Cette attaque produit une concavité au sein du cambium. Cette concavité s'atténue au fil du temps par croissance radiale. Elle n'est pas aisément observable expérimentalement, mais on peut l'étudier par analogie avec la croissance locale d'un arbre dont une branche a été élaguée. La section d'une branche provoque en effet une rupture brutale dans la continuité tridimensionnelle du cambium. Le cambium récupère alors sa continuité en formant une concavité liée à un retard local de croissance (dû à l'absence locale de cambium) comme le montre la Figure 2.15a adaptée de Somerville (Somerville, 1980). Sur cette figure, la section initiale est visible, puisqu'elle est repérée par la marque horizontale quasiment tangente au dernier anneau de croissance continu en bas de la figure. Suite à cette coupe, on observe que le cambium a crû, en convergeant dans l'espace laissé libre, jusqu'à se cicatriser sous une forme concave. La concavité engendrée par l'élagage d'une branche est généralement beaucoup plus marquée que celle due à une attaque parasitaire. Son atténuation complète nécessite en général plusieurs années et on peut alors l'observer sur les anneaux de croissance successifs. La Figure 2.15b est un exemple de ce processus, observé sur une des coupes transversales issue de l'étude expérimentale de Padilla. La première limite d'anneau observable comprend une concavité importante. Le dernier anneau présente quant à lui une forme quasiment cylindrique. Cette coupe transversale montre aussi deux étapes intermédiaires du processus, qui témoignent de son caractère progressif.

Certaines concavités analogues, également créées par élagage, se caractérisent au contraire par une aggravation de leur intensité au cours du temps. La comparaison entre ces deux types de comportement est discutée dans la section 4.2.2.

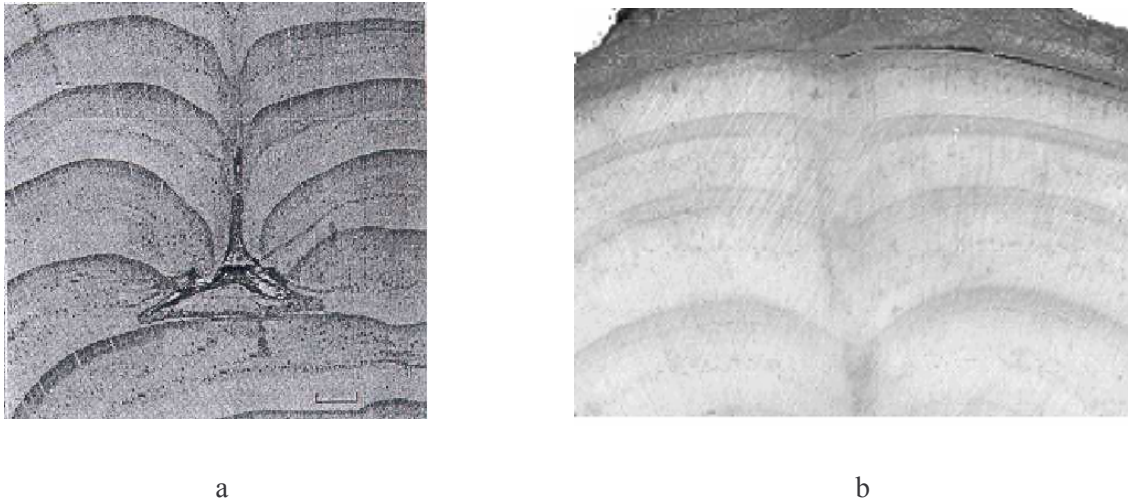


Figure 2.15. Elagage d'une branche

(a) Formation de la concavité (Somerville, 1980).

(b) Processus de récupération de la concavité (Forest et Demongeot, accepté).

Les arbres apparaissent ainsi comme de véritables mémoires du temps. Les observations de leurs formes globales et de leurs coupes transversales ou longitudinales fournissent des informations directes sur le climat et sur les événements de la vie de l'arbre (attaque parasitaire, élagage de branche,...).

2.3 Etat de l'art des modèles

Les thèmes qui nous intéressent ont été, en général, peu étudiés par une approche de modélisation mathématique. Nous détaillons ici les modèles existants concernant la croissance radiale et le contrôle hormonal.

2.3.1 La croissance radiale

A notre connaissance, la seule véritable modélisation mathématique de croissance radiale a été proposée en 2001 par Eric Kramer (Kramer, 2001). Le but premier de cette étude a été de mettre sous une forme mathématique un certain nombre d'hypothèses biologiques. La loi de base du modèle est de considérer l'existence d'une relation de proportionnalité entre le taux de production de xylème τ_x et la concentration d'IAA C . Cette loi a été extraite à partir de données issues des travaux de Uggla *et al.* (1998), dans le cas d'arbres de type *Pinus Sylvestris*. La relation utilisée est :

$$\tau_x = k_s C \quad (2.1)$$

La constante de proportionnalité k_s est appelée la sensibilité du cambium à l'IAA. Cette relation est utilisée pour modéliser la croissance radiale, dans le cas spécifique d'arbres théoriques possédant une symétrie de révolution d'axe vertical. Dans ce modèle, de part sa faible épaisseur, le cambium est représenté par une surface, appelée « surface cambiale ». Cette surface est définie par la relation donnant le rayon R de la coupe de la surface en fonction de l'altitude z et du temps t , c'est-à-dire $R(z, t)$.

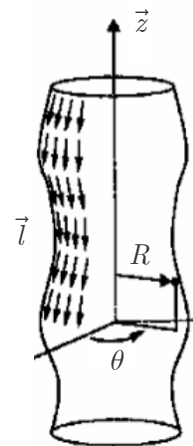


Figure 2.16. Géométrie et notations utilisées par Kramer, schémas adapté de (Kramer, 2001).

Selon la loi définie précédemment, l'évolution du rayon au cours du temps est donnée par :

$$\frac{\partial R}{\partial t}(z, t) = \tau_x(z, t) = k_s C(z, t), \quad C \text{ dépendant seulement de l'altitude, car l'apport}$$

d'hormone en haut de l'arbre est supposé uniforme en circonférence. De plus, le flux d'IAA est considéré entièrement donné par un terme de transport et dirigé par le vecteur \vec{l} , donnant la direction longitudinale descendante (tangent à la surface et pointant selon la verticale descendante). Selon ces hypothèses simplificatrices, le flux local d'auxine s'écrit $\vec{J} = J(z, t)\vec{l} = vC(z, t)\vec{l}$, où v est la vitesse de transport de l'hormone et C la concentration d'auxine. Si on appelle finalement $\Phi(z, t)$ l'intensité du flux total d'hormone à travers la section transversale prise à la hauteur z , on peut écrire une relation en terme de croissance de l'aire $A(z, t)$ de la section :

$$\frac{\partial A(z, t)}{\partial t} = \frac{k_s}{v} \Phi(z, t) \quad (2.2)$$

Ceci s'obtient par : $\frac{\partial A}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial t}(\pi R^2) = 2\pi R \frac{\partial R}{\partial t} = 2\pi R k_s C$ et $\Phi = 2\pi R J = 2\pi R v C$.

De plus, comme dans ce modèle le métabolisme local de l'IAA est supposé négligeable devant l'apport apical d'hormone, le flux Φ global ne dépend pas de la hauteur. Enfin, il ne dépend plus du temps, si l'on néglige les variations temporelles de l'apport apical. Finalement, on déduit de ce résultat qu'en première approximation, toutes les sections transversales croissent uniformément en aire. Si on appelle ΔA la croissance annuelle en aire des sections transversales et $R_i(z)$ le rayon de la section circulaire à l'année i , on obtient en terme de variation annuelle du profil du rayon de l'arbre : $\pi R_n^2(z) = \pi R_0^2(z) + n\Delta A$, soit :

$$R_n(z) = \sqrt{R_0^2(z) + \frac{n\Delta A}{\pi}} \quad (2.3)$$

En appliquant cette dynamique à un tronc présentant un profil perturbé (mais toujours avec une symétrie de révolution d'axe vertical), Kramer montre que l'itération de ce processus produit une atténuation des différentes portions non verticales du tronc. La Figure 2.17 montre un exemple d'itération de la loi (2.3), pour un arbre défini initialement par le profil central. On observe bien une régularisation progressive du profil dans le temps.

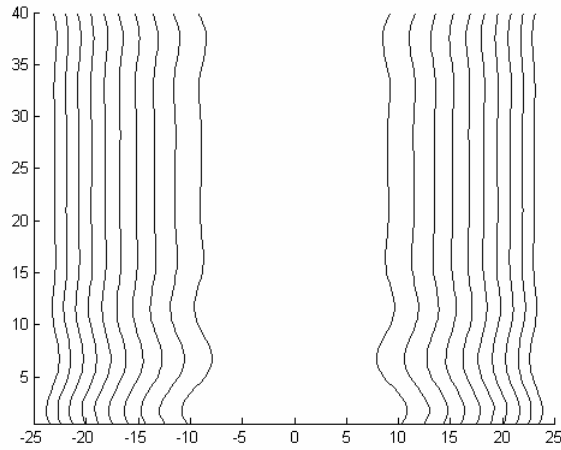


Figure 2.17. Croissance radiale par itération de la loi de Kramer (Kramer, 2001) (échelle en cm).

2.3.2 Modélisation du transport de l'auxine

La modélisation mathématique du transport de l'auxine remonte au moins à 1980 avec le modèle MGGM qui tient son nom de ses auteurs Mitchison en 1980 et Goldsmith, Goldsmith et Martin en 1981 (Mitchison, 1980a ; Goldsmith *et al.*, 1981). Cette première proposition considère le transport d'auxine dans un milieu formé par un alignement vertical de cellules cambiales fusiformes. Ce modèle est unidimensionnel. Comme déjà mentionné précédemment, Kramer définit en 2001 la « surface cambiale » pour légitimer une représentation superficielle du cambium au regard de sa faible épaisseur. En utilisant ce concept, il formule, en 2002, un modèle de transport d'auxine dans un plan local vertical (Kramer, 2002).

Dans ces deux modèles, le flux \vec{J} d'auxine, dont la concentration est notée C , possède deux termes, l'un pour la diffusion passive et l'autre pour le transport actif, selon la forme :

$$\vec{J} = -D\nabla C + vC\vec{u} \quad (2.4)$$

D est la matrice de diffusion et v est la vitesse du transport actif dans la direction donnée par \vec{u} . L'évolution dans le temps de la concentration d'auxine s'obtient ensuite par l'équation de la conservation de la masse :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\nabla \cdot \vec{J} \quad (2.5)$$

Dans le cas du modèle unidimensionnel, D est un simple coefficient et la direction du transport est donnée par l'alignement des cellules. Dans le modèle à deux dimensions, la direction du transport d'auxine est donnée par l'orientation des cellules cambiales fusiformes. Quant à la diffusion, elle est considérée comme étant anisotrope. Puisque les membranes cellulaires sont les principales barrières à la diffusion des molécules d'auxine, la forme allongée des cellules cambiales favorise la diffusion selon le grand d'axe des cellules, par rapport aux directions transversales. Finalement, Kramer écrit l'équation bidimensionnelle suivante :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\nabla \cdot \left((vC - D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u}))\vec{u} - D_{\perp}(\nabla C \cdot \vec{w})\vec{w} \right) \quad (2.6)$$

en notant D_{\parallel} et D_{\perp} les constantes de diffusion respectivement selon le grand axe \vec{u} et selon la direction perpendiculaire à ce grand axe, donnée par \vec{w} , qui est le vecteur unitaire directement perpendiculaire à \vec{u} . La première constante de diffusion est supérieure à la deuxième. Les valeurs de flux et de concentration utilisées dans cette équation représentent en réalité les moyennes de ces quantités selon l'épaisseur du cambium.

D'après cette formulation, le flux d'auxine dépend beaucoup de l'orientation des cellules cambiales. Kramer utilise une seconde équation pour rendre compte de la dynamique d'orientation de ces cellules. Dans un plan local vertical orienté par (\vec{x}, \vec{z}) , les vecteurs d'orientation \vec{u} sont repérés par leur angle ϕ avec la direction \vec{x} : $\vec{u} = \cos(\phi)\vec{x} + \sin(\phi)\vec{z}$. L'équation d'évolution de l'orientation des cellules cambiales s'écrit en fonction de ϕ :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\mu \nabla C \cdot \vec{w} + K \Delta \phi \quad (2.7)$$

Cette équation prend en compte deux effets sur la variation de l'orientation dans le temps. Le premier terme tient compte du fait que les cellules cambiales tendent à s'orienter parallèlement au flux d'auxine. μ est une constante de proportionnalité positive pour cet

effet. Le second terme inclut la tendance des cellules cambiales à s'orienter parallèlement entre elles : ce terme régularise localement les valeurs des angles. Il contient également une constante de proportionnalité positive : K .

Le système d'équations $\{(2.6), (2.7)\}$ a été simulé par son auteur pour étudier le « grain pattern », c'est-à-dire les configurations d'orientation des cellules cambiales (lignes droites, spirales,...), supposées correspondre directement à l'orientation des fibres de l'écorce. L'étude porte ainsi sur \vec{u} , et non pas sur la concentration d'auxine C .

2.3.3 Autres modèles

Nous évoquons ici certains modèles plus éloignés de notre propos.

Modèles mécaniques

La croissance des arbres a aussi été envisagée de manière purement mécanique, pour estimer la hauteur maximale que l'arbre peut atteindre. L'étude a été réalisée initialement par J. von Karman et M.A. Biot en 1940, et a été reprise récemment par J.A. Adam (von Karman et Biot, 1940 ; Adam, 2003). Le tronc est modélisé par une poutre homogène cylindrique fixée au sol. Les auteurs étudient la stabilité de l'arbre en réponse à de petites perturbations provoquant l'inclinaison du tronc. Ces perturbations sont par exemple provoquées par le vent. La hauteur critique de l'arbre est alors exprimée en fonction de son rayon, de sa densité, de son module d'Young (coefficient d'élasticité) et de la gravité. Des hauteurs critiques réalistes sont alors calculées pour certaines espèces.

L-systems, grammaires et architecture végétale

Les « L-systems » sont un formalisme mathématique proposé par Aristide Lindenmayer en 1968 (Lindenmayer, 1968). Il s'agit d'une théorie pour la biologie du développement. Les développements biologiques sont représentés selon des lois de répétition de symboles, à la manière d'une grammaire définissant les règles de syntaxe d'un langage informatique. Ces systèmes ont trouvé des applications en génération de fractales et en modélisation des plantes (Prusinkiewicz et Lindenmayer, 1990). Ils sont utilisés pour représenter l'architecture tridimensionnelle d'un arbre ou d'une plante en étudiant les ramifications. La plante sera, par exemple, décrite initialement par un trait vertical « | »

symbolisant sa tige. L'évolution s'opère par l'application de règles de transformation du type : « le trait vertical croît et se ramifie ».

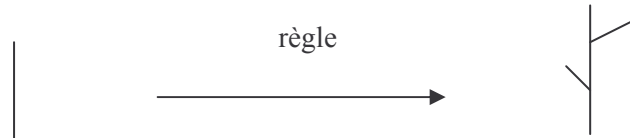


Figure 2.18. Exemple de règle pour un L-system.

En itérant successivement cette règle sur tous les nouveaux traits verticaux, on engendre une ramification et donc une allure d'arbre. Il est possible d'obtenir graphiquement de très belles architectures végétales, en complexifiant ce genre de grammaire. Les L-systems confortent ainsi l'idée que ces processus de morphogenèse mettent en œuvre des procédures répétitives, souvent récursives. Le lien entre morphogenèse végétale et les L-systems est principalement une ressemblance. Comme pour les paysages engendrés par des fractales, la ressemblance avec la réalité est excellente mais cela ne signifie nullement que les règles de description des L-systems utilisent des lois locales réelles de morphogenèse végétale. Par contre, comme dans tout système complexe, les règles locales se traduisent par des comportements globaux faisant l'objet de règles globales traduisant le comportement macroscopique réel. Ce sont ces règles globales phénoménologiques qui sont prises en compte à travers les règles formelles des L-systems.

Le formalisme des grammaires a aussi été utilisé pour mimer les configurations végétales à l'échelle cellulaires, par des règles fournissant la disposition des murs cellulaires dans l'espace (Lück et Lück, 1985). Il a aussi été repris pour étudier la répétition de certaines configurations cellulaires au sein du phloème (Barlow et Lück, 2004).

On peut, en outre, se référer aux travaux de P. de Reffye pour des modèles d'architectures végétales (de Reffye, 1988 et 1998), fondés sur des équations globales qui calculent l'augmentation en biomasse de chaque organe, la surface des feuilles,...

Modélisation de la dominance apicale

L'étude de la dominance apicale a notamment été abordée par Thellier et Demongeot (Demongeot *et al.*, 2000 ; Thellier *et al.*, 2000 et 2004). Ces travaux ont permis de modéliser la dominance de l'apex par la signalisation de l'auxine sous forme d'une formulation logique

discrète simple, permettant aussi d'étudier les conditions de démarrage de la croissance des bourgeons latéraux.

Modélisation de la formation des patterns de veines dans les feuilles

Une autre application de la modélisation du transport d'auxine consiste à expliquer la formation des veines des feuilles. Sachs a proposé en 1981 que les veines se développaient en conséquence de la canalisation de l'auxine : la capacité de transport de certaines cellules augmente, ce qui crée progressivement des directions privilégiées de flux (Sachs, 1981). Ces anisotropies peuvent se stabiliser sous forme de veines. Plusieurs travaux s'intéressent à cette thématique, parmi lesquels (Mitchison, 1980b et 1981), (Markus *et al.*, 1999) et (Rolland-Lagan *et al.*, 2004).

Phyllotaxie

On terminera en rappelant qu'Alan Turing s'est intéressé à la phyllotaxie des plantes, c'est-à-dire au problème de la disposition successive des différentes feuilles le long d'une tige. Il n'a cependant pas terminé l'article qu'il rédigeait sur l'application de sa théorie de la réaction-diffusion à ce thème.

3 MODELISATION

« Le problème de l'intégration des mécanismes locaux en une structure globale est le problème central de la biologie ; celui de la morphogenèse, à nos yeux, c'est l'objet même de la biologie théorique ».

René Thom (Thom, 1980)

Table de matières

3.1	Modèle discret de prolifération cellulaire	74
3.1.1	Hypothèses du modèle	74
3.1.2	Définition et représentation du modèle	75
3.1.3	Expression des règles de transition	77
3.1.3.1	Lois d'évolution.....	82
3.1.3.1.1	La loi de croissance en aire $\overline{\mathfrak{S}c}$	82
3.1.3.1.2	Maintenance de la forme $\overline{\mathfrak{S}m}$	94
3.1.3.2	Les événements.....	98
3.1.3.2.1	Elimination du cambium.....	99
3.1.3.2.2	La division cellulaire.....	100
3.1.4	Synthèse du fonctionnement du système discret	107
3.1.5	Conclusion.....	109

3.2	Système de contrôle : modèle continu de la répartition de l'auxine.....	110
3.2.1	Hypothèses.....	110
3.2.2	Equation de diffusion - transport.....	110
3.2.3	Equations d'orientation.....	113
3.2.3.1	Approche en 3D : équations de Navier – Stokes.....	113
3.2.3.2	Approche superficielle.....	115
3.2.4	Problèmes différentiels finaux.....	119
3.2.5	Fonction de répartition.....	122
3.3	Simulation de la répartition de la croissance radiale.....	123
3.4	Synthèse.....	127

Table des illustrations

Figure 3.1.	Ordre de numérotation des éléments du modèle.....	76
Figure 3.2.	Notations pour le problème (3.11).....	86
Figure 3.3.	Détection de l'appartenance d'un point à un domaine quadrilatéral.....	92
Figure 3.4.	Illustration de la décomposition de la transition de croissance.....	94
Figure 3.5.	Configuration générale d'une cellule, selon le signe de l'angle caractéristique.....	95
Figure 3.6.	Notations pour les divisions périclinales et anticlinales.....	106
Figure 3.7.	Représentation du fonctionnement de l'opérateur discret de prolifération.....	108
Figure 3.8.	Bilan des flux d'IAA pour une cellule cambiale.....	111
Figure 3.9.	Exemple de domaine Ω	113
Figure 3.10.	Exemple de géométrie pour la surface cambiale.....	118
Figure 3.11.	Description locale des éléments du modèle discret.....	126
Figure 3.12.	Résumé des caractéristiques des modèles et des relations inter-modèles.....	128

Le but de ce travail est de modéliser la croissance radiale secondaire, à l'échelle cellulaire, dans une coupe transversale en deux dimensions. Nous étudions, pour cela, comment le comportement local de chaque cellule s'intègre de manière cohérente dans le mouvement global de morphogenèse. Le cambium est considéré comme étant une collection de cellules cambiales, toutes munies d'une même loi de comportement qui modélise l'activité cellulaire (croissance, division, élimination). Le taux de croissance des cellules est calculé en proportion de la concentration d'IAA, elle-même déduite d'une modélisation continue de diffusion-transport. L'enjeu de ce travail n'est pas de prédire la croissance de manière quantitative, car cela nécessiterait la connaissance et la prise en compte de toutes les données du milieu extérieur (température, lumière, sol,...). La « quantité » de croissance sera toujours considérée comme une donnée connue et nos modèles s'intéresseront à la prédiction qualitative de la répartition des aires ou des volumes de croissance.

3.1 Modèle discret de prolifération cellulaire

3.1.1 Hypothèses du modèle

Notre modélisation s'appuie sur plusieurs hypothèses simplificatrices, permettant d'alléger le coût de calcul du modèle, tout en conservant les principales caractéristiques biologiques du système.

Hypothèses sur la croissance radiale

La croissance radiale secondaire est considérée comme réduite à la xylogénèse, c'est-à-dire au processus de formation du xylème. En d'autres termes, on ne considère pas la production de phloème : les divisions périclinales produiront donc forcément de futures cellules du xylème. Dans le cas du *Pinus radiata*, cette hypothèse se justifie, puisque la couche de phloème est extrêmement fine par rapport à celle du xylème. Le but est de simuler les principales caractéristiques de cette morphogénèse. Le modèle intègre donc seulement les composantes majeures de l'activité cellulaire : la croissance, la division et l'élimination. On néglige aussi la possibilité de formation de bois de compression. Nous ne prenons pas non plus en compte la possibilité d'insertion de nouvelles cellules, dans la coupe transversale considérée, par croissance en élongation dans le sens vertical de cellules appartenant à des coupes inférieures.

Hypothèses sur les cellules cambiales

Le cambium est réduit à une seule couche de cellules initiales fusiformes, qui peuvent se diviser de manière anticlinale ou périclinale. On néglige le type de cellules initiales de rayons, puisqu'elles sont moins fréquentes. Les cellules cambiales sont aussi supposées incompressibles, c'est-à-dire qu'en l'absence de croissance, elles ne changent pas de taille. En première approximation, nous supposons aussi que les sections transversales des cellules cambiales sont quadrilatérales.

Hypothèses sur les cellules du xylème

Les cellules du xylème sont supposées incompressibles et indéformables, puisqu'elles sont caractérisées par un mur cellulaire épais. Les cellules modélisées sont, soit de type xylème (mature), soit de type cambial. Les processus de différenciation progressive entre cambium et

xylème ne sont pas pris en compte. Les cellules filles issues d'une division péricleinale dans le cambium, produites du côté du xylème, intègrent directement le xylème.

Un système plus primitif, comme *Coleochaete orbicularis*, fournit un exemple d'organisme plus simple qui possède un cambium unisériel et qui produit des cellules uniquement vers l'intérieur (Barlow *et al.*, 2002).

3.1.2 Définition et représentation du modèle

Le modèle de prolifération cellulaire présenté dans la suite est un système dynamique discret complexe. On essaie, dans cette partie, de le décrire le plus précisément possible. Le cambium est défini en deux dimensions par un automate cellulaire « généralisé » Γ , composé de N cellules X_i . On peut aussi parler de système multi-agents. Chaque cellule représente une cellule cambiale initiale fusiforme considérée en coupe transversale. Comme énoncé dans les hypothèses, chaque cellule est définie par un quadrilatère. L'état d'une cellule X_i est donné par l'ensemble de ses quatre sommets $\{A_i, B_i, C_i, D_i\} \in \mathbb{R}^8$ et l'état du cambium par $\Gamma = \{X_i / i \in [1, \dots, N]\}$. $[1, \dots, N]$ désigne les entiers compris entre 1 et N . On s'intéresse à l'évolution du cambium au cours du temps discrétisé t . Les états successifs du cambium sont donc définis par :

$$\begin{cases} \Gamma(0) \\ \Gamma(t) = \{X_i(t) / i \in [1, \dots, N(t)]\} \in \mathbb{R}^{8N(t)}, \forall t \in \mathbb{N} \end{cases}$$

La trajectoire du cambium dépend de la situation initiale et des lois qui régissent l'évolution des cellules cambiales. Une transition entre $\Gamma(t)$ et $\Gamma(t+1)$ est ainsi, grâce à cette formulation, le résultat de l'intégration des transitions de chaque cellule cambiale X_i . Ces transitions sur les cellules sont réalisées dans une séquence aléatoire (mise à jour asynchrone aléatoire). Le parcours aléatoire permet de s'affranchir du biais causé, au niveau des résultats, par la répétition d'un parcours séquentiel déterminé. Le xylème est décrit par l'ensemble $W(t)$ de ses $M(t)$ cellules.

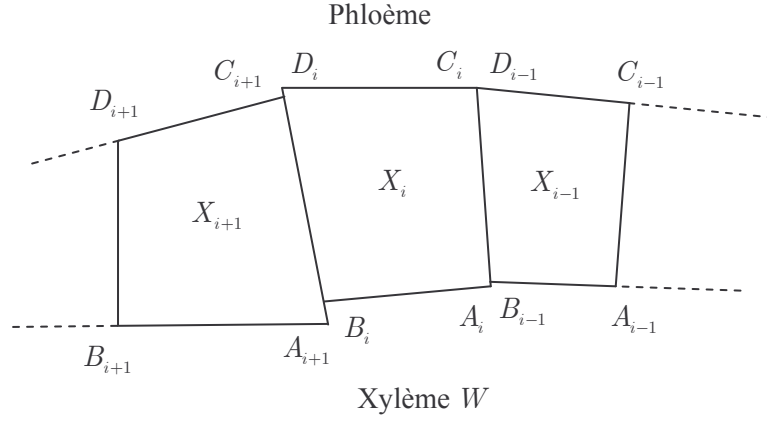


Figure 3.1. Ordre de numérotation des éléments du modèle.

La Figure 3.1 montre l'ordre de numérotation des éléments du modèle. Chaque cellule cambiale X_i est entourée par ses deux cellules voisines dans le cambium X_{i-1} et X_{i+1} . Le sens de numérotation des cellules est le sens trigonométrique. Nous utilisons toujours une notation torique pour le voisinage, c'est à dire que les cellules numérotées première et dernière dans le cambium sont voisines.

Le côté extérieur de chaque cellule est donné par le segment $[C_i, D_i]$ et le côté intérieur par $[A_i, B_i]$. Les cellules du xylème sont repérées de la même manière par leurs points A , B , C et D et sont numérotées par ordre d'arrivée dans le xylème.

Chaque transition du cambium, du temps t au temps $t + 1$, est déterminée par :

- son état courant t : $\Gamma(t) \in \mathbb{R}^{SN(t)}$.
- l'état courant du xylème : $W(t) \in \mathbb{R}^{SM(t)}$.
- la fonction de répartition de croissance notée $f_i : [0,1] \rightarrow \mathbb{R}$.
- les valeurs d'un ensemble de paramètres, relatifs à la structure cambiale au temps t : $\tau_C(t), \tau_E(t), \tau_L(t), k(t)$ et à la croissance totale en aire du cambium entre t et $t + 1$: $\Delta A(t)$. On note $\tau(t) = (\tau_C(t), \tau_E(t), \tau_L(t), k(t), \Delta A(t)) \in \mathbb{R}^5$.
- le nombre de cellule cambiale au temps t : $N(t) \in \mathbb{N}$.
- l'ordre de parcours des $N(t)$ cellules au temps t : $\sigma c(N(t)) \in [1, \dots, N(t)]^{N(t)}$.

La fonction de répartition de croissance f_t permet de calculer pour chaque cellule, sa croissance en aire entre les temps t et $t+1$. Elle est définie sur l'intervalle $[0,1]$ puisque, nous le verrons dans la suite, elle s'applique à une variable définie comme une abscisse curviligne normalisée. σc fournit l'ordre de parcours aléatoire des $N(t)$ cellules cambiales. $\sigma c(N(t)) = (\sigma c_1, \sigma c_2, \dots, \sigma c_{N(t)})$, avec $\forall i \neq j, \sigma c_i \neq \sigma c_j$. La transition calcule également le nombre de cellules cambiales au pas de temps suivant $N(t+1)$. La transition globale du système {xylème, cambium} entre t et $t+1$ s'obtient par l'application de la transition globale \mathfrak{S}_t^{t+1} :

$$(\Gamma(t+1), W(t+1), N(t+1)) = \mathfrak{S}_t^{t+1}(\Gamma(t), W(t), f_t, \tau(t), \sigma c(N(t)), N(t)) \quad (3.1)$$

Nous détaillons maintenant l'expression de transition globale \mathfrak{S}_t^{t+1} .

3.1.3 Expression des règles de transition

La transition globale est définie comme étant la composition des opérateurs de transitions partielles simulant les comportements cellulaires que l'on a pris en compte. On considère que la dynamique de développement du cambium dépend de lois d'évolution fondées sur la croissance cellulaire et de l'occurrence possible de certains événements dans la vie des cellules.

La première loi d'évolution s'appuie sur une fonction de transition affectée à la croissance des cellules cambiales \mathfrak{S}_c^{t+1} . La seconde loi d'évolution est une transition liée à la propriété de maintien de la forme des cellules cambiales \mathfrak{S}_m^{t+1} . Les événements qui ponctuent la vie des cellules sont la division (mitose), prise en compte par la transition \mathfrak{S}_d^{t+1} et l'élimination du cambium, associée à la transition \mathfrak{S}_e^{t+1} . Seules ces deux dernières transitions peuvent affecter le xylème, en lui ajoutant de nouvelles cellules : ce dernier reste par contre invariant par les transformations \mathfrak{S}_c^{t+1} et \mathfrak{S}_m^{t+1} , qui ne concernent que le cambium. La transition globale s'écrit comme une composition des transitions partielles :

$$\forall t \in \mathbb{N}, \mathfrak{S}_t^{t+1} = \mathfrak{S}_d^{t+1} \circ \mathfrak{S}_e^{t+1} \circ \mathfrak{S}_m^{t+1} \circ \mathfrak{S}_c^{t+1} \quad (3.2)$$

Pour généraliser les notations par la suite, nous désignons par x une lettre de l'alphabet $\{c, m, e, d\}$. $\mathfrak{S}x_t^{t+1}$ désigne ainsi l'une des transitions partielles parmi les quatre existantes. $\{x-1\}$ est la lettre qui précède x dans l'alphabet $\{c, m, e, d\}$. Par exemple, si $x = e$, $\{x-1\} = m$. $\{c-1\}$ indexe l'état au temps t . Ces notations permettent de se référer de manière précise aux états intermédiaires des composants du système entre deux pas de temps. Ainsi, $N\{x-1\}(t)$ représente le nombre de cellules cambiales à la fin de la transition partielle $\mathfrak{S}\{x-1\}_t^{t+1}$, et en particulier, $N\{c-1\}(t) = N(t)$. De même, $\Gamma\{x-1\}(t)$ et $W\{x-1\}(t)$ sont les états du cambium et du xylème après la transition partielle $\mathfrak{S}\{x-1\}_t^{t+1}$.

Les transition partielles $\mathfrak{S}x_t^{t+1}$ sont elles-mêmes des compositions de transitions locales $\mathfrak{S}x_{t,k}^{t+1}$ dites centrées en k ; on applique autant de transitions locales qu'il y a de cellules dans le cambium après la transition $\mathfrak{S}\{x-1\}_t^{t+1}$. $\sigma x(N\{x-1\}(t)) = (\sigma x_1, \sigma x_2, \dots, \sigma x_{N\{x-1\}(t)})$ désigne l'ordre d'application des transitions locales pour chaque transition partielle $\mathfrak{S}x_t^{t+1}$. Cet ordre est calculé à partir du vecteur $\sigma c(N(t))$ définit au temps t et des résultats des transitions partielles précédentes. Ce vecteur d'ordre de parcours doit être redéfini lorsque le nombre de cellules cambiales varie suite à l'application d'une transition. Ainsi, $\sigma m = \sigma c$ puisque la croissance ne modifie pas le nombre de cellules dans le cambium et, de même, $\sigma e = \sigma m$. Par contre, l'application de la transition partielle d'élimination peut affecter le nombre de cellules cambiales. Le vecteur représentant cet ordre doit alors être remis à jour pour maintenir le même ordre de parcours des cellules cambiales. L'expression de $\sigma x(N\{x-1\}(t))$ permet d'écrire d'une manière générale la décomposition de chaque transition partielle en transitions locales :

$$\forall t \in \mathbb{N}, \mathfrak{S}x_t^{t+1} = \mathfrak{S}x_{t, \sigma x_{N\{x-1\}(t)}}^{t+1} \circ \mathfrak{S}x_{t, \sigma x_{N\{x-1\}(t)-1}}^{t+1} \circ \dots \circ \mathfrak{S}x_{t, \sigma x_j}^{t+1} \circ \dots \circ \mathfrak{S}x_{t, \sigma x_1}^{t+1} \quad (3.3)$$

Détaillons à présent les notations successives pour les structures du cambium et du xylème au cours des itérations, pour pouvoir définir précisément les transitions locales par la suite. Initialement, la première transition de type $\mathfrak{S}x_{t,j}^{t+1}$ qui s'applique est $\mathfrak{S}c_{t, \sigma c_1}^{t+1}$. Elle s'applique à la structure $(\Gamma(t), W(t), f_t, \tau(t), \sigma c(N(t)), N(t))$ définie au temps t . Γx_j et

Wx_j sont les états du cambium et du xylème après les j premières itérations (au sens de l'ordre fixé par σx) de type $x \in \{c, m, e, d\}$ (cela après les itérations correspondant aux transitions partielles antérieures à x). On devrait, pour être plus précis, les noter $\Gamma x_j(t)$ et $Wx_j(t)$ pour les indexer par le temps global. Cette indexation sera souvent omise par la suite, s'il n'y a pas de confusion possible, pour alléger les notations.

En omettant les dépendances en temps des éléments et la dépendance des σx selon le nombre de cellules cambiales, les états intermédiaires des structures cellulaires sont définis au cours des transitions $\mathfrak{S}x_{t,k}^{t+1}$ par :

$$\text{Pour } j = 1, (\Gamma c_1, Wc_1, f, \tau, \sigma c, N) = \mathfrak{S}c_{t, \sigma c_1}^{t+1} (\Gamma(t), W(t), f_t, \tau(t), \sigma c(N(t)), N(t))$$

$$\forall j \in [2..N], (\Gamma c_j, Wc_j, f, \tau, \sigma c, N) = \mathfrak{S}c_{t, \sigma c_j}^{t+1} (\Gamma c_{j-1}, Wc_{j-1}, f, \tau, \sigma c, N)$$

On applique ensuite la loi liée à la propriété de maintien :

$$\text{Pour } j = 1, (\Gamma m_1, Wm_1, f, \tau, \sigma m, N) = \mathfrak{S}m_{t, \sigma c_1}^{t+1} (\Gamma c_N, Wc_N, f, \tau, \sigma c, N)$$

$$\forall j \in [2..N], (\Gamma m_j, Wm_j, f, \tau, \sigma m, N) = \mathfrak{S}m_{t, \sigma m_j}^{t+1} (\Gamma m_{j-1}, Wm_{j-1}, f, \tau, \sigma m, N)$$

En ce qui concerne l'élimination cellulaire et la division, on prend en compte la variation possible du nombre de cellules au cours des itérations, ce qui nécessite, à chaque itération, de considérer la possibilité d'une remise à jour de σe et σd :

$$\text{Pour } j = 1, (\Gamma e_1, We_1, f, \tau, \sigma e^1, Ne_1) = \mathfrak{S}e_{t, \sigma m_1}^{t+1} (\Gamma m_N, Wm_N, f, \tau, \sigma m, N)$$

$$\forall j \in [2..N], (\Gamma e_j, We_j, f, \tau, \sigma e^j, Ne_j) = \mathfrak{S}e_{t, \sigma e_{j-1}^{j-1}}^{t+1} (\Gamma e_{j-1}, We_{j-1}, f, \tau, \sigma e^{j-1}, Ne_{j-1})$$

où σx_i^k désigne la $i^{\text{ème}}$ composante du vecteur σx^k des permutations correspondant à la $k^{\text{ème}}$ itération de x .

$$\text{Pour } j = 1, (\Gamma d_1, Wd_1, f, \tau, \sigma d^1, Nd_1) = \mathfrak{S}d_{t, \sigma e_1^N}^{t+1} (\Gamma e_N, We_N, f, \tau, \sigma e^N, Ne_N)$$

Soit $q = Ne_N - 1$,

$$\forall j \in [2..q], (\Gamma d_j, Wd_j, f, \tau, \sigma d^j, Nd_j) = \mathfrak{S}d_{t, \sigma d_{j-1}^{j-1}}^{t+1} (\Gamma d_{j-1}, Wd_{j-1}, f, \tau, \sigma d^{j-1}, Nd_{j-1})$$

Et finalement : $(\Gamma(t+1), W(t+1), N(t+1)) = \mathfrak{S}_{t, \sigma d_{q+1}^{t+1}}^{t+1} (\Gamma d_q, W d_q, f, \tau, \sigma d^q, N d_q)$

soit $\Gamma(t+1) = \Gamma d_{Ne_N}$, $W(t+1) = W d_{Ne_N}$ et $N(t+1) = N d_{Ne_N}$.

Nous notons de plus pour $x \in \{c, m\}$, $\forall k \in [1, \dots, N]$, $Nx_k = N$ et $\sigma x^k = \sigma x$, et

$$\Gamma x_0(t) = \begin{cases} \Gamma \{x-1\}(t), & \text{si } x \neq c \\ \Gamma(t), & \text{si } x = c \end{cases}, \quad Wx_0(t) = \begin{cases} W \{x-1\}(t), & \text{si } x \neq c \\ W(t), & \text{si } x = c \end{cases},$$

$$Nx_0(t) = \begin{cases} N \{x-1\}(t), & \text{si } x \neq c \\ N(t), & \text{si } x = c \end{cases}, \quad \sigma x^0(t) = \begin{cases} \sigma(N \{x-1\})(t), & \text{si } x \neq c \\ \sigma c(N(t)), & \text{si } x = c \end{cases}.$$

Ceci permet d'exprimer d'une manière générale toutes les transitions locales sous la forme :

$$(\Gamma x_j, Wx_j, f, \tau, \sigma x^j, Nx_j) = \mathfrak{S}_{t, \sigma x_j^{j-1}}^{t+1} (\Gamma x_{j-1}, Wx_{j-1}, f, \tau, \sigma x^{j-1}, Nx_{j-1}) \quad (3.4)$$

Dans les transitions locales, nous ne considérons que des voisinages d'ordre 1 au sein du cambium, c'est-à-dire que l'application d'une transition locale, centrée sur une cellule X_k , ne pourra affecter que X_{k-1} , X_k et X_{k+1} . Notons $X_k^{x,j}(t)$ l'état de la $k^{\text{ème}}$ cellule après j

itérations de type x , à l'instant t , avec $X_k^{x,0}(t) = \begin{cases} X_k^{\{x-1\}, N}(t), & \text{si } x \neq c \\ X_k(t), & \text{si } x = c \end{cases}$.

Γx_j est alors définie par : $\Gamma x_j = (X_1^{x,j}, \dots, X_k^{x,j}, \dots, X_{Nx_j}^{x,j})$.

Si on note $k = \sigma x_j^{j-1}$, Γx_j peut être défini plus précisément en considérant la propriété :

$$\Gamma x_j = (X_1^{x,j-1}, \dots, X_{k-2}^{x,j-1}, \overline{\mathfrak{S}_t^{t+1}} (X_{k-1}^{x,j-1}, X_k^{x,j-1}, X_{k+1}^{x,j-1}, \Gamma x_{j-1}^{(k)}, Wx_{j-1}, f, \tau), X_{k+2}^{x,j-1}, \dots, X_{Nx_{j-1}}^{x,j-1}) \quad (3.5)$$

La formule précédente définit l'application $\overline{\mathfrak{S}_t^{t+1}}$, appelée transition générique de type x , qui dépend *a priori* de l'état de la cellule centrale, de ses voisines dans le cambium et de l'état des autres cellules du cambium, en notant : $\Gamma x_{j-1}^{(k)} = \Gamma x_{j-1} \setminus \{X_{k-1}^{x,j-1}, X_k^{x,j-1}, X_{k+1}^{x,j-1}\}$. Ces cellules peuvent servir à définir l'état futur de la cellule centrale et de ses voisines, mais

restent invariantes par cette transition. $\overline{\mathfrak{S}x_t^{t+1}}$ dépend aussi *a priori* de l'état précédent du xylème, de la fonction de répartition et des constantes τ . Par contre, $\overline{\mathfrak{S}x_t^{t+1}}$ n'est pas indexée par la numérotation des cellules, puisqu'on affecte les mêmes lois de comportement à toutes les cellules. Une cellule du cambium et son voisinage dans le cambium évoluent ainsi selon la loi :

$$\left(X_{k-1}^{x,j}, X_k^{x,j}, X_{k+1}^{x,j} \right) = \overline{\mathfrak{S}x_t^{t+1}} \left(X_{k-1}^{x,j-1}, X_k^{x,j-1}, X_{k+1}^{x,j-1}, \Gamma x_{j-1}^{(k)}, Wx_{j-1}, f, \tau \right) \quad (3.6)$$

Avec des notations simplifiées, on retient qu'une cellule centrale X_k et ses voisines évoluent selon :

$$\left(X_{k-1}^+, X_k^+, X_{k+1}^+ \right) = \overline{\mathfrak{S}x} \left(X_{k-1}, X_k, X_{k+1}, \Gamma x^{(k)}, Wx, f, \tau \right) \quad (3.7)$$

L'annotation $+$ permet de distinguer l'état des cellules après la transition x de l'état des cellules avant la transition. On a aussi omis, pour simplifier les formules, l'indexation en temps de la transition. L'état correspondant du xylème avant la transition est simplement noté Wx . Les transitions génériques $\overline{\mathfrak{S}x}$ dépendent *a priori* du xylème, mais ne le modifient pas : elles n'agissent que sur le cambium. Le xylème peut par contre être modifié au niveau des transitions locales correspondantes $\overline{\mathfrak{S}x_{t,k}^{t+1}}$. Dans l'équation (3.7), on a noté tous les arguments possibles de la fonction $\overline{\mathfrak{S}x}$, pour pouvoir généraliser les notations. Les transitions $\overline{\mathfrak{S}c}$, $\overline{\mathfrak{S}m}$, $\overline{\mathfrak{S}e}$ et $\overline{\mathfrak{S}d}$ utilisent en fait chacune seulement un sous-ensemble de ces arguments et non la totalité. Ainsi, par exemple, la transition $\overline{\mathfrak{S}c}$ est la seule à utiliser la fonction de répartition f .

Cette formalisation permet d'individualiser chaque cellule cambiale, conformément à nos objectifs. Nous allons détailler, dans la partie suivante, les choix réalisés pour les transitions $\overline{\mathfrak{S}x}$, en utilisant les notations simplifiées. Les transitions génériques formalisent les règles de comportements uniformes que l'on assigne aux cellules. On distingue deux classes pour ces lois, premièrement celles qui sont liées à un phénomène plutôt continu, dont elles sont une discrétisation. Ce sont les lois d'évolution qui concernent la croissance en aire des cellules. Une première loi dicte de combien croît la cellule pendant l'intervalle de temps dt et donne une première répartition de la surface de croissance, tandis que la deuxième peut opérer un léger remaniement de cette répartition. L'autre classe concerne des lois

(événementielles) liées à l'intervention d'événements davantage ponctuels, la division cellulaire ou l'élimination d'une cellule du cambium.

3.1.3.1 Lois d'évolution

3.1.3.1.1 La loi de croissance en aire $\overline{\mathfrak{S}c}$

La croissance totale en aire du cambium entre t et $t+1$ s'opère par la transition partielle $\mathfrak{S}c_t^{t+1}$, qui transcrit à l'échelle cellulaire la loi de croissance de Kramer (équation (2.1)). Cette transition est la conséquence de l'application de $N(t)$ transitions locales $\overline{\mathfrak{S}c}$. Nous décrivons ici comment est construite cette transition $\overline{\mathfrak{S}c}$ à partir notamment de la donnée de la fonction unidimensionnelle de répartition de croissance f_t . Cette fonction est définie par la répartition de la concentration (plus précisément de la moyenne radiale de cette concentration) de l'hormone acide indole-3-acétique sur la coupe transversale considérée. La partie 3.2 présente la modélisation, fondée sur le transport de l'hormone, qui permet de calculer ces répartitions. La fonction de répartition f_t est interprétée en un vecteur de croissance, qui contient les taux de croissance en aire de chaque cellule cambiale entre t et $t+1$. Comme énoncé dans la partie 2 (section 2.1.3.2), la valeur maximale de la répartition d'auxine dans la direction radiale est plus proche du phloème que du xylème. Pour chaque cellule cambiale X_i , $[C_i, D_i]$ représente le côté proche du phloème. Les répartitions de croissance sont alors calculées relativement à ce côté. Ainsi, la fonction f_t s'applique à la variable $s(t)$, qui est l'abscisse curviligne normalisée parcourant les côtés extérieurs des cellules (c'est-à-dire la ligne brisée $\bigcup_{i=1}^{N(t)} [C_i(t), D_i(t)]$) dans le sens trigonométrique, depuis l'origine choisie en $C_1(t)$.

Nous noterons $p_i(t)$ le périmètre utile de la cellule, défini par la longueur du côté extérieur $[C_i, D_i]$: $p_i(t) = \left\| \overline{C_i(t)D_i(t)} \right\|$. Nous noterons également $P(t)$ le périmètre extérieur du cambium, qui vaut la somme des périmètres extérieurs de toutes les cellules cambiales, soit :

$$P(t) = \sum_{i=1}^{N(t)} p_i(t) \quad (3.8)$$

Le vecteur de croissance est déterminé à chaque pas de temps, à partir de la fonction de répartition, par l'équation :

$$\forall i \in [1, \dots, N(t)], G_i(t) = \frac{\left(\int_{[C_i(t), D_i(t)]} f_t(s) ds \right)}{P(t)} \Delta A(t) \quad (3.9)$$

où $\Delta A(t)$ est la croissance totale en aire du cambium entre t et $t+1$ (cinquième composante de τ). On remarque que les valeurs des composantes $G_i(t)$ dépendent aussi directement de l'état de la structure cambiale $\Gamma(t)$ au temps considéré, à travers la distribution des points C_i et D_i . Cette équation (3.9) signifie que la croissance de chaque cellule cambiale est calculée comme une fraction de l'aire de croissance totale, proportionnellement à la fonction de répartition.

L'aire d'une cellule cambiale X_i est notée Δ_i . Elle est donnée par la formule de l'aire d'un quadrilatère non croisé :

$$\forall i \in [1, \dots, N(t)], \Delta_i = \frac{1}{2} \left\| \overrightarrow{A_i D_i} \wedge \overrightarrow{B_i C_i} \right\| \quad (3.10)$$

La dynamique de croissance opère sur les aires des cellules : l'aire d'une cellule X_i , après la transition $\overline{\mathfrak{S}c}$, est égale à $\Delta_i^+ = \Delta_i + G_i$. Nous devons ensuite déterminer la répartition spatiale de cette aire de croissance. Dans de nombreux systèmes biologiques, la croissance s'effectue dans la direction des moindres contraintes. Dans le cas présent, les contraintes sont importantes sur le bord interne des cellules, puisqu'elles sont en contact avec le tissu épais et rigide du xylème. Au contraire, du côté externe, elles sont beaucoup moins contraintes, puisqu'elles sont en contact avec le tissu du phloème. Sur les bords latéraux, les contraintes sont importantes, mais les cellules voisines du cambium sont déformables.

Les observations microscopiques de coupe transversale de *Pinus radiata* montrent une organisation des cellules du xylème en file radiale (Harris, 1991b ; Zimmermann et Brown, 1971). Ceci confirme que la croissance a principalement lieu vers l'extérieur. Dans notre cas, pour implémenter cette croissance principalement vers l'extérieur, on la réalise selon les vecteurs latéraux des cellules : $\overrightarrow{A_i C_i}$ et $\overrightarrow{B_i D_i}$. Cela signifie que les nouveaux points définissant la cellule après croissance sont placés sur les droites $(A_i C_i)$ et $(B_i D_i)$. On parle de direction principale de croissance. La deuxième composante de la loi de croissance $\overline{\mathfrak{S}m}$,

peut redistribuer légèrement la croissance en aire donnée par la première composante de croissance $\overline{\mathfrak{S}c}$. Finalement, on définit la cellule $X_i^+ = \{A_i^+, B_i^+, C_i^+, D_i^+\}$, résultat de l'action de la transition $\overline{\mathfrak{S}c}$ sur $X_i = \{A_i, B_i, C_i, D_i\}$ comme solution du système d'équations (3.11) suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} A_i^+ = A_i \\ B_i^+ = B_i \\ \Delta_i^+ = \Delta_i + G_i \\ \left\| \overrightarrow{C_i C_i^+} \right\| = \frac{f(s(C_i)) + f(s(CD_i))}{f(s(D_i)) + f(s(CD_i))} \left\| \overrightarrow{D_i D_i^+} \right\| \\ \exists k_i^1 \geq 0, \overrightarrow{C_i C_i^+} = k_i^1 \overrightarrow{A_i C_i} \\ \exists k_i^2 \geq 0, \overrightarrow{D_i D_i^+} = k_i^2 \overrightarrow{B_i D_i} \\ \text{le quadrilatère } C_i C_i^+ D_i^+ D_i \text{ est non-croisé} \end{array} \right. \quad (3.11)$$

où le point CD_i est le milieu du segment $[C_i, D_i]$.

Les deux dernières équations de ce système imposent la croissance selon les vecteurs latéraux ; les constantes k_i^1 et k_i^2 sont prises positives, puisque la croissance se réalise forcément vers l'extérieur de la cellule. Les deux premières équations imposent que le côté basal des cellules reste fixe pendant la transformation, ceci puisque la croissance ne peut s'effectuer en direction du xylème. La troisième équation impose une croissance en aire d'intensité G_i . La quatrième équation traduit que l'augmentation en longueur de chaque segment latéral est proportionnelle à la moyenne de la fonction f sur le demi-côté utile correspondant, c'est-à-dire $[C_i, CD_i]$ pour C_i et $[CD_i, D_i]$ pour D_i .

$\overline{\mathfrak{S}c}$ est donc définie par :

$$(X_{i-1}^+, X_i^+, X_{i+1}^+) = \overline{\mathfrak{S}c}(X_{i-1}, X_i, X_{i+1}, \Gamma c^{(i)}, Wc, f, \tau) = (X_{i-1}, \{A_i, B_i, C_i^+, D_i^+\}, X_{i+1})$$

Analyse du problème (3.11)

Nous devons montrer que le problème (3.11) définit de manière unique un nouveau quadrilatère, à partir d'une configuration géométrique de départ donnée. Le problème se réécrit, sans préciser l'indice de la cellule, sous la forme :

$$\left\{ \begin{array}{l} A^+ = A \\ B^+ = B \\ \Delta^+ = \Delta + G \\ \|\overrightarrow{CC^+}\| = \frac{f(s(C)) + f(s(CD))}{f(s(D)) + f(s(CD))} \|\overrightarrow{DD^+}\| \\ \exists k^1 \geq 0, \overrightarrow{CC^+} = k^1 \overrightarrow{AC} \\ \exists k^2 \geq 0, \overrightarrow{DD^+} = k^2 \overrightarrow{BD} \\ \text{le quadrilatère } CC^+D^+D \text{ est non-croisé} \end{array} \right.$$

On utilise les notations suivantes : $x_C = \|\overrightarrow{CC^+}\|$, $x_D = \|\overrightarrow{DD^+}\|$,

$$r = \frac{f(s(C)) + f(s(CD))}{f(s(D)) + f(s(CD))} \geq 0, \quad \alpha_C = (\overrightarrow{CD}, \overrightarrow{CA}) > 0, \quad \alpha_D = (\overrightarrow{DB}, \overrightarrow{DC}) > 0 \quad \text{et}$$

$$\alpha = (\overrightarrow{AC}, \overrightarrow{BD}). \text{ Comme précédemment : } p = \|\overrightarrow{CD}\|.$$

Remarque : $\alpha + \alpha_C + \alpha_D = \pi$.

Le nouveau quadrilatère, solution du système d'équation, est $A^+C^+D^+B^+$. Pour déterminer quatre points dans l'espace à deux dimensions, on doit déterminer 8 inconnues. Les deux premières conditions ($A^+ = A$) et ($B^+ = B$) assurent que le côté basal du quadrilatère reste inchangé : le problème se résout alors à la détermination de 4 inconnues.

On doit montrer que les points C^+ et D^+ existent et sont uniques.

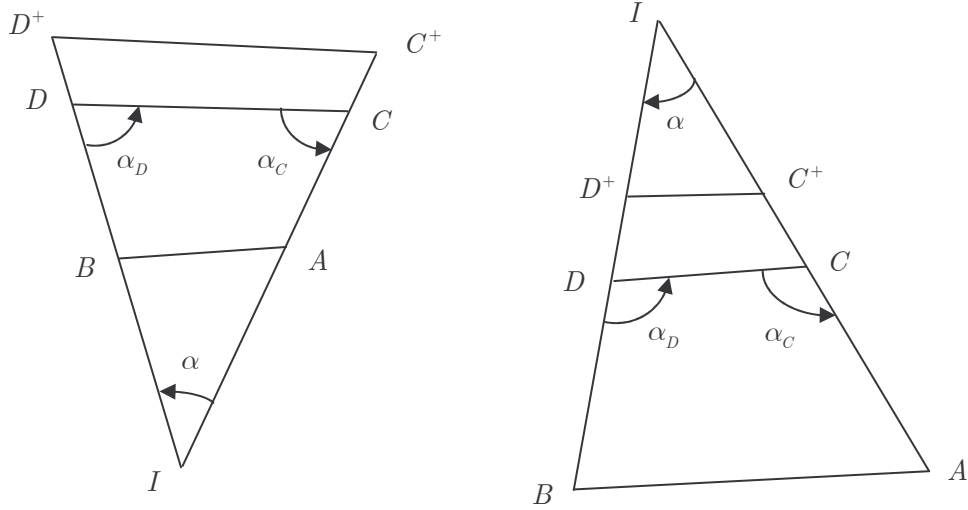


Figure 3.2. Notations pour le problème (3.11).

Représentation d'une géométrie avec $\alpha > 0$ et d'une autre avec $\alpha < 0$.

Si C^+ et D^+ sont solutions, l'équation en aire fournit : $\Delta^+ - \Delta = \text{aire}(CC^+D^+D) = G$. La condition de non-croisement du quadrilatère permet d'exprimer son aire par :

$$\frac{\det(\overrightarrow{CD^+}, \overrightarrow{C^+D})}{2} = G > 0.$$

$$\text{Soit } \det(\overrightarrow{CD} + \overrightarrow{DD^+}, \overrightarrow{C^+C} + \overrightarrow{CD}) = 2G$$

$$\text{d'où } \det(\overrightarrow{CD}, \overrightarrow{C^+C}) + \det(\overrightarrow{DD^+}, \overrightarrow{C^+C}) + \det(\overrightarrow{DD^+}, \overrightarrow{CD}) = 2G$$

$$\text{soit } px_C \sin \alpha_C + x_C x_D \sin \alpha + px_D \sin \alpha_D = 2G$$

$$\text{d'après l'équation aux normes, } x_C = rx_D, \text{ d'où } prx_D \sin \alpha_C + rx_D^2 \sin \alpha + px_D \sin \alpha_D = 2G$$

$$\text{et } x_D \text{ est ainsi solution du trinôme : } x_D^2 (r \sin \alpha) + x_D (pr \sin \alpha_C + p \sin \alpha_D) - 2G = 0$$

Nous normalisons par p pour étudier les variables $y_D = \frac{x_D}{p}$ et $y_C = \frac{x_C}{p}$.

Le problème (3.11) se résume alors à l'étude du trinôme :

$$y_D^2 (r \sin \alpha) + y_D (r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D) - \frac{2G}{p^2}.$$

1. Si $\alpha = 0$, la solution est simplement : $y_D = \frac{1}{p^2} \frac{2G}{r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D}$

Dans ce cas, $\alpha_C + \alpha_D = \pi$ et donc : $x_D = \frac{2G}{p \sin \alpha_D (1+r)}$.

Si la croissance est la même en C et D , on a $r = 1$ et $x_D = \frac{G}{p \sin \alpha_D}$ et l'on retrouve

la formule de l'aire d'un parallélogramme.

2. Si $\alpha \neq 0$, le discriminant du trinôme est : $d = (r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D)^2 + \frac{8Gr}{p^2} \sin \alpha$

2.1 Si $\alpha > 0$, alors $d > 0$ et les racines sont :

$$y_{D,1} = \frac{-r \sin \alpha_C - \sin \alpha_D - \sqrt{d}}{2r \sin \alpha} \quad \text{et} \quad y_{D,2} = \frac{-r \sin \alpha_C - \sin \alpha_D + \sqrt{d}}{2r \sin \alpha}$$

or $\sqrt{d} > (r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D)$, donc $y_{D,1} < 0$ et $y_{D,2} > 0$.

$y_{D,2}$ est donc l'unique solution du problème.

2.2 Si $\alpha < 0$, $d = (r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D)^2 - \frac{8Gr}{p^2} \sin |\alpha|$.

On a une solution, seulement si : $d \geq 0 \Leftrightarrow G \leq g_1 = p^2 \frac{(r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D)^2}{8r \sin |\alpha|}$

2.2.1 Si $d = 0$.

L'unique solution est :

$$y_D = \frac{-r \sin \alpha_C - \sin \alpha_D}{2r \sin \alpha} = \frac{r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D}{2r \sin |\alpha|} > 0$$

2.2.2 Si $d > 0$.

Les solutions sont :

$$y_{D,1} = \frac{-r \sin \alpha_C - \sin \alpha_D - \sqrt{d}}{2r \sin \alpha} = \frac{r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D + \sqrt{d}}{2r \sin |\alpha|} > 0$$

$$\text{et } y_{D,2} = \frac{-r \sin \alpha_C - \sin \alpha_D + \sqrt{d}}{2r \sin \alpha} = \frac{r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D - \sqrt{d}}{2r \sin |\alpha|} > 0$$

comme $\sqrt{d} < r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D$, $y_{D,2} > 0$.

Nous avons montré ainsi directement que le problème admet une unique solution dans presque tous les cas ; il reste à traiter le cas 2.2.2.

Dans ce cas, comme $\alpha < 0$, on peut définir le point I comme étant l'intersection des droites (AC) et (BD) : $I = (AC) \cap (BD)$. On note $x_C^l = \|\overline{IC}\|$ et $x_D^l = \|\overline{ID}\|$ et les valeurs correspondantes $y_C^l = \frac{x_C^l}{p}$ et $y_D^l = \frac{x_D^l}{p}$. Ainsi, si ces valeurs limites sont franchies par y_C et y_D , le quadrilatère résultant sera croisé.

Nous allons montrer l'existence et l'unicité de la solution, dans le cas 2.2.2, en montrant que :

$$\begin{cases} y_{C,1} > y_C^l \\ y_{D,1} > y_D^l \end{cases} \text{ et que, par contre } \begin{cases} y_{C,2} < y_C^l \\ y_{D,2} < y_D^l \end{cases}.$$

$$I = D + x_D^l \overline{u_{BD}} = C + x_C^l \overline{u_{AC}}, \text{ d'où } x_D^l \overline{u_{BD}} - x_C^l \overline{u_{AC}} = C - D = \overline{DC}.$$

Si on multiplie cette relation vectoriellement à gauche par $\overline{u_{AC}}$, on obtient :

$$x_D^l \sin \alpha = p \sin(-\alpha_C), \text{ ce qui permet d'exprimer les valeurs limites :}$$

$$x_D^l = \frac{p \sin \alpha_C}{\sin |\alpha|} \text{ et } y_D^l = \frac{\sin \alpha_C}{\sin |\alpha|}.$$

De même, en multipliant par $\overline{u_{BD}}$ on obtient : $x_C^l = \frac{p \sin \alpha_D}{\sin |\alpha|}$ et $y_C^l = \frac{\sin \alpha_D}{\sin |\alpha|}$.

$$\text{Ainsi, } y_{D,1} = \frac{r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D + \sqrt{d}}{2r \sin |\alpha|} = \frac{y_D^l}{2} + \frac{\sin \alpha_D}{2r \sin |\alpha|} + \frac{\sqrt{d}}{2r \sin |\alpha|} = \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} + \frac{\sqrt{d}}{2r \sin |\alpha|}$$

$$\text{soit : } y_{D,1} = \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} + \frac{1}{2r} \sqrt{(ry_D^l + y_C^l)^2 - \frac{8Gr}{p^2 \sin |\alpha|}}.$$

$$\text{Et } y_{D,2} = \frac{r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D - \sqrt{d}}{2r \sin |\alpha|} = \frac{y_D^l}{2} + \frac{\sin \alpha_D}{2r \sin |\alpha|} - \frac{\sqrt{d}}{2r \sin |\alpha|}$$

$$\text{soit } y_{D,2} = \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} - \frac{1}{2r} \sqrt{(ry_D^l + y_C^l)^2 - \frac{8Gr}{p^2 \sin |\alpha|}}.$$

$$\text{De plus, } y_{C,1} = ry_{D,1} = \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} + \frac{1}{2} \sqrt{(ry_D^l + y_C^l)^2 - \frac{8Gr}{p^2 \sin |\alpha|}}$$

$$\text{et } y_{C,2} = ry_{D,2} = \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} - \frac{1}{2} \sqrt{(ry_D^l + y_C^l)^2 - \frac{8Gr}{p^2 \sin|\alpha|}}.$$

Pour que le quadrilatère ne soit pas croisé, G doit être strictement majoré par l'aire du triangle ICD (dernière condition du problème (3.11)), soit :

$$G < \text{Aire}(ICD) = \frac{1}{2} \|\overrightarrow{IC}\| \|\overrightarrow{ID}\| \sin|\alpha| = \frac{p^2}{2} y_D^l y_C^l \sin|\alpha| = g_2$$

$$\text{donc } \frac{-8Gr}{p^2 \sin|\alpha|} > -4ry_D^l y_C^l.$$

$$\text{Soit } \sqrt{d} > \sqrt{(ry_D^l + y_C^l)^2 - 4ry_D^l y_C^l} = |ry_D^l - y_C^l|$$

$$\text{Donc } y_{C,1} > \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} + \frac{1}{2} |ry_D^l - y_C^l| \text{ et } y_{D,1} > \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} + \frac{1}{2r} |ry_D^l - y_C^l|.$$

$$\text{Si } ry_D^l > y_C^l, \text{ alors } y_{C,1} > \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} + \frac{ry_D^l}{2} - \frac{y_C^l}{2} = ry_D^l > y_C^l$$

$$\text{et } y_{D,1} > \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} + \frac{y_D^l}{2} - \frac{y_C^l}{2r} = y_D^l$$

$$\text{Si } ry_D^l < y_C^l, \text{ alors } y_{C,1} > \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} - \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} = y_C^l$$

$$\text{et } y_{D,1} > \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} - \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} = \frac{y_C^l}{r} > y_D^l$$

$$\text{Si } ry_D^l = y_C^l, \text{ alors } y_{C,1} > \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} = y_C^l$$

$$\text{et } y_{D,1} > \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} = \frac{y_D^l}{2} + \frac{ry_D^l}{2r} = y_D^l$$

Donc la solution $(y_{C,1}, y_{D,1})$ ne satisfait pas au problème, puisque, dans tous les cas :

$$\begin{cases} y_{C,1} > y_C^l \\ y_{D,1} > y_D^l \end{cases}.$$

En ré-utilisant la même minoration $\sqrt{d} > |ry_D^l - y_C^l|$, on obtient que : $-\frac{1}{2}\sqrt{d} < -\frac{|ry_D^l - y_C^l|}{2}$

$$\text{et : } y_{C,2} < \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} - \frac{1}{2} |ry_D^l - y_C^l| \text{ et } y_{D,2} < \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} - \frac{1}{2r} |ry_D^l - y_C^l|.$$

$$\text{Si } ry_D^l > y_C^l, \text{ alors } y_{C,2} < \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} - \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} = y_C^l$$

$$\text{et } y_{D,2} < \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} - \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} = \frac{y_C^l}{r} < y_D^l$$

$$\text{Si } ry_D^l < y_C^l, \text{ alors } y_{C,2} < \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} + \frac{ry_D^l}{2} - \frac{y_C^l}{2} = ry_D^l < y_C^l$$

$$\text{et } y_{D,2} < \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} + \frac{y_D^l}{2} - \frac{y_C^l}{2r} = y_D^l$$

$$\text{Si } ry_D^l = y_C^l, \text{ alors } y_{C,2} < \frac{ry_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2} = y_C^l$$

$$\text{et } y_{D,2} < \frac{y_D^l}{2} + \frac{y_C^l}{2r} = y_D^l$$

On montre ainsi que : $\begin{cases} y_{C,2} < y_C^l \\ y_{D,2} < y_D^l \end{cases}$ et donc, dans le cas 2.2.2, la solution existe aussi et est

unique (sous réserve que G , qui est une donnée du problème, satisfasse $G \leq g_1$ et $G < g_2$).

Revenons sur les conditions g_1 et g_2 sur G .

$$g_1 = p^2 \frac{(r \sin \alpha_C + \sin \alpha_D)^2}{8r \sin |\alpha|} = \frac{p^2}{8r} \sin |\alpha| (ry_D^l + y_C^l)^2$$

$$\text{et } g_1 - g_2 = \frac{p^2}{8r} \sin |\alpha| (ry_D^l + y_C^l)^2 - \frac{p^2}{2} y_D^l y_C^l \sin |\alpha| = \frac{p^2}{8r} \sin |\alpha| \left((ry_D^l + y_C^l)^2 - 4ry_D^l y_C^l \right).$$

$$\text{Finalement, } g_1 - g_2 = \frac{p^2}{8r} \sin |\alpha| (ry_D^l - y_C^l)^2 \geq 0.$$

Ceci prouve que $g_2 \leq g_1$.

C'est-à-dire que si l'on impose à l'aire de croissance G d'être inférieure au triangle ICD , la condition de positivité du discriminant est systématiquement satisfaite. D'après (3.9),

$$G = \frac{\left(\int_{[C,D]} f(s) ds \right)}{P} \Delta A, \Delta A \text{ étant la quantité de croissance totale en aire du cambium}$$

entre t et $t+1$. Finalement, la contrainte $G < g_2$ sera remplie, à condition de choisir un pas de temps suffisamment petit.

Nous montrons ainsi l'existence et l'unicité de la solution de (3.11), moyennant le choix d'un pas de temps raisonnable.

Dans la pratique, le respect de la contrainte en aire est aussi assuré par la transition $\overline{\mathfrak{S}m}$, qui favorise une augmentation de α pour les cellules possédant une valeur faible de α , et surtout par $\overline{\mathfrak{S}e}$, qui provoque l'élimination des cellules de trop petit périmètre p (voir les descriptions de $\overline{\mathfrak{S}m}$ et de $\overline{\mathfrak{S}e}$ dans la suite).

Interpénétration

La transition de croissance cellulaire décrite précédemment peut engendrer des interpénétrations entre les cellules, si une cellule croît dans un espace déjà occupé par une autre cellule. La description donnée précédemment pour $\overline{\mathfrak{S}c}$ est valable dans le cas où il n'y a pas d'interpénétration. Nous allons définir, d'une manière plus générale, la transition $\overline{\mathfrak{S}c}$ permettant, de plus, d'empêcher l'interpénétration des cellules. Nous notons $h_c(X, G, r)$ l'application de croissance de \mathbb{R}^{10} dans \mathbb{R}^8 qui, à la cellule X , associe la cellule $h_c(X, G, r)$ satisfaisant au problème (3.11), où le paramètre G fixe la croissance en aire et le paramètre r le rapport des normes latérales.

Nous définissons l'application indicatrice χ par :

$$\begin{aligned} \chi : \mathbb{R}^2 \times Q &\rightarrow \{0, 1\} \\ (M, \Omega) &\mapsto \begin{cases} 1, & \text{si } M \in \Omega \\ 0, & \text{sinon} \end{cases} \end{aligned} \quad (3.12)$$

où Q est l'ensemble des domaines connexes du plan. Dans cette partie, on utilisera toujours des quadrilatères de \mathbb{R}^2 .

La cellule X_i interpénètre une cellule si $\exists M \in X_i, \exists X \in \Gamma \cup W \setminus \{X_i\}, \chi(M, \overset{\circ}{X}) = 1$.

$\overset{\circ}{X}$ désigne l'intérieur du domaine X , c'est-à-dire l'ensemble X privé de sa frontière ∂X ($\overset{\circ}{X} = X \setminus \partial X$).

En pratique, le test de l'appartenance d'un point à un domaine quadrilatéral orienté $X = \{A, B, C, D\}$ est donné par quatre inégalités.

$$M \in \overset{\circ}{X} \Leftrightarrow \det(\overrightarrow{MD}, \overrightarrow{MC}) < 0, \det(\overrightarrow{MC}, \overrightarrow{MA}) < 0, \det(\overrightarrow{MA}, \overrightarrow{MB}) < 0 \text{ et } \det(\overrightarrow{MB}, \overrightarrow{MD}) < 0$$

Ceci signifie que M est à l'intérieur du quadrilatère, si tous les triangles de sommet M défini par les points des déterminants ci-dessus ont un angle au sommet M de même signe.

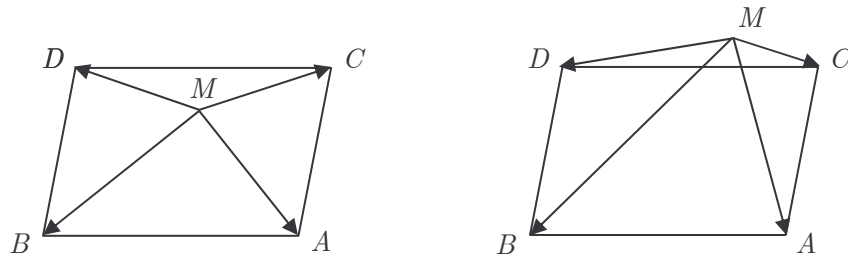


Figure 3.3. Détection de l'appartenance d'un point à un domaine quadrilatéral.

h_C s'applique à une cellule $X_i = \{A_i, B_i, C_i, D_i\}$, pour obtenir des nouveaux points C_i^+ et D_i^+ qui définissent le nouveau périmètre utile. Nous notons ces points C et D par la suite.

Si $\exists X \in \Gamma \cup \mathcal{W} \setminus \{X_i\}$, telle que $\chi(C, \overset{\circ}{X}) = 1$ ou $\chi(D, \overset{\circ}{X}) = 1$, alors il y a interpénétration.

Si $\chi(C, \overset{\circ}{X}) = 1$ (resp. $\chi(D, \overset{\circ}{X}) = 1$), on définit les nouveaux points $\gamma_X(C)$ et $\gamma_X(A)$, (resp. $\gamma_X(D)$ et $\gamma_X(B)$), projetés orthogonaux de C et A (resp. D et B) sur le côté concerné de la cellule X , c'est-à-dire celui qui a été franchi par croissance de $[A, C]$ (resp. $[B, D]$). Nous considérons alors que la cellule croît dans l'espace intercellulaire disponible jusqu'au mur cellulaire voisin. Nous affectons ainsi à la cellule X_i un nouveau mur latéral défini par $[\gamma_X(A), \gamma_X(C)]$ (resp. $[\gamma_X(B), \gamma_X(D)]$). La cellule croît ensuite selon ces nouveaux vecteurs latéraux, jusqu'à atteindre l'aire $\Delta_i + G_i$, pour assurer l'incompressibilité des cellules. Nous parlons de croissance, mais il est possible, selon les configurations, d'avoir ainsi une étape de croissance « négative », si la cellule a crû de manière importante dans l'espace latéral

disponible. Si les deux points C et D sont concernés par une interpénétration, tous les points de la cellule sont mis à jour par projections.

La transition de croissance $\overline{\mathfrak{S}c}$ se décompose ainsi en plusieurs étapes ; nous définissons d'abord $X_i^{(1)}$ par :

$$X_i^{(1)} = \{A_i^{(1)}, B_i^{(1)}, C_i^{(1)}, D_i^{(1)}\} = h_C \left(X_i, G_i, \frac{f(s(C_i(t))) + f(s(CD_i(t)))}{f(s(D_i(t))) + f(s(CD_i(t)))} \right),$$

puis $X_i^{(2)}$ et $X_i^{(3)}$ à partir des fonctions de projection généralisée $\overline{\gamma_C}$ et $\overline{\gamma_D}$.

$X_i^{(2)}$ est défini par :

$$X_i^{(2)} = \overline{\gamma_C}(X_i^{(1)}, X_{i-1}, X_{i+1}, \Gamma c^{(i)}, Wc) = \begin{cases} \{\gamma_{X^C}(A_i^{(1)}), B_i^{(1)}, \gamma_{X^C}(C_i^{(1)}), D_i^{(1)}\}, \\ \text{si } \exists X^C \in \{X_{i-1}, X_{i+1}, \Gamma c^{(i)}, Wc\}, \chi(C_i^{(1)}, \overset{\circ}{X}^C) = 1 \\ X_i^{(1)}, \text{ sinon} \end{cases}$$

et $X_i^{(3)}$ par :

$$X_i^{(3)} = \overline{\gamma_D}(X_i^{(2)}, X_{i-1}, X_{i+1}, \Gamma c^{(i)}, Wc) = \begin{cases} \{A_i^{(2)}, \gamma_{X^D}(B_i^{(2)}), C_i^{(2)}, \gamma_{X^D}(D_i^{(2)})\}, \\ \text{si } \exists X^D \in \{X_{i-1}, X_{i+1}, \Gamma c^{(i)}, Wc\}, \chi(D_i^{(2)}, \overset{\circ}{X}^D) = 1 \\ X_i^{(2)}, \text{ sinon} \end{cases}$$

$$\text{Finalement, } X_i^{(4)} \text{ est définie par : } X_i^{(4)} = h_C \left(X_i^{(3)}, \Delta_i + G_i - \text{aire}(X_i^{(3)}), \frac{\|\overline{B_i D_i}\|}{\|\overline{A_i C_i}\|} \right)$$

Dans l'expression de $X_i^{(4)}$, le rapport des normes latérales est choisi égal à $\frac{\|\overline{B_i D_i}\|}{\|\overline{A_i C_i}\|}$ de manière

à avantager légèrement le plus petit côté. Le choix inverse sera fait par la suite, ce qui équilibre ce critère. En pratique, les normes latérales sont rarement très différentes et le critère n'influe quasiment pas sur les résultats des simulations.

La version finale de $\overline{\mathfrak{S}c}$ s'écrit :

$$(X_{i-1}^+, X_i^+, X_{i+1}^+) = \overline{\mathfrak{S}c}(X_{i-1}, X_i, X_{i+1}, \Gamma c^{(i)}, Wc, f, \tau) = (X_{i-1}, X_i^{(4)}, X_{i+1}).$$

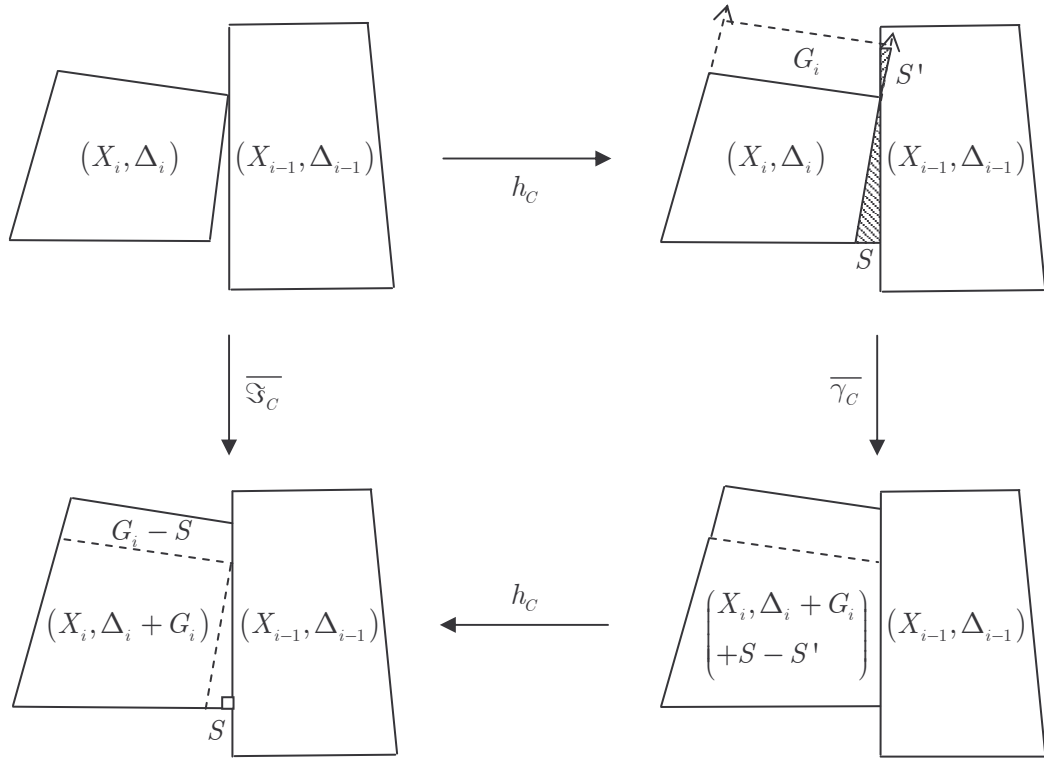


Figure 3.4. Illustration de la décomposition de la transition de croissance $\overline{\mathfrak{S}}_c$ et de la préservation de la non-interpénétration.

Remarque :

En toute rigueur, la description globale $(X_{k-1}^+, X_k^+, X_{k+1}^+) = \overline{\mathfrak{S}}x(X_{k-1}, X_k, X_{k+1}, \Gamma x^{(k)}, Wx, f, \tau)$ de l'équation (3.7) devrait inclure un terme permettant de mémoriser l'état du cambium à l'instant t . Effectivement, la transition $\overline{\mathfrak{S}}_c$ nécessite cette information, pour le calcul de l'aire de croissance (équation (3.9)) et du rapport des normes latérales du système (3.11). Cet argument a été omis par souci de simplification.

3.1.3.1.2 Maintenance de la forme $\overline{\mathfrak{S}}m$

On définit, pour chaque cellule, son angle caractéristique α , déjà utilisé pour la définition de $\overline{\mathfrak{S}}_c$. Il est formé par les vecteurs latéraux de croissance. Ainsi, à chaque instant t , il est défini, pour chaque cellule, par $\alpha_i = (\overline{A_i C_i}, \overline{B_i D_i})$. Nous définissons aussi une configuration de référence pour les cellules cambiales. Une cellule X_i est dans sa

configuration de référence au temps t , lorsque $\alpha_i(t) = \alpha_0$, α_0 étant l'angle de référence, pris constant au cours des simulations. En pratique, cet angle est choisi positif. Les cellules caractérisées par un angle α_i positif sont des cellules dont le périmètre utile augmente au cours du temps. Au contraire, si l'angle est négatif, les cellules auront tendance à avoir un périmètre utile en diminution. Nous parlerons de cellules respectivement dominantes ou dominées : les cellules sont en compétition pour l'espace de croissance, et un grand périmètre utile permet une forte croissance (équation (3.9)).

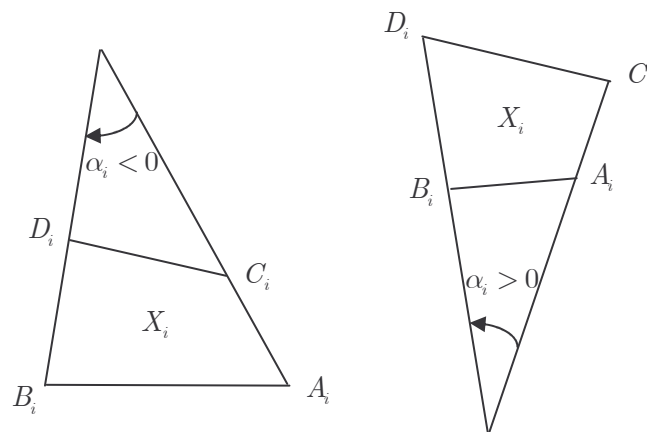


Figure 3.5. Configuration générale d'une cellule, selon le signe de l'angle caractéristique.

Nous supposons que les cellules cambiales ont tendance à croître en maintenant cette forme de référence. Ceci permet de rendre compte d'une certaine homogénéité de leur dimension. La première fonction de transition $\overline{\mathfrak{S}c}$ applique une croissance en aire G_i à la cellule X_i . La deuxième fonction $\overline{\mathfrak{S}m}$ va permettre une légère redistribution de cette croissance, favorable au maintien de la forme de référence. La direction vers l'extérieur est bien privilégiée, mais les cellules cambiales utilisent aussi une partie de leur potentiel de croissance pour maintenir leur forme de référence. Si, au temps t :

- $\alpha < \alpha_0$, la cellule tend à diminuer son périmètre extérieur pour privilégier une croissance plus importante vers l'extérieur.
- $\alpha > \alpha_0$, la cellule tend à augmenter son périmètre extérieur par une croissance dirigée plus latéralement et moins vers l'extérieur.

La propriété du maintien de la forme permet de modéliser l'effet de compétition existant entre les cellules cambiales, pour conquérir les espaces de croissance (extérieurs ou latéraux). En effet, comme le fait remarquer Kramer, le cambium est régi par une intense

dynamique de compétition entre les cellules (Kramer, 2002). Cette propriété reflète aussi la tendance des cellules à croître plus en épaisseur, lorsqu'elles ne peuvent croître suffisamment en longueur (lorsque l'angle est négatif). L'équation la plus simple pour prendre en compte cette propriété de maintenance de l'angle est :

$$\forall i \in [1, \dots, N(t)], \quad \frac{d\alpha_i}{dt} = -k(\alpha_i - \alpha_0) \quad (3.13)$$

où k est appelé le coefficient de maintenance. La fonction de transition $\overline{\mathfrak{S}m}$ est définie à partir de la forme discrétisée de cette équation différentielle ordinaire :

$$\alpha_i^+ = \alpha_i - k(\alpha_i - \alpha_0) \quad (3.14)$$

Nous devons ensuite répartir la différence d'angle entre les rotations des vecteurs $\overrightarrow{A_i C_i}$ et $\overrightarrow{B_i D_i}$ autour des points A_i et B_i . Lorsque les contraintes latérales sont équivalentes, les angles des rotations sont égaux en valeur absolue à $\Delta\alpha_i = \left| \frac{\alpha_i^+ - \alpha_i}{2} \right|$. Si les contraintes sont déséquilibrées par l'absence de voisinage d'un côté, la rotation s'effectue entièrement du côté libre de contrainte, d'un angle d'amplitude $|\alpha_i^+ - \alpha_i|$. Ces distinctions se réalisent toujours conformément au principe de croissance selon les moindres contraintes. La transition $\overline{\mathfrak{S}m}$ s'applique de manière incompressible, puisqu'il ne s'agit que d'une redistribution de croissance et non d'une croissance. Les changements d'orientation des vecteurs latéraux de croissance se répercutent sur les cellules voisines, en contact avec la cellule centrale. Les aires de toutes les cellules affectées par la transition sont remises à jour, pour conserver l'incompressibilité de la transformation.

L'état de la cellule et de ses voisines est plus précisément donnée par :

$$(X_{j-1}^+, X_j^+, X_{j+1}^+) = \overline{\mathfrak{S}m}(X_{j-1}, X_j, X_{j+1}, Wm, f, \tau)$$

avec :

Si $\chi(C_j, X_{j-1}) = 1$ et $\chi(D_j, X_{j+1}) = 1$, alors

$$\left\{ \begin{array}{l} \Delta\alpha_j = \left| \frac{k(\alpha_j - \alpha_0)}{2} \right| \\ C_j^+ = \text{rot}_{A_j}(C_j, -\Delta\alpha_j) \\ D_j^+ = \text{rot}_{B_j}(D_j, \Delta\alpha_j) \\ X_j^+ = \{A_j, B_j, C_j^+, D_j^+\} \\ X_{j-1}^{(1)} = \{A_{j-1}, \gamma_{X_j^+}(B_{j-1}), C_{j-1}, \gamma_{X_j^+}(D_{j-1})\} \\ X_{j-1}^+ = h_C \left(X_{j-1}^{(1)}, \Delta_{j-1} - \Delta_{j-1}^{(1)}, \frac{\|\overrightarrow{A_{j-1}C_{j-1}}\|}{\|\gamma_{X_j^+}(B_{j-1})\gamma_{X_j^+}(D_{j-1})\|} \right) \\ X_{j+1}^{(1)} = \{\gamma_{X_j^+}(A_{j+1}), B_{j+1}, \gamma_{X_j^+}(C_{j+1}), D_{j+1}\} \\ X_{j+1}^+ = h_C \left(X_{j+1}^{(1)}, \Delta_{j+1} - \Delta_{j+1}^{(1)}, \frac{\|\gamma_{X_j^+}(A_{j+1})\gamma_{X_j^+}(C_{j+1})\|}{\|\overrightarrow{B_{j+1}D_{j+1}}\|} \right) \end{array} \right.$$

où $\text{rot}_M(., \theta)$ est la rotation de centre M et d'angle θ .

Si $\chi(C_j, X_{j-1}) = 1$ et $\chi(D_j, X_{j+1}) = 0$, alors

$$\left\{ \begin{array}{l} \Delta\alpha_j = |k(\alpha_j - \alpha_0)| \\ D_j^+ = \text{rot}_{B_j}(D_j, \Delta\alpha_j) \\ X_j^+ = \{A_j, B_j, C_j, D_j^+\} \\ \text{Si } \chi(D_j^+, X_{j+1}) = 1, \\ X_{j+1}^{(1)} = \{\gamma_{X_j^+}(A_{j+1}), B_{j+1}, \gamma_{X_j^+}(C_{j+1}), D_{j+1}\} \\ X_{j+1}^+ = h_C \left(X_{j+1}^{(1)}, \Delta_{j+1} - \Delta_{j+1}^{(1)}, \frac{\|\gamma_{X_j^+}(A_{j+1})\gamma_{X_j^+}(C_{j+1})\|}{\|\overrightarrow{B_{j+1}D_{j+1}}\|} \right) \end{array} \right.$$

Si $\chi(C_j, X_{j-1}) = 0$ et $\chi(D_j, X_{j+1}) = 1$, alors la transition se définit de manière analogue à la précédente.

Si $\chi(C_j, X_{j-1}) = 0$ et $\chi(D_j, X_{j+1}) = 0$, alors

$$\left\{ \begin{array}{l}
\Delta\alpha_j = \left| \frac{k(\alpha_j - \alpha_0)}{2} \right| \\
C_j^+ = \text{rot}_{A_j} (C_j, -\Delta\alpha_j) \\
D_j^+ = \text{rot}_{B_j} (D_j, \Delta\alpha_j) \\
X_j^+ = \{A_j, B_j, C_j^+, D_j^+\} \\
\text{Si } \chi(C_j^+, X_{j-1}) = 1, \\
X_{j-1}^{(1)} = \{A_{j-1}, \gamma_{X_j^+}(B_{j-1}), C_{j-1}, \gamma_{X_j^+}(D_{j-1})\} \\
X_{j-1}^+ = h_C \left(X_{j-1}^{(1)}, \Delta_{j-1} - \Delta_{j-1}^{(1)}, \frac{\|A_{j-1}C_{j-1}\|}{\|\gamma_{X_j^+}(B_{j-1})\gamma_{X_j^+}(D_{j-1})\|} \right) \\
\text{Si } \chi(D_j^+, X_{j+1}) = 1, \\
X_{j+1}^{(1)} = \{\gamma_{X_j^+}(A_{j+1}), B_{j+1}, \gamma_{X_j^+}(C_{j+1}), D_{j+1}\} \\
X_{j+1}^+ = h_C \left(X_{j+1}^{(1)}, \Delta_{j+1} - \Delta_{j+1}^{(1)}, \frac{\|\gamma_{X_j^+}(A_{j+1})\gamma_{X_j^+}(C_{j+1})\|}{\|B_{j+1}D_{j+1}\|} \right)
\end{array} \right.$$

Cette transition comporte la partie « biomécanique » du modèle. Il s'agit bien évidemment d'une mécanique hautement simplifiée. Un modèle plus avancé pourrait prendre en compte des lois de comportement de la mécanique des milieux continus pour l'évolution de chaque cellule. Pour rester dans la logique d'utiliser pour toutes les cellules les mêmes comportements, il faudrait affecter à toutes les cellules du cambium les mêmes coefficients de module d'Young et de Poisson. Les valeurs choisies devront rendre compte d'un comportement relativement déformable. Il conviendrait d'affecter d'autres coefficients au xylème, pour le rendre très rigide. Cette amélioration impliquerait cependant une augmentation significative des temps de calcul pour les simulations.

3.1.3.2 Les événements

Les cellules évoluent en permanence selon les lois précédentes $\overline{\mathfrak{C}}$ et $\overline{\mathfrak{M}}$. Nous décrivons, dans cette section, le deuxième type de loi utilisée, qui concerne des dynamiques plus localisées dans le temps, plus ponctuelles. Nous les appellerons événements. Ils se déclenchent après la vérification de contraintes simples liées à la géométrie cellulaire. Ce type

de modélisation a déjà été utilisé dans le contexte de la modélisation du renouvellement tissulaire (Potten, 1979 ; Clem *et al.*, 1997). La troisième transition du modèle est la transition $\overline{\mathfrak{S}e}$ relative à l'élimination d'une cellule du cambium.

3.1.3.2.1 Elimination du cambium

Cet événement est une conséquence de l'effet de compétition entre les cellules cambiales pour l'espace de croissance disponible. Ceci se manifeste particulièrement lors d'une surproduction de cellules cambiales par division anticlinale, le cambium devant alors se réarranger pour retrouver un équilibre aux dépens de certaines cellules. Larson a observé que les cellules éliminées du cambium présentaient souvent une diminution progressive de leur taille (Larson, 1994). Nous supposons, plus généralement, qu'une cellule est éliminée du cambium lorsqu'elle est privée d'échange vers l'extérieur, ce qui peut se produire lorsque :

- son périmètre utile est trop petit.
- les cellules de son voisinage entrent en contact, lui fermant ainsi la communication vers l'extérieur.

Lorsqu'une cellule est éliminée, elle rejoint directement le xylème. La première condition est cohérente avec la fragilité observée des cellules nées d'une division anticlinale, car elles naissent en général avec un petit périmètre extérieur.

La condition utilisée pour le déclenchement de l'élimination de la cellule X_i est :

$$(p_i < \tau_E) \text{ ou } (X_{i-1} \cap X_{i+1} \neq \emptyset) \quad (3.15)$$

La transition $\overline{\mathfrak{S}e}$ s'écrit :

si (3.15) est vérifiée :

$$\overline{\mathfrak{S}e}(X_{i-1}, X_i, X_{i+1}, We, f, \tau) = (X_{i-1}, X_{i+1})$$

et, pour la transition considérée dans sa totalité, en notant $i = \sigma e_k^{k-1}$:

$$(\Gamma e_k, We_k, f, \tau, \sigma e^k, Ne_k) = \mathfrak{S}e_{i, \sigma e_k^{k-1}}^{t+1}(\Gamma e_{k-1}, We_{k-1}, f, \tau, \sigma e^{k-1}, Ne_{k-1})$$

$$\text{avec } \Gamma e_k = (X_1^{e, k-1}, \dots, X_{i-1}^{e, k-1}, X_{i+1}^{e, k-1}, \dots, X_{Ne_{k-1}}^{e, k-1})$$

$$\begin{aligned}
We_k &= We_{k-1} \cup X_i^{e,k-1} \\
\begin{cases} \sigma e_j^k = \sigma e_j^{k-1}, \forall j \in [1..k-1] \\ \sigma e_j^k = \begin{cases} \sigma e_{j+1}^{k-1}, & \text{si } \sigma e_{j+1}^{k-1} < i \\ \sigma e_{j+1}^{k-1} - 1, & \text{si } \sigma e_{j+1}^{k-1} > i \end{cases}, \forall j \in [k, \dots, Ne_{k-1} - 1] \end{cases} \\
Ne_k &= Ne_{k-1} - 1
\end{aligned}$$

Si (3.15) n'est vérifiée :

La transition d'élimination ne produit aucun changement dans les structures Γ et W .

3.1.3.2.2 La division cellulaire

Le critère utilisé s'appuie sur un concept énoncé par René Thom dans son livre « Stabilité structurelle et morphogenèse » (Thom, 1972). Selon ce critère, une cellule peut croître, tant que sa surface utile de nutrition est suffisante pour répondre à ses besoins métaboliques. Si ce n'est plus le cas, elle se prépare à la mitose. Cette idée se retrouve dans (Vogel, 1988) et (Edelstein-Keshet, 1988). Plus précisément, nous pouvons considérer que cette condition correspond à une satisfaction de contraintes permettant le passage de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire. Dans notre représentation, la surface d'échange est le périmètre utile p_i et le volume cellulaire est l'aire Δ_i . Si on considère que les besoins métaboliques sont proportionnels à l'aire de la cellule et que les flux métaboliques qui alimentent la cellule sont proportionnels au périmètre utile, ce critère se résume, pour une cellule X_i , à l'évolution de la quantité $\tau_i = \frac{p_i}{\Delta_i}$. On fixe un seuil τ_C de déclenchement des

mitoses. On utilise finalement la condition de division suivante pour X_i :

une cellule X_i se divise entre t et $t+1$ si :

$$\tau_i < \tau_C \tag{3.16}$$

Lorsque cette condition est satisfaite, la cellule concernée se divise en deux cellules filles, d'aires égales à $\frac{\Delta_i}{2}$. D'autres études portent sur l'étude du ratio surface utile sur volume (ou

périmètre utile sur aire en 2D) ou sur des concepts similaires : (Cottet et Maday, 1981), (Kondorosi et al, 2000), (Darzynkiewicz et al, 1979)...

τ_C est le paramètre critique de division. Il dépend notamment de la disponibilité des nutriments. Pendant la période de dormance, les nutriments sont moins disponibles, ce qui produit une augmentation de la valeur de τ_C (les cellules peuvent moins longtemps subvenir à leurs besoins), ce qui a pour effet de produire de plus petites cellules, contribuant à la formation d'un xylème dense, caractéristique de la période de dormance.

Si (3.16) est satisfaite, une division cellulaire intervient. Nous devons ensuite préciser comment s'effectue le choix du type de division : anticlinale ou péricleinale. Les conditions biologiques qui déclenchent ou favorisent l'un ou l'autre type de division sont mal connues. Smith a étudié le rôle de la direction des efforts mécaniques subis par la cellule sur cette détermination (Smith, 2001). Une cellule contrainte semblerait augmenter sa probabilité de division selon une direction particulière. Les études sur cette détermination du plan de division restent toutefois rares et ne sont pas directement exploitables. Ce manque d'information spatiale (et temporelle) nous oblige à utiliser une approche aléatoire pour cet événement. La détermination du type de division se réalise en fonction de la valeur d'un paramètre q qui est comparé à une valeur seuil p_C . q est choisi aléatoirement (selon une loi uniforme) dans l'intervalle $[0,1]$, chaque fois qu'une division cellulaire intervient. La valeur seuil p_C est choisie de manière à obtenir en moyenne la « bonne » proportion entre les types de division, la bonne proportion étant celle qui permet de préserver, au cours du temps, la valeur moyenne du périmètre extérieur des cellules cambiales. La condition de préservation s'écrit :

$$\forall t \in \mathbb{N}, \frac{P(t)}{N(t)} = \frac{P(0)}{N(0)} \quad (3.17)$$

Calcul théorique de p_C

Nous détaillons le calcul de p_C , découlant de la condition (3.17). On considère que le cambium, au temps t , est un anneau circulaire de rayon interne R_0 , constitué de N cellules identiques d'épaisseur radiale l et de largeur moyenne L en circonférence. Supposons qu'au temps t , toutes les cellules viennent de se diviser de manière synchrone et selon le type péricleinal. On peut alors calculer que le ratio de chaque cellule est :

$\tau_i(t) = \frac{p_i(t)}{\Delta_i(t)} = 2\tau_c = 2\frac{L}{L \times 2l} = \frac{1}{l}$, en supposant que les cellules sont exactement rectangulaires.

Après une croissance en longueur radiale de l pour chaque cellule, nécessitant un laps de temps Δt , τ_i diminue jusqu'à la valeur $\tau_i(t + \Delta t) = \tau_c$. Soit $n_e(\Delta t)$ le nombre d'éliminations cellulaires qui ont eu lieu entre t et $t + \Delta t$. Au temps $t + \Delta t$, $N - n_e$ divisions interviennent par nouveaux franchissements du seuil (condition (3.16)). Pendant cette croissance, le périmètre extérieur du cambium a augmenté de $2\pi l$: $P(t + \Delta t) - P(t) = 2\pi(R_0 + 2l) - 2\pi(R_0 + l)$. Ainsi, pour conserver la condition (3.17), $2\pi l / L$ cellules doivent être créées pour faire face à l'augmentation de la circonférence. Au total, $\frac{2\pi l}{L} + n_e$ nouvelles cellules doivent être créées pour compenser l'augmentation en circonférence et les éliminations cellulaires. Parmi les $N - n_e$ divisions, $(\frac{2\pi l}{L} + n_e)$ doivent donc être anticlinales, chaque division anticlinale produisant une nouvelle cellule cambiale. Dans ce cas, la condition de préservation est bien vérifiée :

$$\frac{P(t + \Delta t)}{N(t + \Delta t)} = \frac{P(t) + 2\pi l}{N(t) - n_e + n_e + \frac{2\pi l}{L}} = \frac{2\pi(R_0 + l) + 2\pi l}{\frac{2\pi(R_0 + l)}{L} + \frac{2\pi l}{L}} = L = \frac{P(t)}{N(t)}.$$

La valeur théorique du seuil p_c est justement donnée par la proportion de divisions anticlinales rapportés au nombre total de division, c'est-à-dire : $p_c = \frac{2\pi l / L + n_e}{N - n_e}$. n_e s'exprime simplement, en fonction de quantités déjà définies, comme la différence entre le nombre $N(t)$ de cellules cambiales au temps t et le nombre N_e de cellules cambiales après la transition d'élimination $\mathfrak{S}e_t^{t+1}$: $n_e(t) = N(t) - N_e$. On considérera finalement l'expression suivante pour p_c :

$$p_c(t) = \frac{2\pi l + L(N(t) - N_e)}{LN_e} \quad (3.18)$$

Cette expression régule le nombre de cellules cambiales au cours du temps. Par exemple, si le nombre de cellules cambiales est trop élevé, suite à une surproduction de cellules cambiales, la valeur de $N(t)$ augmente fortement. Ceci entraîne, d'après (3.18), une

diminution de p_C et donc une réduction de la fréquence des divisions anticlinales et, ainsi, une réduction du taux de production de nouvelles cellules. De même, si un nombre important d'éliminations cellulaires intervient, la valeur de p_C augmente, ce qui stimule la création de nouvelles cellules, pour pallier ce déficit cellulaire. Ce critère, qui découle d'une simple conservation du périmètre utile moyen des cellules, permet donc de rendre compte naturellement du fait que l'évolution du nombre de cellules cambiales, au cours du temps, dépend d'un équilibre entre une production de nouvelles cellules par division anticlinale et une perte de cellules par élimination.

Barlow a étudié une valeur théorique similaire, mais sans inclure l'élimination possible des cellules cambiales (Barlow *et al.*, 2002).

Il faut noter que, de la même manière que pour la croissance, la transition de division fait intervenir des données précédemment calculées : $N(t)$ et N_e . Ces quantités devraient apparaître dans la description générale des transitions génériques (3.7).

Nous utilisons également une autre condition : une division cellulaire intervient aussi lorsqu'une cellule atteint la limite supérieure de largeur τ_L . Cette condition est rajoutée pour respecter les observations présentées dans (Harris, 1991b). En pratique, cette limite n'est quasiment jamais atteinte dans nos simulations, car la régulation par p_C suffit à maintenir la largeur des cellules à des valeurs inférieures à τ_L .

Une dernière condition empêche une cellule de se diviser par le processus anticlinal, si cela devait provoquer l'élimination de ses cellules filles. Une cellule peut se diviser de manière anticlinale seulement si $\left(\frac{p_i}{2} \geq \tau_E\right)$. Notons qu'aucune limite supérieure, du type limite de Hayflick, n'est imposée au nombre de mitoses consécutives d'une lignée cellulaire (Hayflick et Moorhead, 1961).

En définitive, les conditions de déclenchement des deux types de divisions sont :

- pour le type périclinal :

$$\left(\tau_i = \frac{p_i}{\Delta_i} < \tau_C\right) \text{ et } (q \geq p_C) \quad (3.19)$$

- pour le type anticlinal :

$$\left(\left(\left(\tau_i = \frac{p_i}{\Delta_i} < \tau_C \right) \text{ et } (q < p_C) \right) \text{ ou } (p_i \geq \tau_L) \right) \text{ et } (p_i \geq 2\tau_E) \quad (3.20)$$

L'expression de la transition $\overline{\mathfrak{S}d}$ peut être maintenant explicitée :

Si (3.19) est vérifiée :

X_i se divise en deux cellules filles d'aire égale $X_{xi} = \{A_i, B_i, AC_i^+, BD_i^+\}$ et $X_{ci} = \{AC_i^+, BD_i^+, C_i, D_i\}$, avec $X_i = X_{xi} \cup X_{ci}$ (Figure 3.6).

Les points AC_i^+ et BD_i^+ sont déterminés tels que :

$$\left\{ \begin{array}{l} AC_i^+ \in [A_i, C_i] \\ BD_i^+ \in [B_i, D_i] \\ \text{aire}(\{A_i, B_i, AC_i^+, BD_i^+\}) = \frac{\Delta_i}{2} \\ \frac{\| \overrightarrow{AC_i^+ C_i} \|}{\| \overrightarrow{BD_i^+ D_i} \|} = \frac{\| \overrightarrow{A_i C_i} \|}{\| \overrightarrow{B_i D_i} \|} \end{array} \right.$$

Les nouveaux points sont calculés en utilisant $h_C \left(X_i, -\frac{\Delta_i}{2}, \frac{\| \overrightarrow{A_i C_i} \|}{\| \overrightarrow{B_i D_i} \|} \right)$. La dernière condition

implique que la position du nouveau mur cellulaire est fixée proportionnellement à la longueur des segments latéraux de la cellule.

$\overline{\mathfrak{S}d}$ est alors définie telle que $X_i^+ = X_{ci}$,

c'est-à-dire : $\overline{\mathfrak{S}d}(X_{i-1}, X_i, X_{i+1}, Wd, f, \tau) = (X_{i-1}, X_{ci}, X_{i+1})$

et, pour la transition considérée dans sa totalité, avec $i = \sigma d_k^{k-1}$:

$$(\Gamma d_k, Wd_k, f, \tau, \sigma d^k, Nd_k) = \mathfrak{S}d_{i, \sigma d_k^{k-1}}^{t+1}(\Gamma d_{k-1}, Wd_{k-1}, f, \tau, \sigma d^{k-1}, Nd_{k-1})$$

avec $\Gamma d_k = (X_1^{d,k-1}, \dots, X_{i-1}^{d,k-1}, X_{ci}^{d,k-1}, X_{i+1}^{d,k-1}, \dots, X_{Nd_{k-1}}^{d,k-1})$

$$Wd_k = Wd_{k-1} \cup X_{xi}$$

$$\begin{aligned}\sigma d_k &= \sigma d_{k-1} \\ Nd_k &= Nd_{k-1}\end{aligned}$$

Si (3.20) est vérifiée :

$X_i = X_{c_1i} \cup X_{c_2i}$ se divise en deux cellules filles d'aire égale X_{c_1i} et X_{c_2i} (Figure 3.6).

avec $X_{c_1i} = \{A_i, AB_i^+, C_i, CD_i^+\}$ et $X_{c_2i} = \{AB_i^+, B_i, CD_i^+, D_i\}$, où les points AB_i^+ et CD_i^+ sont choisis sur les segments $[A_i, B_i]$ et $[C_i, D_i]$ avec des conditions analogues à celles des points de la division périclinale.

$\overline{\mathfrak{S}d}$ est alors définie telle que $X_i^+ = \{X_{c_1i}, X_{c_2i}\}$, c'est-à-dire :

$$\overline{\mathfrak{S}d}(X_{i-1}, X_i, X_{i+1}, Wd, f, \tau) = (X_{i-1}, X_{c_1i}, X_{c_2i}, X_{i+1})$$

Pour la transition considérée dans sa totalité, avec $i = \sigma d_k^{k-1}$, nous avons :

$$(\Gamma d_k, Wd_k, f, \tau, \sigma d^k, Nd_k) = \mathfrak{S}d_{i, \sigma d_k^{k-1}}^{t+1}(\Gamma d_{k-1}, Wd_{k-1}, f, \tau, \sigma d^{k-1}, Nd_{k-1})$$

avec $\Gamma d_k = (X_1^{d,k-1}, \dots, X_{i-1}^{d,k-1}, X_{c_1i}, X_{c_2i}, X_{i+1}^{d,k-1}, \dots, X_{Nd_{k-1}}^{d,k-1})$

$$Wd_k = Wd_{k-1}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \sigma d_j^k = \sigma d_j^{k-1}, \quad \forall j \in [1, \dots, k] \\ \sigma d_j^k = \begin{cases} \sigma d_j^{k-1}, & \text{si } \sigma d_j^{k-1} < i \\ \sigma d_j^{k-1} + 1, & \text{si } \sigma d_j^{k-1} > i \end{cases}, \quad \forall j \in [k+1, \dots, Nd_{k-1}] \end{array} \right.$$

$$Nd_k = Nd_{k-1} + 1$$

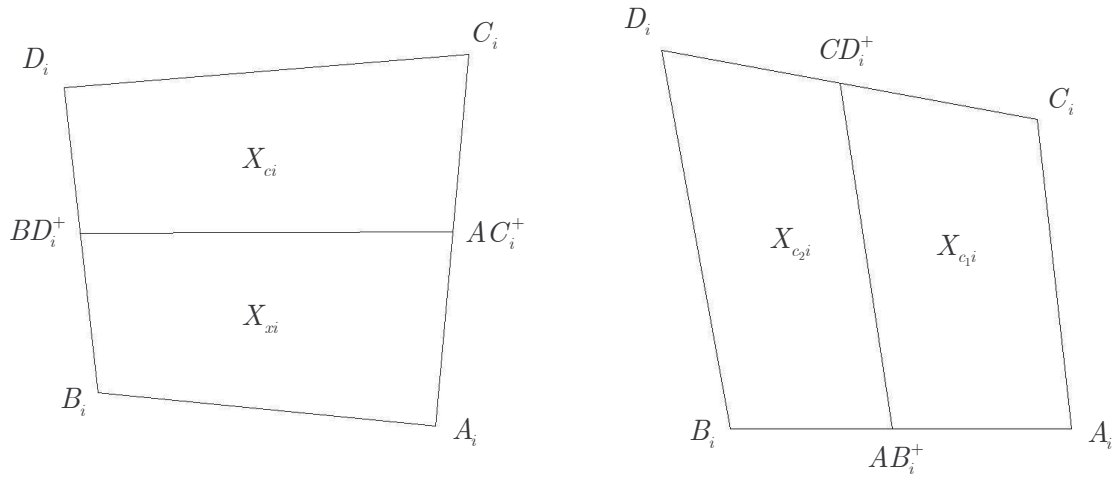


Figure 3.6. Notations pour les divisions périnclinales et anticlinales.

3.1.4 Synthèse du fonctionnement du système discret

La Figure 3.7 reprend synthétiquement le fonctionnement du modèle discret de prolifération. La situation initiale du modèle nécessite une géométrie cambiale pour définir les cellules et leur nombre. L'exécution utilise aussi un générateur de permutations aléatoires σ_c , pour fixer l'ordre de parcours des cellules de la géométrie initiale. On se donne un état initial pour le xylème. Il sera choisi vide généralement. On fixe aussi les valeurs du vecteur des paramètres τ . Le schéma montre le lien avec le modèle de répartition d'auxine dénommé $(P1/P2)$ qui calcule la fonction de répartition f . Le modèle de répartition de l'auxine est appelé $(P1/P2)$ pour symboliser les deux problèmes différentiels qui permettent de calculer f . Ces problèmes différentiels sont décrits dans la partie suivante.

La connaissance de toutes ces relations permet d'appliquer l'opérateur \mathfrak{S}_t^{t+1} , qui réalise la transition du système jusqu'au pas de temps suivant, en appliquant successivement les transitions partielles de croissance, de maintien de la forme, d'élimination et de division. Le résultat définit les nouveaux états du xylème et du cambium. Les paramètres du vecteur τ et la fonction de répartition sont remis à jour si nécessaire. Si le temps final de la simulation n'est pas atteint, on peut alors appliquer de nouveau la transition globale, après avoir calculé le nouvel ordre de parcours des cellules.

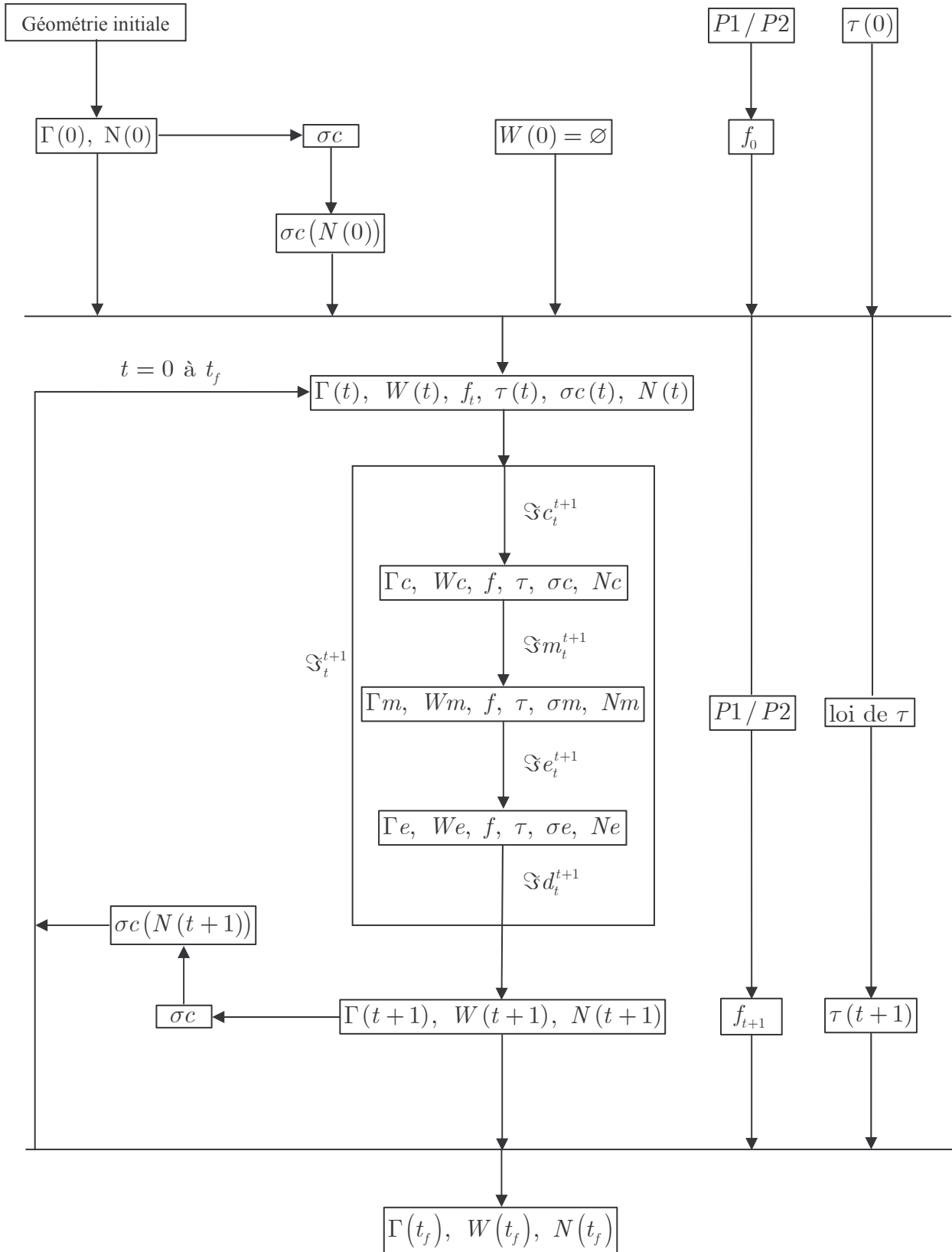


Figure 3.7. Représentation du fonctionnement de l'opérateur discret de prolifération.

3.1.5 Conclusion

Nous avons ainsi défini explicitement un opérateur discret pour la prolifération cellulaire. Cet opérateur prend en compte les caractéristiques principales de la dynamique cambiale : la croissance, le maintien de la forme, la division et l'élimination. Cette approche permet, selon nos objectifs, d'individualiser chaque cellule cambiale comme une brique de base de la morphogenèse. Toutes les cellules sont régies par la même loi de comportement. L'application successive de cette loi à toutes les cellules cambiales génère les dynamiques cellulaires et la morphogenèse qui en résulte. D'une manière générale, les dynamiques cellulaires dépendent de deux grandes catégories de contrôle :

- le contrôle chimique, représenté dans le modèle par la donnée de la fonction de répartition de croissance f , déterminée par le contrôle hormonal.
- le contrôle mécanique, lié à la configuration des cellules des tissus du xylème $W(t)$ et du cambium $\Gamma(t)$. Ces configurations dépendent des paramètres τ_C , τ_E , τ_L et k .

3.2 Système de contrôle : modèle continu de la répartition de l'auxine

Nous décrivons, dans cette partie, comment se construit le modèle de contrôle de la croissance radiale fondé sur la concentration de l'hormone IAA, notée C par la suite. La modélisation concerne la dynamique de l'auxine déterminée par sa diffusion naturelle et son transport actif. Le modèle ne prétend pas expliquer le phénomène de transport dans toute sa complexité, puisque certains aspects, notamment moléculaires, ne sont pas entièrement élucidés. Cette partie s'appuie sur des informations provenant de modèles préexistants. Par contre, les modèles développés ici sont les seuls (à notre connaissance) permettant d'inclure l'effet de la gravité sur le transport de l'auxine. Les modèles précédents sont, au mieux, planaires, alors que l'effet de la gravité est tridimensionnel.

3.2.1 Hypothèses

Les modèles proposés s'appuient sur plusieurs hypothèses :

- L'IAA est supposée être la seule hormone qui contrôle la croissance cambiale.
- La vitesse du transport actif de l'IAA est constante.
- Les possibles réactions de l'IAA ne sont pas prises en compte. Les éventuels taux de réaction (production ou consommation) sont supposés négligeables devant la production apicale d'IAA.
- Comme le cambium est supposé réduit à une couche d'une seule cellule d'épaisseur dans le modèle de prolifération, l'hétérogénéité de la concentration d'auxine dans la direction radiale n'est pas considérée.

3.2.2 Equation de diffusion - transport

Les modèles pour le système de contrôle de la croissance radiale par l'indole-3-acétique sont fondés sur une première équation, bilan du transport local au niveau de chaque cellule cambiale.

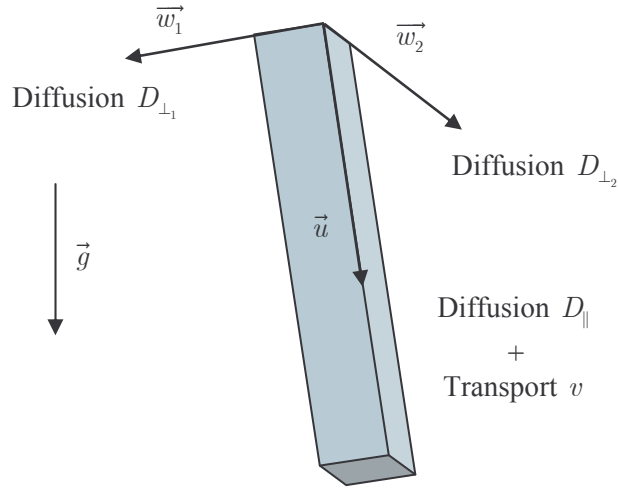


Figure 3.8. Bilan des flux d’IAA pour une cellule cambiale.

On se place dans un repère local, adapté à la géométrie des cellules cambiales. \vec{u} est le vecteur unitaire dirigé selon l’axe principal des cellules, pointant vers le bas ($\vec{u} \cdot \vec{z} \leq 0$, \vec{z} étant le vecteur unitaire vertical dirigé vers le haut). \vec{w}_1 et \vec{w}_2 complètent le repère pour former un repère orthonormé direct $(\vec{u}, \vec{w}_1, \vec{w}_2)$.

- Le transport actif de l’auxine s’effectue exclusivement selon le vecteur \vec{u} , le flux associé étant $\vec{j}_T = vC\vec{u}$, où v est la vitesse du transport d’auxine.
- Les flux diffusifs sont $\vec{j}_{Du} = -D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u})\vec{u}$, $\vec{j}_{Dw_1} = -D_{\perp_1}(\nabla C \cdot \vec{w}_1)\vec{w}_1$ et $\vec{j}_{Dw_2} = -D_{\perp_2}(\nabla C \cdot \vec{w}_2)\vec{w}_2$, selon la direction concernée.

D_{\parallel} est la constante de diffusion dans la direction \vec{u} , D_{\perp_1} et D_{\perp_2} sont les constantes de diffusion selon \vec{w}_1 et \vec{w}_2 . On note aussi \vec{J} le flux total d’IAA. En utilisant l’équation de conservation de la masse, on obtient une première équation pour le transport de l’IAA :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\nabla \cdot \vec{J} = -\nabla \cdot (\vec{j}_T + \vec{j}_{Du} + \vec{j}_{Dw_1} + \vec{j}_{Dw_2})$$

soit :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\nabla \cdot \left((vC - D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u}))\vec{u} - D_{\perp_1}(\nabla C \cdot \vec{w}_1)\vec{w}_1 - D_{\perp_2}(\nabla C \cdot \vec{w}_2)\vec{w}_2 \right) \quad (3.21)$$

avec $D_{\parallel} > \begin{cases} D_{\perp_1} \\ D_{\perp_2} \end{cases}$ pour tenir compte de l'anisotropie de la diffusion favorable à la direction \vec{u} .

On prendra, en général, $D_{\parallel} = 5D_{\perp_1}$ et $D_{\perp_1} = D_{\perp_2}$.

En accord avec les hypothèses de départ, l'équation (3.21) n'inclut pas de terme de consommation ou de production locales d'auxine, ceci puisque ces éventuels termes sont négligeables et puisque le métabolisme de l'auxine est en grande partie méconnu.

Les conditions aux bords pour cette équation sont :

- l'IAA est produite par la frontière la plus haute du domaine, notée $\partial\Omega_H$, par la fonction vectorielle $\vec{J}_0(x, y, z, t)$.
- Le flux normal d'auxine est nul sur les frontières latérales $\partial\Omega_L$ (afin de localiser le transport d'auxine dans le cambium).
- L'IAA sort librement par la frontière $\partial\Omega_B$ du bas.

En utilisant les notations de la Figure 3.9, ces conditions se traduisent par :

$$\begin{cases} \vec{J} = \vec{J}_0, & \text{sur } \partial\Omega_H \\ \vec{J} \cdot \vec{n} = 0, & \text{sur } \partial\Omega_L \\ \vec{J} \cdot \vec{n} = \left((vC - D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u}))\vec{u} - D_{\perp_1}(\nabla C \cdot \vec{w}_1)\vec{w}_1 - D_{\perp_2}(\nabla C \cdot \vec{w}_2)\vec{w}_2 \right) \cdot \vec{n}, & \text{sur } \partial\Omega_B \end{cases}$$

où \vec{n} est la normale unitaire au domaine Ω , pointant vers l'extérieur.

La première condition est une condition de Neumann, la deuxième est une condition de Neumann homogène et la troisième est une condition libre.

En pratique, $\partial\Omega_H$ est choisie horizontale et on utilise souvent $\vec{J}_0 = -j_0\vec{z}$, où j_0 est une constante positive.

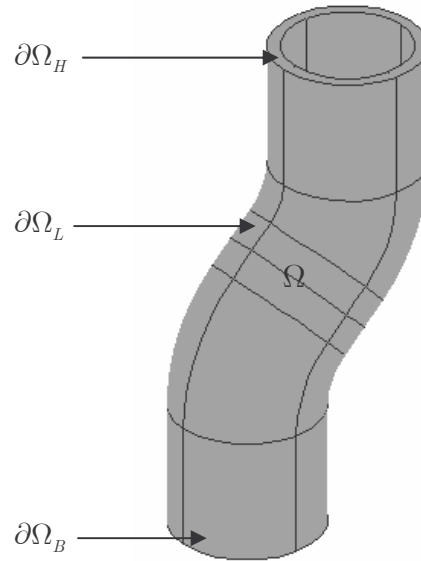


Figure 3.9. Exemple de domaine Ω .

L'équation (3.21) est une généralisation de celle écrite par Kramer en 2002 en deux dimensions, dans un plan local tangent considéré comme étant vertical (voir la section 2.3.2, pour plus de précisions) (Kramer, 2002). Nous avons d'ailleurs utilisé des notations analogues. Cette équation peut être résolue seulement si l'on connaît, pour chaque temps t , la configuration de l'orientation des cellules en tout point du cambium, c'est-à-dire le champ vectoriel $\vec{u}(x, y, z, t)$. Nous développons ci-dessous deux modèles qui utilisent deux approches différentes, pour rendre compte de la dynamique de l'orientation cambiale.

3.2.3 Equations d'orientation

3.2.3.1 Approche en 3D : équations de Navier – Stokes

Une première approche consiste à considérer que le flux de l'IAA dans le cambium suit les mêmes directions d'écoulement qu'un fluide théorique incompressible de densité ρ et de viscosité η . Nous utilisons ensuite l'hypothèse de Kramer, qui propose que les cellules cambiales s'orientent selon les flux d'hormone (Kramer, 2002). Si l'on note \vec{u} la vitesse du fluide et p la pression, les équations de Navier - Stokes pour un fluide newtonien,

incompressible, de viscosité constante, soumis à la force de gravité s'écrivent d'une manière générale :

$$\rho \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} - \eta \Delta \vec{u} + \rho (\vec{u} \cdot \nabla) \vec{u} + \nabla p = \rho \vec{g} \quad (3.22)$$

$$\nabla \cdot \vec{u} = 0 \quad (3.23)$$

L'équation (3.23) assure l'incompressibilité du fluide. L'écoulement considéré se produit dans les cellules cambiales avec une très faible vitesse, de l'ordre du centimètre par heure. Le nombre de Reynolds d'un écoulement est donné par $Re = \frac{\rho v L}{\eta}$, où L est une distance caractéristique de l'écoulement. Il s'agit ici du diamètre typique d'une cellule cambiale, c'est-à-dire environ $50 \mu\text{m}$. Ainsi, dans notre cas, $vL \sim (1 \text{ cm.hr}^{-1}) \cdot (50 \mu\text{m}) \sim 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Nous sommes donc dans le cas d'un nombre de Reynolds très faible : $Re \sim 10^{-4}$, si l'on prend les constantes de l'eau, et $Re \sim 10^{-6}$ si l'on prend de l'huile de tournesol (à 20°C). Ceci permet de négliger les termes inertiels devant les termes de viscosité dans l'équation (3.22). La force de gravité ne peut pas être négligée à cause des faibles vitesses, qui impliquent un très faible nombre de Froud $\left(\frac{v^2}{gL} \sim 10^{-7} \right)$.

Nous considérons donc une simplification de l'équation (3.22) :

$$\rho \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} - \eta \Delta \vec{u} + \nabla p = \rho \vec{g} \quad (3.24)$$

Les conditions aux frontières pour ce problème sont que l'auxine s'écoule selon une loi V donnée à la frontière du haut et s'échappe librement en bas du domaine. La vitesse d'écoulement est nulle sur les frontières latérales.

Nous avons donc :

$$\begin{cases} \vec{u} = V, & \text{sur } \partial\Omega_{\text{H}} \\ \vec{u} = 0, & \text{sur } \partial\Omega_{\text{L}} \\ p = 0, & \text{sur } \partial\Omega_{\text{B}} \end{cases}$$

En pratique, on utilise $V = -v\vec{z}$, c'est-à-dire un flux vertical constant d'auxine.

Toutes ces conditions sont de type Dirichlet, les deux dernières étant homogènes.

Cette approche permet donc de calculer le champ de vitesse \vec{u} en tout point du cambium. D'après l'hypothèse formulée plus haut, on accède à l'orientation des cellules en normalisant le champ de vitesse :

$$\vec{u} = \frac{\vec{u}}{\|\vec{u}\|} \quad (3.25)$$

3.2.3.2 Approche superficielle

Nous détaillons la deuxième approche utilisée pour calculer la concentration de l'auxine dans le cambium. Cette deuxième option utilise un domaine défini par une surface dans l'espace en trois dimensions. Comme l'épaisseur du cambium est très faible (de l'ordre du mm) devant ses autres dimensions (de l'ordre du mètre), le cambium peut être représenté par une telle surface. Kramer discute cette notion dans (Kramer, 2001) et définit ainsi la « surface cambiale ». Comme précisé dans les hypothèses, puisque le système de contrôle alimente un modèle où le cambium est constitué d'une seule cellule en épaisseur, l'hétérogénéité radiale de l'IAA n'intervient pas. Ceci permet d'utiliser un modèle superficiel, qui donne en résultat une valeur de concentration de l'auxine moyennée sur la dimension radiale. Kramer a écrit une telle équation de dynamique de l'orientation des cellules, en 2002, dans un plan local tangent au cambium. Les cellules initiales de cambium peuvent en effet se réorienter rapidement selon un stimulus. Harris observe par exemple, en 1973, que, dans le cas extrême de la formation d'un grain en spirale, certaines cellules initiales ont tourné de 40° en 9 semaines de croissance (Harris, 1973). Comme précisé dans l'état de l'art des modèles, Kramer définit l'orientation des cellules par l'angle associé ϕ : $\vec{u} = \cos(\phi)\vec{x} + \sin(\phi)\vec{y}$. ϕ est repéré à partir de \vec{x} et \vec{y} , deux vecteurs unitaires du plan. Le vecteur unitaire directement perpendiculaire à \vec{u} est noté \vec{w} . L'équation d'évolution de l'orientation s'écrit selon l'équation (2.7) :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\mu \nabla C \cdot \vec{w} + K \Delta \phi$$

Cette équation d'évolution met en jeu deux effets :

- le terme $-\mu \nabla C \cdot \vec{w}$ implique que les cellules cambiales tendent à s'orienter parallèlement au flux d'auxine. Cet effet du flux d'auxine sur l'orientation est soutenu par de nombreux travaux (Harris, 1969, 1973, 1981, 1989 ; Kirschner *et al.*, 1971). μ est une constante de proportionnalité pour cet effet.
- le terme $K \Delta \phi$ implique que les cellules voisines tendent à s'orienter parallèlement les unes aux autres. Cette orientation est la conséquence des forces de contact existant entre les cellules voisines. Cet effet est également affecté d'une constante de proportionnalité : K .

L'équation d'orientation, telle qu'elle est proposée, ne peut être directement utilisée pour modéliser l'influence de la gravité sur le transport d'auxine, cet effet étant sans importance dans un plan vertical.

Nous proposons ici un modèle plus général, qui rend compte de la réorientation dans une géométrie plus complexe (une surface en trois dimensions) et qui inclut un terme dépendant de l'action de pesanteur. Nous proposons que la gravité influence le transport de l'auxine en agissant sur l'orientation des cellules cambiales. L'orientation peut aussi se comprendre l'orientation en terme d'orientation de l'axe protéines d'entrée - protéines de sortie des cellules, qui est principalement dirigée selon le grand axe des cellules. Friml *et al.* ont montré que les protéines de sortie peuvent se repositionner latéralement selon les stimuli (Friml *et al.*, 2002), la gravité influant ainsi sur la direction de l'axe protéique. L'équation généralisée de réorientation s'écrit :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = K \Delta \phi - \mu \nabla C \cdot \vec{w} + h(\phi, \vec{g}) \quad (3.26)$$

Le nouveau terme peut s'écrire généralement comme une fonction h dépendant de l'orientation et de la gravité. Ce nouveau terme doit stipuler que les cellules cambiales tendent à s'orienter non seulement selon le flux d'auxine et selon l'orientation du voisinage, mais aussi selon la direction donnée par la gravité.

L'expression la plus simple pour h est :

$$h(\phi, \vec{g}) = \beta \left(\vec{w} \cdot \frac{\vec{g}}{\|\vec{g}\|} \right) \quad (3.27)$$

où β est une constante de proportionnalité positive pour l'effet de gravité.

Nous considérons cette équation dans un domaine représentant la surface cambiale. On notera $\bar{\Omega}$ cette surface pour la distinguer du domaine tridimensionnel Ω . $\bar{\Omega}$ est définie comme une surface régulière paramétrée par une fonction $r(s, \theta)$ telle que $\frac{\partial r}{\partial s} \cdot \frac{\partial r}{\partial \theta} = 0$ et $r(s, \cdot)$ soit périodique. On définit deux vecteurs tangents à la surface : $\vec{t}_1 = \frac{\partial r}{\partial \theta} \left\| \frac{\partial r}{\partial \theta} \right\|^{-1}$ et $\vec{t}_2 = \frac{\partial r}{\partial s} \left\| \frac{\partial r}{\partial s} \right\|^{-1}$ et le vecteur normal : $\vec{n} = \vec{t}_1 \wedge \vec{t}_2$. $(\vec{t}_1, \vec{t}_2, \vec{n})$ définit une base orthonormée locale. La surface cambiale sera par exemple paramétrée par une fonction $\vec{r} : [0, L] \times [0, 2\pi] \rightarrow \mathbb{R}^3$ de la forme :

$$\vec{r}(s, \theta) = \vec{m}(s) + R \cos(\theta + \theta(s)) \vec{n}_m(s) + R \sin(\theta + \theta(s)) \vec{b}_m(s) \quad (3.28)$$

où R est le rayon de l'arbre, supposé constant, $\vec{m} : [0, L] \rightarrow \mathbb{R}^3$ décrit la zone médullaire de l'arbre, paramétrée par la longueur d'arc s . \vec{n}_m et \vec{b}_m sont les vecteurs normal et binormal associés à \vec{m} , $\theta'(s) = -\xi(s)$, $\xi(s)$ étant la torsion de \vec{m} . Selon ce paramétrage, \vec{t}_2 est choisi parallèle à la zone médullaire et les sections transversales à la zone médullaire sont des cercles. \vec{m} et R sont choisis tels que \vec{r} définisse une surface régulière, en utilisant la condition $R\kappa(s) < 1$, où $\kappa(s)$ est la courbure (Do Carmo, 1976). Ce paramétrage permet de décrire des surfaces cambiales déformées, à rayon constant.

Le vecteur \vec{u} est maintenant défini par $\vec{u} = \cos(\phi) \vec{t}_1 + \sin(\phi) \vec{t}_2$ dans le repère local. La direction transversale \vec{w} est telle que $(\vec{u}, \vec{w}, \vec{n})$ soit une base orthonormée locale, adaptée à l'orientation des cellules, \vec{n} étant la normale extérieure à la surface cambiale.

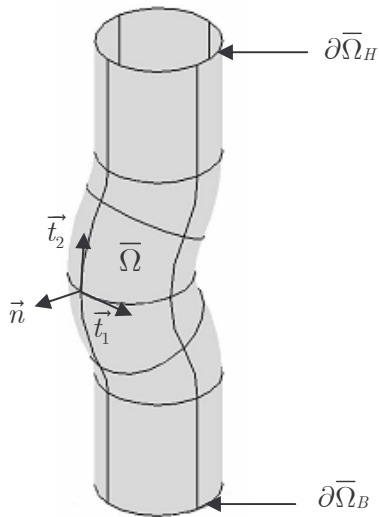


Figure 3.10. Exemple de géométrie pour la surface cambiale.

Les conditions aux frontières pour ce problème sont :

- sur $\partial\Omega_H$: l'orientation est fixée par la valeur $\phi_{\partial\Omega_H} = \varphi$ (condition de Dirichlet). Nous utilisons en général $\phi_{\partial\Omega_H} = -\frac{\pi}{2}$ pour fixer une orientation verticale descendante en haut du domaine.
- sur $\partial\Omega_B$: l'orientation est laissée libre.

3.2.4 Problèmes différentiels finaux

Finalement, on aboutit à deux formulations différentielles pour le système de contrôle.

Premier problème différentiel (P1)

Trouver C et \vec{u} dans $\mathbb{R}^+ \times S_3$ (où S_3 est la sphère de rayon unité en dimension 3), tels que :

Equations dans Ω :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial C}{\partial t} = -\nabla \cdot \left((vC - D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u}))\vec{u} - D_{\perp}(\nabla C \cdot \vec{w}_1)\vec{w}_1 - D_{\perp}(\nabla C \cdot \vec{w}_2)\vec{w}_2 \right) \\ \rho \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} - \eta \Delta \vec{u} + \nabla p = \rho \vec{g} \\ \nabla \cdot \vec{u} = 0 \\ \vec{u} = \frac{\vec{u}}{\|\vec{u}\|} \end{array} \right.$$

Conditions aux limites :

$$\begin{array}{l} \partial\Omega_H \left\{ \begin{array}{l} \vec{J} = \vec{J}_0 \\ \vec{u} = V \end{array} \right. \quad \partial\Omega_L \left\{ \begin{array}{l} \vec{J} \cdot \vec{n} = 0 \\ \vec{u} = 0 \end{array} \right. \\ \partial\Omega_B \left\{ \begin{array}{l} \vec{J} \cdot \vec{n} = \left((vC - D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u}))\vec{u} - D_{\perp_1}(\nabla C \cdot \vec{w}_1)\vec{w}_1 - D_{\perp_2}(\nabla C \cdot \vec{w}_2)\vec{w}_2 \right) \cdot \vec{n} \\ p = 0 \end{array} \right. \end{array}$$

Conditions initiales :

$$\forall (x, y, z) \in \Omega, \left\{ \begin{array}{l} C(x, y, z, 0) = C_0(x, y, z) \\ \vec{u}(x, y, z, 0) = \vec{u}_0(x, y, z) \end{array} \right.$$

L'orientation est donnée par l'équation de Navier-Stokes simplifiée et l'équation de diffusion-transport est écrite dans un domaine en trois dimensions.

Deuxième problème différentiel (P2)

Trouver C et ϕ dans $\mathbb{R}^+ \times [-\pi, \pi]$ tels que :

Equation dans $\bar{\Omega}$:

$$\begin{cases} \frac{\partial C}{\partial t} = -\nabla \cdot \left((vC - D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u}))\vec{u} - D_{\perp}(\nabla C \cdot \vec{w})\vec{w} \right) \\ \frac{\partial \phi}{\partial t} = K\Delta\phi - \mu\nabla C \cdot \vec{w} + h(\phi, \vec{g}) \end{cases}$$

Conditions aux limites :

$$\text{sur } \partial\Omega_H \begin{cases} \vec{J} = \vec{J}_0 \\ \phi = \varphi \end{cases}$$

$$\text{sur } \partial\Omega_B \vec{J} \cdot \vec{n} = \left((vC - D_{\parallel}(\nabla C \cdot \vec{u}))\vec{u} - D_{\perp}(\nabla C \cdot \vec{w})\vec{w} \right) \cdot \vec{n}$$

Conditions initiales,

$$\forall X \in \bar{\Omega}, \begin{cases} C(X, 0) = C_0(X) \\ \phi(X, 0) = \phi_0(X) \end{cases}$$

L'équation d'orientation est donnée par une dynamique qui inclut la gravité. L'équation de diffusion-transport est la version superficielle de (3.21). Les opérateurs des équations sont ainsi superficiels et les variables sont des moyennes sur l'épaisseur du cambium.

Pour implémenter les équations superficielles, il est nécessaire de définir le problème par sa formulation faible. On passe de (P2) à sa formulation faible (FV2) en multipliant les équations de (P2) par des fonctions tests ψ_1 et ψ_2 , et en intégrant sur $\bar{\Omega}$.

La première équation devient :

$$\int_{\bar{\Omega}} \left(\frac{\partial C}{\partial t} + \nabla \cdot \vec{J} \right) \psi_1 = 0, \text{ soit } \int_{\bar{\Omega}} \frac{\partial C}{\partial t} \psi_1 - \int_{\bar{\Omega}} \vec{J} \cdot \nabla \psi_1 + \int_{\bar{\Omega}_H} \vec{J} \cdot \vec{n} \psi_1 ds + \int_{\bar{\Omega}_B} \vec{J} \cdot \vec{n} \psi_1 ds = 0$$

soit finalement (en incluant les conditions aux limites) :

$$\int_{\bar{\Omega}} \frac{\partial C}{\partial t} \psi_1 - \int_{\bar{\Omega}} \vec{J} \cdot \nabla \psi_1 + \int_{\partial\bar{\Omega}_H} \vec{J}_0 \cdot \vec{n}_{|\partial\bar{\Omega}_H} \psi_1 ds + \int_{\partial\bar{\Omega}_B} \vec{J} \cdot \vec{n}_{|\partial\bar{\Omega}_B} \psi_1 ds = 0$$

Pour la deuxième équation, on obtient :

$$\int_{\bar{\Omega}} \left(\frac{\partial \phi}{\partial t} - K \Delta \phi + \mu \nabla C \cdot \vec{w} - h \right) \psi_2 = 0, \text{ soit}$$

$$\int_{\bar{\Omega}} \frac{\partial \phi}{\partial t} \psi_2 + K \int_{\bar{\Omega}} \nabla \phi \cdot \nabla \psi_2 - K \int_{\partial \bar{\Omega}_H} \nabla \phi \cdot \vec{n}_{|\partial \bar{\Omega}_H} \psi_2 ds - K \int_{\partial \bar{\Omega}_B} \nabla \phi \cdot \vec{n}_{|\partial \bar{\Omega}_B} \psi_2 ds + \int_{\bar{\Omega}} (\mu \nabla C \cdot \vec{w} - h) \psi_2 = 0$$

Les deux modèles élaborés pour déterminer l'orientation des cellules cambiales sont conceptuellement différents. Celui fondé sur les équations de Navier - Stokes permet de définir une orientation dans un domaine cartésien en trois dimensions. Une extension de ce modèle devrait ainsi pouvoir considérer l'hétérogénéité de la distribution radiale d'auxine. L'autre modèle est nettement plus satisfaisant biologiquement, puisqu'il prend en compte la dynamique d'orientation des cellules cambiales. Il permet de déduire la concentration de l'auxine par la dynamique conjointe de l'équation de diffusion-transport et de l'équation d'orientation. Dans le problème (P1), l'équation d'orientation ne dépend pas de la concentration en auxine.

Du point de vue des simulations, puisque l'on cherche à se rapprocher de géométries réelles, le domaine Ω est, comme le cambium, « mal proportionné » au sens informatique. En effet, il s'agit de géométries très fines en épaisseur. Ainsi, pour une simulation par éléments finis, cette géométrie implique un maillage extrêmement fin. Ceci peut s'améliorer quelque peu en utilisant un maillage anisotrope, mais le problème demeure. Cette finesse du maillage entraîne des temps de calcul assez élevés, surtout pour déterminer la solution de l'équation de Navier-Stokes. Ce problème rend même les calculs impossibles, par dépassement de la capacité de mémoire de l'ordinateur, si l'on veut implémenter un cambium sur une longueur supérieure à 10 cm.

3.2.5 Fonction de répartition

La modélisation du transport de l'auxine nous permet d'accéder à la concentration C de l'auxine dans le cambium en tant que solution de (P1) ou de (P2). Cette concentration d'hormone contrôle l'opérateur discret de prolifération, en déterminant les taux de croissance de chaque cellule par la fonction f_t . Dans la section précédente, nous avons défini le taux de croissance en aire G_i de chaque cellule par l'équation (3.9) :

$$\forall i \in [1, \dots, N(t)], G_i(t) = \frac{\left(\int_{[C_i(t), D_i(t)]} f_t(s) ds \right)}{P(t)} \Delta A(t)$$

La fonction f (maintenant notée sans sa dépendance en temps) est la fonction de répartition de la croissance le long du périmètre extérieur du cambium. Selon l'hypothèse faite par Kramer, le taux de production de xylème est proportionnel à la concentration en IAA (Kramer, 2001). Nous adaptons cette loi au niveau cellulaire, en prenant pour f la distribution donnée par C .

Si l'on utilise (P1), on calcule $\bar{C} = \int_r C dr$, l'intégrale de la concentration dans la direction radiale. Nous définissons ensuite f par $f = \frac{\bar{C}}{C_H}$, où \bar{C}_H est la concentration calculée en haut du domaine. Dans nos applications, le flux d'entrée est homogène à travers une frontière horizontale et \bar{C}_H est ainsi une fonction constante qui normalise les concentrations intégrées. Si l'on utilise (P2), nous obtenons directement : $f = \frac{vC}{\|\vec{J}_0\|}$ car

$\frac{\|\vec{J}_0\|}{v}$ est la concentration en haut du domaine (dans les mêmes conditions de flux d'entrée homogène).

3.3 Simulation de la répartition de la croissance radiale

Nous proposons aussi un premier modèle pour simuler la croissance radiale en trois dimensions. Il s'agit d'un modèle purement physiologique, puisque la loi de croissance que nous utilisons met en jeu uniquement l'auxine. Selon des études déjà citées, l'auxine semble être le principal facteur de la croissance différentielle, via sa dépendance vis-à-vis de la gravité. Les modèles présentés dans les sections précédentes permettent de calculer la concentration de l'auxine dans le cambium de l'arbre. Connaissant ces valeurs, nous pouvons proposer des lois de croissance pour simuler, non pas de combien l'arbre croît, mais comment il croît. En effet, selon nos hypothèses de travail, le taux de croissance cellulaire est positivement corrélé à la concentration d'auxine. Ainsi, nous pouvons calculer un profil tridimensionnel de taux de croissance à partir de la concentration en IAA.

Nous écrivons la loi de croissance tridimensionnelle sous la forme générale :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{G}(C) \quad (3.29)$$

où M décrit tous les points du cambium. $\vec{G} : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^3$ est la loi de croissance, dépendant de l'auxine.

La tendance naturelle pour la croissance est de s'effectuer principalement selon la direction normale à la surface. Au point M , cette normale est donnée par $\vec{n}(M)$. L'intensité de la croissance peut être prise sous la forme $\|\vec{G}(C)\| = \alpha_1 + \alpha_2 C$. Dans ce cas, nous considérons que la croissance possède une composante résiduelle α_1 indépendante de l'auxine et un terme dépendant de l'auxine, pris comme une simple loi de proportionnalité selon α_2 , comme suggéré par Kramer (Kramer, 2001). La loi peut alors prendre la forme :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = (\alpha_1 + \alpha_2 C) \vec{n}(M) \quad (3.30)$$

Nous utilisons en pratique la discrétisation de cette équation :

$$M(t + dt) = M(t) + dt(\alpha_1 + \alpha_2 C) \overline{n(M)} \quad (3.31)$$

La simulation de la croissance radiale présente de nombreuses difficultés, qu'elles soient mathématiques ou informatiques. Nous pouvons simplifier quelque peu le problème en considérant la croissance d'une surface. Soit on a déjà une surface, comme dans le cas de (P2), soit on choisit une surface représentant le volume Ω de (P1) (la surface interne, externe ou la surface passant par les points milieux). Nous pouvons alors définir le vecteur normal à cette surface.

Du point de vue mathématique, le problème est de savoir si les points $M(t + 1)$, calculés à partir de la configuration connue $M(t)$ par la discrétisation (3.31), définissent une nouvelle surface régulière. En effet, si, par exemple, la surface initiale présente des zones fortement courbées, notre loi de croissance peut provoquer un croisement à l'intérieur du nouvel ensemble de points. Dans le cas des géométries simples définies par l'équation (3.28), les premières itérations de (3.31) vont produire une nouvelle surface régulière si les taux de croissance, le pas de temps de la discrétisation et la courbure, sont choisis raisonnablement.

La simulation de la croissance radiale pose aussi de nombreux problèmes informatiques. En effet, la surface est décrite au temps t sous sa forme discrétisée, par un maillage. On peut faire correspondre, à chaque point de ce maillage, un point résultat de l'application de la loi (3.31). On obtient ainsi un nouvel ensemble de points qui définit une approximation de la nouvelle surface. Le problème est que cette nouvelle surface est décrite par un ensemble de points qui ne vont *a priori* pas correspondre à un maillage régulier. Ainsi, après plusieurs itérations, les raccords entre les éléments des nouveaux maillages perdent énormément en régularité. On obtient même des « coins » qui correspondent à des maillages C^0 , où seule la continuité entre les éléments est assurée. Ceci provoque des erreurs très importantes au niveau de la solution numérique. Ce problème nécessite l'utilisation d'algorithmes spécialisés permettant de réajuster, à chaque itération, les éléments du nouveau maillage, pour obtenir un maillage régulier.

Nous proposons ici une simplification du problème (P1), qui permet d'obtenir des simulations de la loi de croissance proposée. Nous utilisons une géométrie simplifiée, par discrétisation, pour représenter les géométries continues définies par (3.28). La zone médullaire est définie par une ligne polygonale et les points de la surface sont des sommets de

polygones réguliers finis, construits dans un plan normal à la zone médullaire, qui approximent un cercle. Cette description entièrement discret permet, plus généralement, de définir le modèle sur n'importe quelle géométrie, en discrétisant la surface d'intérêt. Il permet ainsi de représenter une géométrie expérimentale et ses itérées de croissance.

Le modèle simplifié est simulé par une marche aléatoire non homogène sur l'ensemble des sommets défini précédemment. Cette marche aléatoire fournit une approximation de l'équation de diffusion-transport. Chaque point du maillage a 4 voisins : 2 dans la direction transversale et 2 autres dans la direction longitudinale. Les molécules d'auxine vont s'écouler depuis le haut du maillage (où elles sont produites) vers le bas, en empruntant un chemin parmi les sommets du maillage. Nous fixons des probabilités de transition de passage d'un point à ses voisins. Ces probabilités dépendent de deux facteurs : la direction du mouvement (transversale ou longitudinale) et la projection de la gravité sur ces directions. Ainsi, dans ce modèle, l'orientation des cellules n'est pas considérée et l'effet gravitationnel est directement intégré dans le transport des molécules.

Notons $p(k, l | i, j)$ la probabilité de transition entre deux voisins, de $M_{i,j}$ vers $M_{k,l}$ (Figure 3.11). Nous définissons :

$$\begin{aligned} p(i, j + 1 | i, j) &= a_0 (1 + F_{ij}) & p(i, j - 1 | i, j) &= a_0 (1 - F_{ij}) \\ p(i - 1, j | i, j) &= b_0 (1 - H_{ij}) & p(i + 1, j | i, j) &= b_0 (1 + H_{ij}) \end{aligned} \quad (3.32)$$

avec $b_0 > a_0$, $2a_0 + 2b_0 = 1$.

F_{ij} dépend de la projection de la gravité dans la direction transversale.

H_{ij} dépend de deux facteurs :

- un terme intervient pour la projection de la gravité dans la direction longitudinale.
- un autre privilégie le transport selon la direction longitudinale pointant vers le bas.

Dans l'expression des probabilités, les termes constants a_0 et b_0 permettent d'implémenter la partie diffusive du mouvement. On choisit $b_0 > a_0$ pour définir une diffusion anisotrope, en favorisant la diffusion selon la direction longitudinale. Bien que simplifié, ce modèle inclut la possibilité de redirection du flux d'auxine par le terme de drift de gravité.

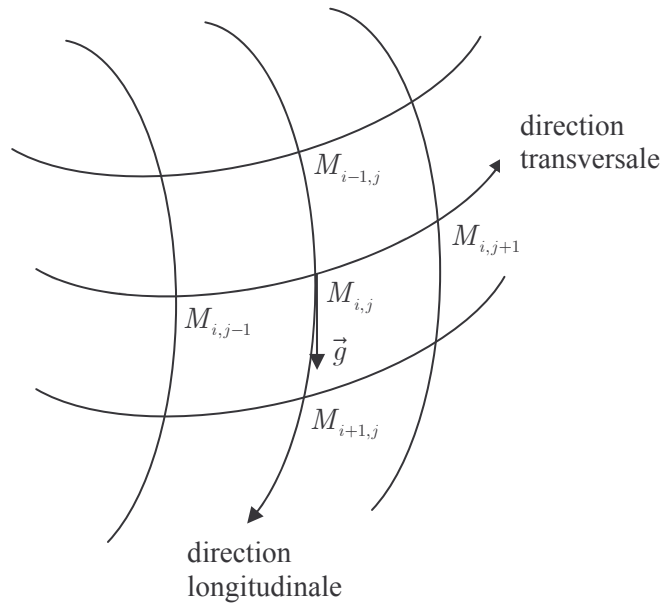


Figure 3.11. Description locale des éléments du modèle discret.

3.4 Synthèse

Chronologiquement, le premier modèle élaboré fut celui de la prolifération discrète, dans une version simplifiée. Dans ce modèle, la distribution des taux de croissance des cellules était également donnée par la répartition de la concentration d'auxine dans une coupe transversale. Nous avons tout d'abord utilisé une fonction de répartition capable de refléter une hétérogénéité selon l'inclinaison de l'arbre. Cette fonction était choisie pour respecter les hypothèses biologiques de concentration différentielle de l'auxine, mais ne résultait pas d'une modélisation mathématique (Forest *et al.*, 2004). Ce modèle, dans une version améliorée, fut ensuite connecté à un autre modèle, permettant de calculer la répartition de l'auxine au sein du cambium en trois dimensions. Ce modèle de répartition, résultant de la formulation appelée ici (P1), a permis de justifier l'allure des fonctions de répartition choisies précédemment (Forest et Demongeot, accepté). La Figure 3.12 présente une synthèse des caractéristiques des modèles ainsi que leur agencement relatif. La flèche la plus haute de la Figure 3.12 montre que le modèle de répartition « alimente » le modèle discret. La connexion entre ces deux modèles est plus précisément décrite par la Figure 3.7 et le paragraphe 3.2.5.

Finalement, un dernier modèle s'intéresse à une formulation plus réaliste du transport de l'auxine, selon la mise en équation de (P2). Il s'agit d'une formulation superficielle, permettant aussi de proposer et de simuler des lois tridimensionnelles de répartition de croissance fondées sur la concentration d'auxine. Les deux flèches de la Figure 3.12 reliant ces deux modèles montrent qu'ils sont en interaction : la concentration d'auxine permet de définir la nouvelle géométrie par croissance. On doit ensuite recalculer les concentrations sur la nouvelle géométrie, pour obtenir le prochain profil de croissance. Le modèle de transport superficiel et la simulation de la croissance tridimensionnelle font l'objet d'une autre publication (Forest *et al.*, accepté).

Chacun de ces trois modèles a une valeur explicative et prédictive qualitative, comme nous le verrons dans la partie 4 qui suit. Ils ont donc tous un intérêt en soi, pour la croissance cellulaire, le transport d'auxine ou la croissance tridimensionnelle de l'arbre. Un des buts de notre travail est de proposer des liaisons entre ces modèles. Certaines sont déjà réalisées, d'autres sont à inscrire dans le domaine des perspectives (voir la partie concernée, 5.2). L'idéal serait d'avoir une connexion totale entre ces trois modèles. Nous pouvons citer la connexion à établir entre le modèle cellulaire discret et le modèle continu de croissance tridimensionnelle. En effet, sous sa forme actuelle, le modèle de croissance tridimensionnelle

n'intègre que les résultats de concentration d'auxine, alors qu'il devrait aussi prendre en compte, sous forme moyennée, les comportements cellulaires (réaction mécanique, taux de division et d'élimination...) étudiés dans le modèle discret.

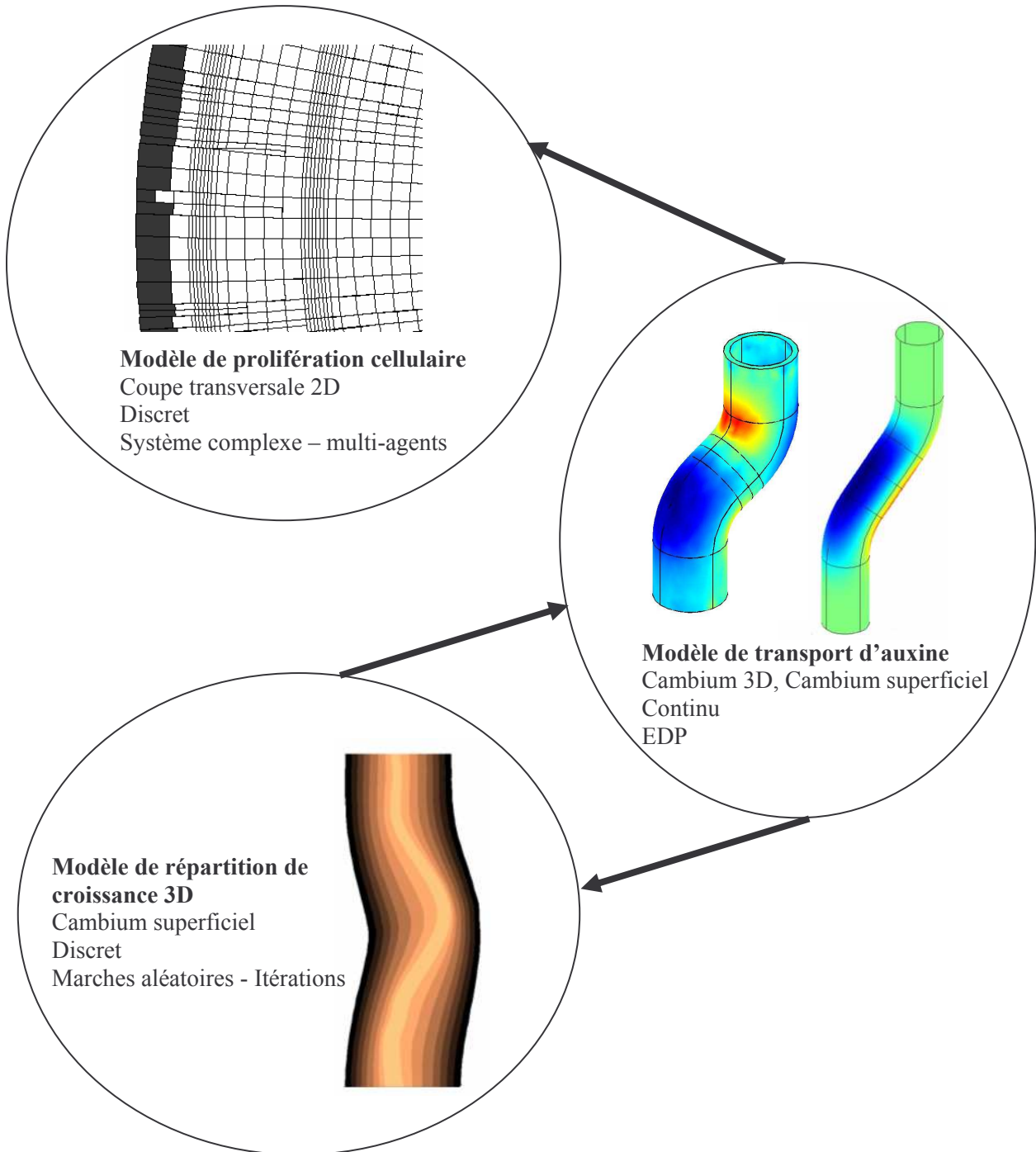


Figure 3.12. Résumé des caractéristiques des modèles et des relations inter-modèles.

4 RESULTATS ET VALIDATION

« Auprès de mon arbre, je vivais heureux. »

George Brassens.

Tables de matières

4.1	Résultats.....	132
4.1.1	Implémentation	132
4.1.2	Croissance normale	135
4.1.2.1	Résultats de distribution de l'auxine.....	135
4.1.2.2	Résultats de prolifération cellulaire	136
4.1.3	Attaque parasitaire.....	139
4.1.3.1	Résultats de distribution de l'auxine.....	139
4.1.3.1.1	Modèle en trois dimensions	139
4.1.3.1.2	Modèle superficiel	142
4.1.3.2	Résultats de prolifération cellulaire	150
4.1.4	Elagage d'une branche	156
4.1.5	Comparaison des deux modèles continus de transport.....	158
4.1.6	Résultat de la simulation de la croissance radiale en trois dimensions	160
4.1.6.1	Résultat du modèle simplifié	160
4.1.6.2	Croissance radiale en trois dimensions	161
4.1.7	Autres résultats.....	162
4.1.7.1	Trajectoire d'écoulement de l'auxine pour ($P1$)	162
4.1.7.2	Orientations des cellules pour ($P2$)	164
4.1.7.3	Résultats de ($P2$) en mode non stationnaire.....	165
4.1.7.4	Analyse des paramètres pour ($P2$)	166

4.2	Validation.....	169
4.2.1	Validation des distributions d'auxine.....	169
4.2.2	Validation du modèle de prolifération.....	170
4.2.2.1	Validation macroscopique.....	170
4.2.2.2	Validation microscopique des configurations cellulaires obtenues.....	172
4.2.3	Validation de la croissance radiale en trois dimensions.....	177

Tables des illustrations

Figure 4.1.	Géométries utilisées dans le cas de la croissance normale.....	136
Figure 4.2.	Simulation de croissance normale.....	138
Figure 4.3.	Géométrie pour ($P1$) dans le cas d'un arbre déformé.....	139
Figure 4.4.	Solution de ($P1$) pour un arbre déformé.....	140
Figure 4.5.	Le problème ($P1$) posé pour une concavité.....	141
Figure 4.6.	Répartition globale de l'auxine pour la géométrie de la Figure 4.5a.....	142
Figure 4.7.	Distribution normalisée d'auxine.....	143
Figure 4.8.	Répartition de la concentration d'auxine sur différentes coupes de la géométrie.....	144
Figure 4.9.	Evolution de la répartition cambiale de l'auxine, selon la variation du coefficient β	145
Figure 4.10.	Distribution d'auxine pour un arbre très déformé qui présente une portion horizontale.....	146
Figure 4.11	Distribution d'auxine pour un arbre très déformé qui présente une pente ascendante.....	147
Figure 4.12.	Résultat de distribution d'auxine dans une concavité.....	148
Figure 4.13.	Répartition d'auxine normalisée, dans un plan muni d'une concavité.....	149
Figure 4.14.	Situation initiale.....	150
Figure 4.15.	Simulation de croissance, suite à une attaque parasitaire.....	151
Figure 4.16.	Autre simulation à partir de la même situation initiale que celle de la Figure 4.14.....	152
Figure 4.17.	Représentation à intervalles de temps réguliers des récupérations.....	154
Figure 4.18.	Représentation de la récupération de la zone concave.....	155
Figure 4.19.	Simulations de récupération après l'élagage d'une branche.....	157
Figure 4.20.	Comparaison entre le modèle continu superficiel et le modèle discret probabiliste.....	160
Figure 4.21.	Itérations de plusieurs étapes de croissance.....	161
Figure 4.22.	Lignes de vitesse de l'auxine calculées pour différentes géométries.....	163
Figure 4.23.	Distribution de l'orientation angulaire des cellules cambiales.....	164
Figure 4.24.	Evolution temporelle de la concentration normalisée d'auxine.....	165

Figure 4.25. Concentration normalisée d’auxine selon la variation du coefficient de gravité	166
Figure 4.26. Concentration normalisée d’auxine selon la variation du coefficient μ	167
Figure 4.27. Concentration normalisée d’auxine sur S	167
Figure 4.28. Influence de paramètres géométriques sur la solution.	168
Figure 4.29. Distribution d’IAA dans la région cambiale de troncs de <i>Cryptomeria japonica</i>	169
Figure 4.30. Deux développements réels de concavité.	171
Figure 4.31. Observation microscopique d’une section de xylème d’arbre en croissance “normale”.	173
Figure 4.32. Exemple de configuration normale du xylème en files radiales.	174
Figure 4.33. Evénement d’élimination cellulaire.	175
Figure 4.34. Observations microscopiques d’une zone concave.....	176
Figure 4.35. Croissance en trois dimensions.	178

4.1 Résultats

Nous présentons, dans cette partie, différents résultats obtenus avec les modèles de prolifération cellulaire et de distribution d'hormone, cela pour différents cas d'application : la croissance normale, la croissance parasitaire et la croissance consécutive à l'élagage d'une branche. Nous montrons aussi des résultats obtenus pour la croissance tridimensionnelle. Nous commençons d'abord par préciser comment les modèles ont été implémentés.

4.1.1 Implémentation

Les modèles présentés dans les parties précédentes sont tous implémentés sous l'environnement Matlab[®]-Femlab[®]. L'opérateur de prolifération cellulaire est implémenté avec Matlab[®] 6.5, tout comme le modèle probabiliste et le modèle de croissance en trois dimensions. Le premier modèle pour le système de contrôle fut simulé avec Femlab[®] 2.3 et le deuxième avec Femlab[®] 3.0. Le deuxième modèle nécessite la version 3.0 de Femlab[®], puisqu'elle permet de définir un système d'équations aux dérivées partielles sur une surface en trois dimensions.

Les simulations des modèles continus sont réalisées par la méthode des éléments finis. Dans le cas du premier modèle continu, on utilise un maillage en trois dimensions. Pour le second, il s'agit du maillage d'une surface. La résolution de (P1) nécessite deux étapes : une première pour calculer le champ de vitesse, en résolvant les équations de Navier Stockes avec un solveur non-linéaire. On obtient la concentration d'auxine en calculant la solution de l'équation tridimensionnelle de diffusion-transport avec un solveur linéaire, en prenant comme valeur d'orientation le champ de vitesse normalisé. La résolution de (P2) s'effectue en une étape, par une résolution conjointe des deux équations à l'aide d'un solveur non-linéaire.

Les simulations du modèle discret de prolifération consistent en l'itération successive de la fonction de transition à partir d'une situation initiale donnée. Dans les illustrations du modèle discret, les quadrilatères vides représentent les cellules du xylème et ceux qui sont pleins, les cellules du cambium. Les simulations du modèle probabiliste et du modèle de croissance sont aussi le résultat de l'itération de leurs lois constitutives.

Sauf si l'on spécifie le contraire, on utilise les paramètres, fonctions et géométries listés ci-après.

Paramètres utilisés

- pour les modèles continus :

$$D_{\parallel} = 0,05 \text{ cm}^2.\text{hr}^{-1}, \quad D_{\perp} = 0,01 \text{ cm}^2.\text{hr}^{-1}, \quad \rho = 1000 \text{ kg.m}^{-3}, \quad g = 9,81 \text{ m.s}^{-2},$$

$$v = 1 \text{ cm.hr}^{-1}, \quad \eta = 10^{-3} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}, \quad j_0 = 50 \text{ ng.cm}^{-1}.\text{hr}^{-1}.$$

$$K = 100, \quad \mu = 2 \text{ et } \beta = 5 \text{ (en unités du système international).}$$

- pour le modèle discret :

$$\alpha_0 = 1,44^\circ, \quad l = 65 \text{ }\mu\text{m}, \quad L = 50 \text{ }\mu\text{m}, \quad \tau_C = \frac{1}{2l}, \quad \tau_E = 20 \text{ }\mu\text{m}, \quad \tau_L = 100 \text{ }\mu\text{m},$$

$$dt = 0,06 \text{ jour}, \quad k = 0,01/dt, \quad \forall t \in \mathbb{N}, \quad \Delta A(t) = \Delta A \simeq 3,5 \text{ cm}^2/\text{an} \simeq 0,57 \text{ mm}^2/dt.$$

Les valeurs de D_{\parallel} , D_{\perp} et v proviennent de (Kramer, 2002), celle de la densité ρ et de la viscosité η sont celles de l'eau à 20°C.

Définition des fonctions des modèles

$$\varphi = -\frac{\pi}{2}, \quad h(\phi, \vec{g}) = \beta \left(\vec{w} \cdot \frac{\vec{g}}{\|\vec{g}\|} \right), \quad V = -v\vec{z}, \quad \vec{J}_0 = -j_0\vec{z}.$$

La fonction de répartition $f(t)$ sera toujours considérée constante au cours des itérations du système de prolifération.

Géométries

Pour les modèles continus :

- Les géométries sont construites sous Femlab[®] à partir de portions de tores ou de cylindres.
- $(\overrightarrow{n_{\partial\Omega_H}} = \vec{z}, \overrightarrow{n_{\partial\Omega_B}} = -\vec{z}), (\overrightarrow{n_{\partial\overline{\Omega}_H}} = \vec{z}, \overrightarrow{n_{\partial\overline{\Omega}_B}} = -\vec{z})$, c'est-à-dire que l'on considère que les frontières haute et basse sont horizontales.
- La surface cambiale $\overline{\Omega}$ est paramétrée par une fonction \vec{r} définie par l'équation (3.28).

- Les domaines cartésiens Ω en trois dimensions pour (P1) sont définis généralement à partir d'une surface $\bar{\Omega}$. On épaissit cette surface selon son vecteur normal pour créer un volume.

Pour le modèle de prolifération :

- Les situations initiales pour le cambium sont construites à partir de deux cercles concentriques, le plus petit cercle ayant un rayon de 2000 μm . Les cellules sont initialement toutes prises de mêmes dimensions.
- Le xylème est initialement vide.

Formes stationnaires

On considèrera généralement les solutions des problèmes différentiels (P1) et (P2) sur Ω et $\bar{\Omega}$ dans leur forme stationnaire, c'est-à-dire que l'on cherchera à déterminer le régime permanent du transport de l'auxine.

$$\text{On considère donc (P1) avec } \begin{cases} \frac{\partial C}{\partial t} = 0 \\ \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} = 0 \end{cases} \text{ et (P2) avec } \begin{cases} \frac{\partial C}{\partial t} = 0 \\ \frac{\partial \phi}{\partial t} = 0 \end{cases} .$$

Formulation faible résultante pour (P2)

Ceci fixe les formulations faibles (FV2) comme suit :

$$\int_{\Omega} \vec{J} \cdot \nabla \psi_1 + \int_{\partial\Omega_H} j_0 \psi_1 ds + \int_{\partial\Omega_B} \vec{J} \cdot \vec{z} \psi_1 ds = 0$$

$$K \int_{\Omega} \nabla \phi \cdot \nabla \psi_2 + K \int_{\partial\Omega_B} \frac{\partial \phi}{\partial z} \psi_2 ds + \int_{\Omega} (\mu \nabla C \cdot \vec{w} - h) \psi_2 = 0$$

4.1.2 Croissance normale

Nous considérons un arbre théorique parfaitement cylindrique, de rayon R et de hauteur H . Ω est ainsi un cylindre creux d'épaisseur ε . $\bar{\Omega}$ est la surface associée, c'est-à-dire une nappe cylindrique décrite par $\vec{m}(s) = s\vec{z}$, dans l'équation (3.28). Le cambium, représenté dans une section transversale, est composé de cellules de formes identiques (Figures 4.1b et 4.1c).

4.1.2.1 Résultats de distribution de l'auxine

On vérifie directement que $C = \frac{j_0}{v}$ et $\phi = -\frac{\pi}{2}$ sont solutions de (P2). Ceci signifie que les directions d'écoulement de l'auxine prédites par le modèle, dans ce cas, sont verticales et que la concentration de l'auxine est homogène. Il en résulte une fonction de répartition de croissance $f = 1$. Les solutions numériques calculées par le logiciel redonnent la solution théorique, car la répartition de l'auxine est presque parfaitement homogène dans le cambium. Pour la résolution de (P2), si l'on considère un cylindre de rayon 10 cm et de hauteur 100 cm, l'erreur relative entre les solutions numériques ϕ_{num} et C_{num} et les solutions théoriques

sont inférieures à 10^{-4} . Plus précisément, $\left| \frac{\phi_{num} + \frac{\pi}{2}}{\frac{\pi}{2}} \right| \leq 6.10^{-5}$ et $\left| \frac{C_{num} - \frac{j_0}{v}}{\frac{j_0}{v}} \right| \leq 2.10^{-4}$.

On obtient également une distribution uniforme d'auxine en résolvant le problème (P1). Les solutions théoriques en vitesse ne sont pas facilement calculables, car la vitesse est fixée nulle sur les bords latéraux. L'erreur relative par rapport à une distribution homogène est de l'ordre de 0,1%.

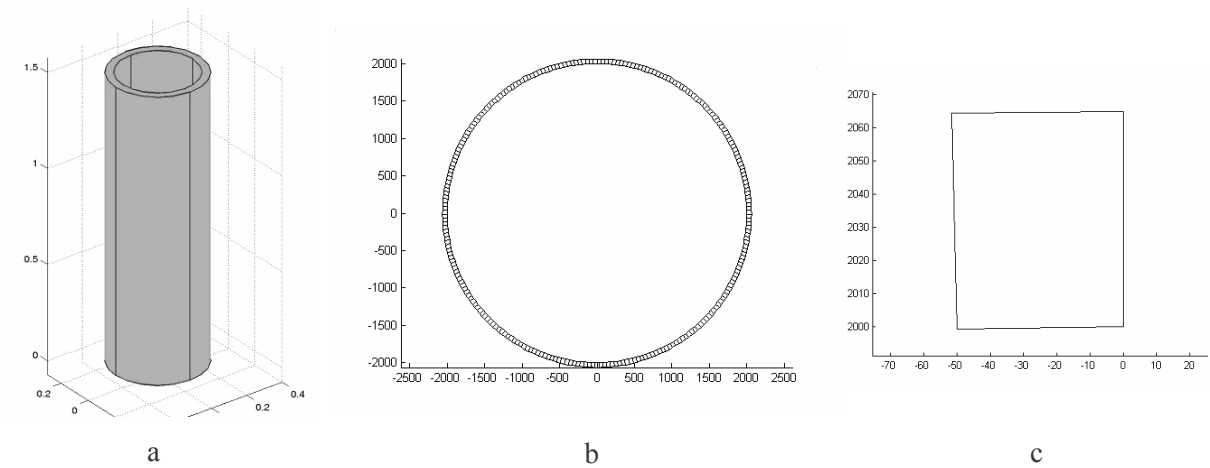


Figure 4.1. Géométries utilisées dans le cas de la croissance normale.

- (a) Cambium en trois dimensions pour $(P1)$: Ω . Echelle en cm
 (b) Situation initiale du cambium pour le modèle discret : $\Gamma(0)$.
 (c) Représentation d'une cellule cambiale $X_i(0)$ de $\Gamma(0)$. Echelles en μm pour (b) et (c).

4.1.2.2 Résultats de prolifération cellulaire

Le modèle discret a été simulé à partir de la situation initiale de la Figure 4.1b. On s'intéresse aussi à la simulation de la succession de deux types de périodes de croissance, caractérisés par leurs valeurs de τ_C et de ΔA . Nous distinguons ainsi deux types de saisons, une saison de croissance active $(\tau_{C_1}, \Delta A_1)$ et une saison de dormance $(\tau_{C_2}, \Delta A_2)$. On affecte une plus grande valeur τ_{C_1} pour la saison de dormance et, au contraire, la valeur de ΔA_1 pour cette saison sera choisie plus petite. On utilise $\tau_{C_2} = 3\tau_{C_1}$ et $\Delta A_2 = \frac{\Delta A_1}{4}$. La Figure 4.2 montre l'exemple d'une succession de trois périodes de croissance et le début d'une quatrième période de croissance active. On observe le développement concentrique du système. Le xylème est produit régulièrement en cercles concentriques. Dans cet exemple, le cambium est initialement composé de 254 cellules. A la fin de la simulation, il est composé de 476 cellules et 14771 cellules de xylème sont produites. La condition de conservation du périmètre moyen est respectée, puisque l'erreur relative entre $\frac{P(0)}{N(0)}$ et la même fraction à la fin de la

simulation est de 6%. On observe aussi comment les anneaux de croissance se distinguent par l'alternance de xylème "normal" et de xylème plus dense.

Les Figures 4.2b et 4.2c montrent que les cellules ont leur comportement propre, mais le mouvement global mène à une formation concentrique de xylème. Ces figures montrent un zoom sur une partie du xylème formé. On voit que les cellules ont initialement la même forme, mais l'évolution du modèle produit des cellules de xylème et de cambium de formes variables. Sur la Figure 4.2b, on remarque l'apparition de l'événement d'élimination du cambium, situé dans la file radiale repérée par une flèche. Cette file est d'abord composée d'une cellule, puis, suite à deux divisions anticlinales (une pendant la période de dormance et une autre pendant la période de croissance active), donne naissance à trois files. Cette surproduction est ici régulée, puisque l'élimination de cambium provoque un retour à deux files radiales. Comme souvent, cette élimination concerne une cellule issue d'une division anticlinale. Suivant cet effet de compétition, seulement une des deux cellules nées d'une même division anticlinale peut continuer à se développer. Après cet événement, le cambium retrouve sa continuité.

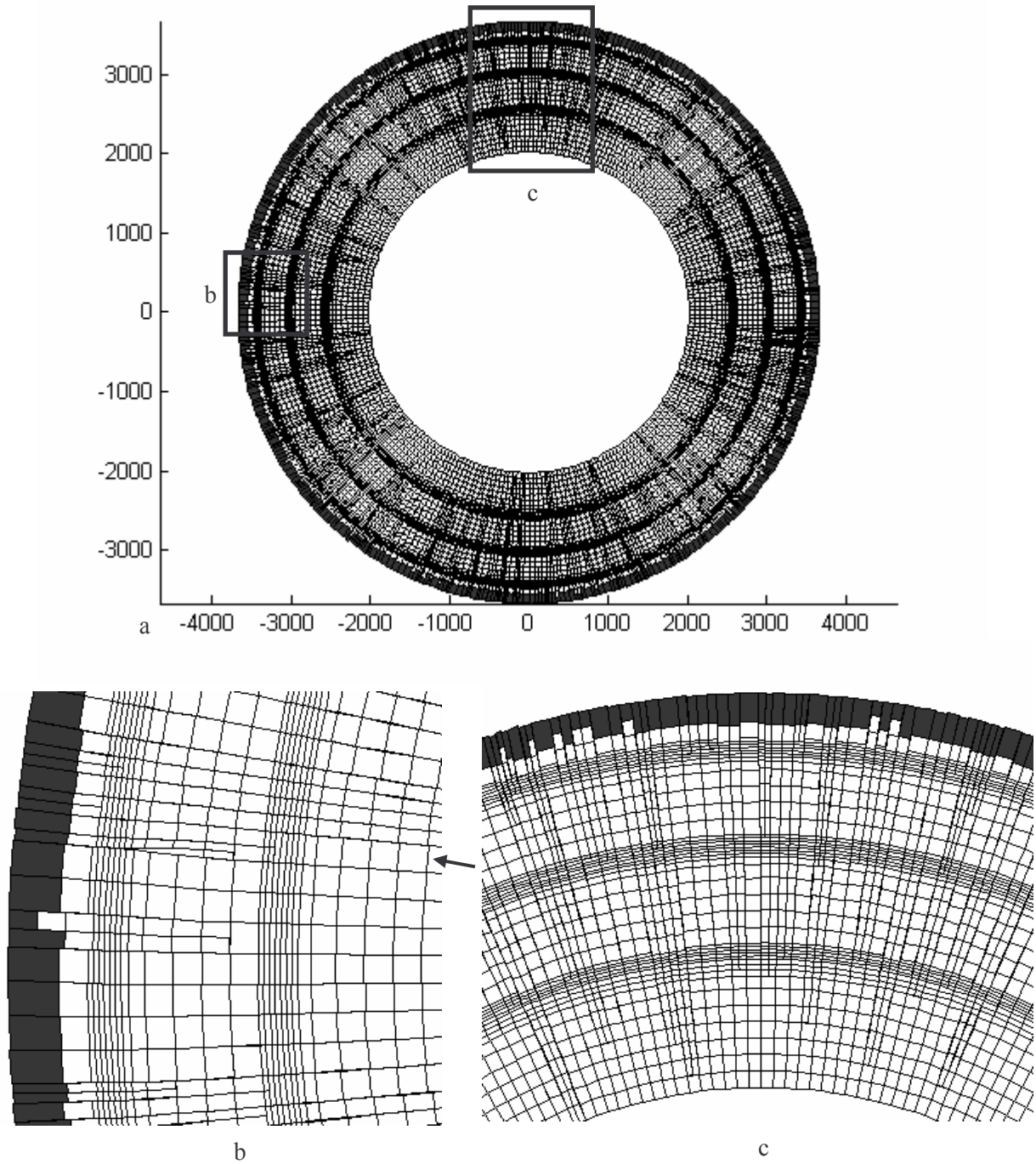


Figure 4.2. Simulation de croissance normale.

- (a) Représentation globale (échelle en μm).
 (b) et (c) zooms sur des parties du xylème.

4.1.3 Attaque parasitaire

Nous considérons maintenant des perturbations plus ou moins importantes du problème précédent, avec des géométries présentant des déformations. Ces géométries sont construites dans le logiciel au moyen de portions de tores et de cylindres.

4.1.3.1 Résultats de distribution de l'auxine

4.1.3.1.1 Modèle en trois dimensions

Arbre déformé

La Figure 4.3 présente la géométrie d'une portion de cambium d'un arbre déformé. Pour les raisons informatiques évoquées précédemment, la portion est de très petite taille.

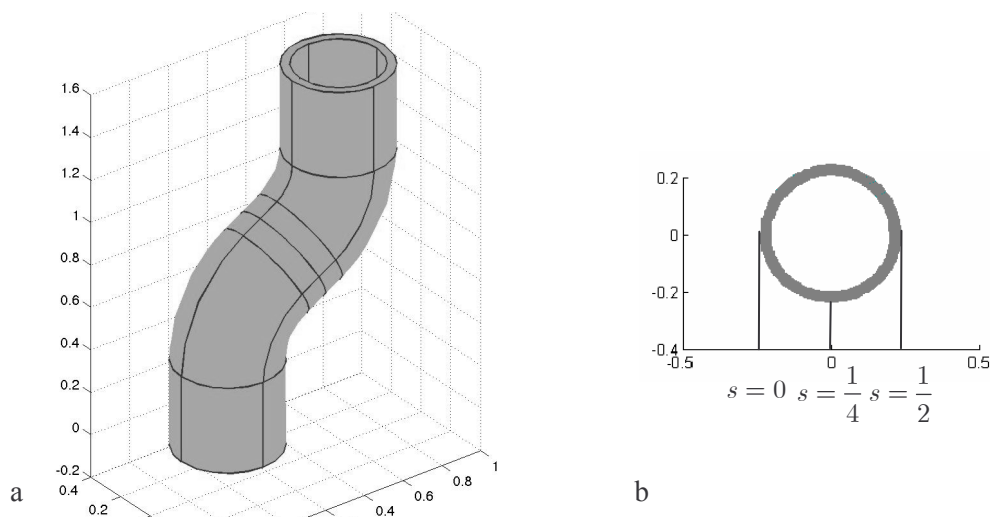


Figure 4.3. Géométrie pour (P1) dans le cas d'un arbre déformé.

Les échelles de (a), (b) et sont en cm.

(a) Exemple de domaine Ω .

(b) Exemple de coupe transversale horizontale de Ω prise à $z = 0.45$ cm.

Les équations du système (P1) ont été résolues sur le domaine de la Figure 4.3a, pour calculer la distribution de l'auxine dans le cambium de l'arbre déformé.

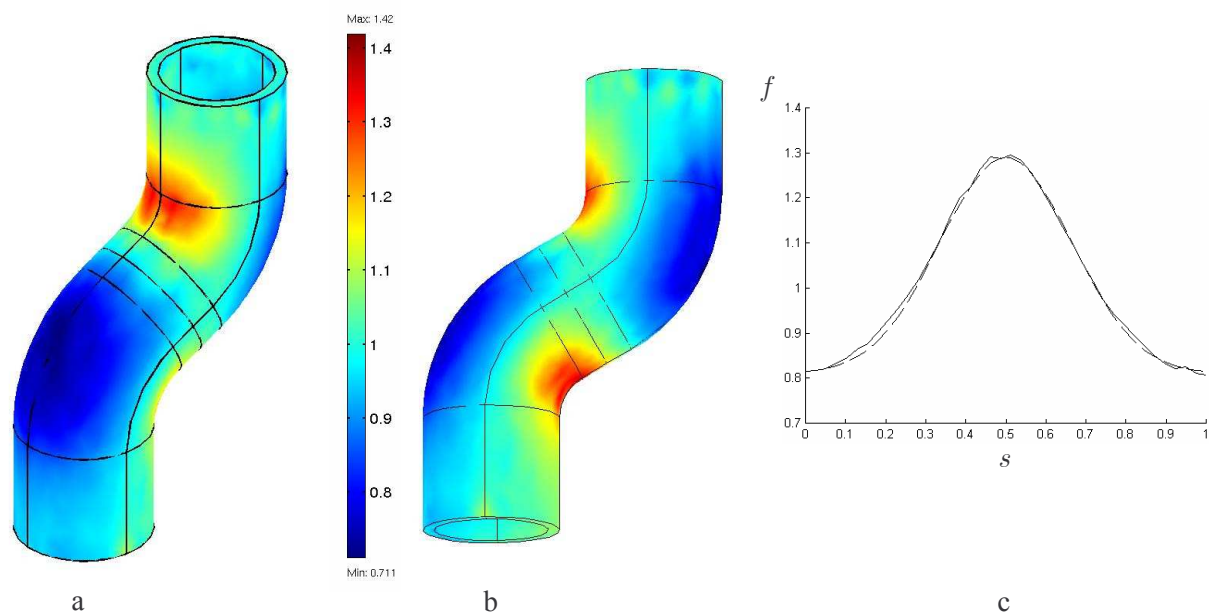


Figure 4.4. Solution de (P1) pour un arbre déformé.

Les échelles de (a), (b) et (c) sont en cm.

(a) Répartition normalisée de l'auxine.

(b) Autre angle d'observation du résultat.

(c) Fonction de répartition f , calculée pour la section transversale de la Figure 4.3b, en fonction de l'abscisse curviligne normalisée. La ligne continue représente le résultat numérique et la ligne en pointillés est une Gaussienne enroulée plus une constante égale à 0.81 approchant la courbe numérique. La Gaussienne a pour équation approchée $0.48e^{-\left[18.36\left(s-\frac{1}{2}\right)^2\right]}$.

Comme attendu, suite à l'influence de la gravité sur le transport de l'auxine, on obtient une répartition hétérogène de l'auxine. Les lignes d'écoulement de l'auxine sont illustrées sur la Figure 4.22 dans la partie 4.1.7.1. La Figure 4.4c représente la fonction f que l'on utilise ensuite en pratique pour les transitions du système de prolifération. On l'obtient par moyenne radiale et normalisation de la concentration obtenue sur la coupe transversale étudiée. Cette fonction s'approxime bien par une Gaussienne enroulée sur un support circulaire, plus une constante. Cette Gaussienne est qualitativement satisfaisante, car elle reflète bien l'hétérogénéité de la répartition d'auxine en circonférence.

La répartition calculée par le modèle dans la moitié haute du cambium, semble moins réaliste. Il est étonnant de constater que le modèle prédit que la répartition est symétrique par rapport au centre de symétrie de la géométrie. Ceci est probablement lié au fait d'utiliser un fluide incompressible, qui plus est dans une géométrie de petite taille.

Concavité

Nous considérons ici une partie de cambium qui inclut une zone concave, construite à partir de sphères. L'épaisseur du cambium est constante (Figure 4.5). Pour résoudre ($P1$) sur une géométrie « ouverte », des conditions aux bords doivent être rajoutées sur les frontières latérales. Sur les deux frontières latérales, on impose donc un flux normal nul pour l'auxine et une vitesse verticale d'intensité égale à celle imposée à la frontière supérieure. Selon nos calculs, une zone d'accumulation apparaît dans la partie basse de la concavité.

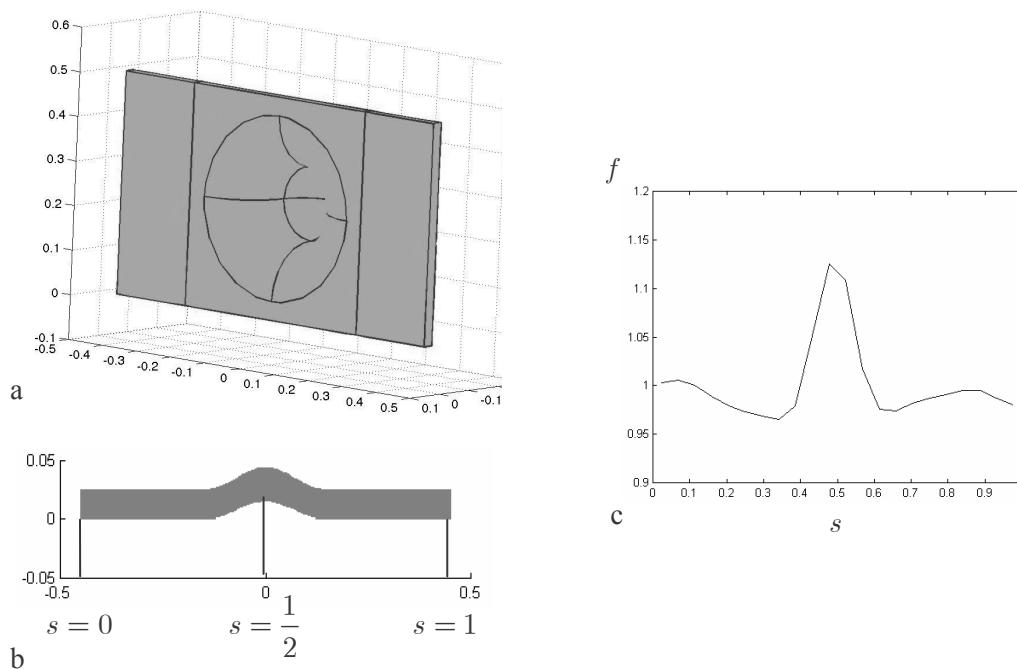


Figure 4.5. Le problème ($P1$) posé pour une concavité.

- (a) Domaine Ω présentant une concavité.
- (b) Exemple de coupe transversale pour $z = 0.1$ cm .
- (c) Fonction de distribution f associée, en fonction de l'abscisse curviligne normalisée.

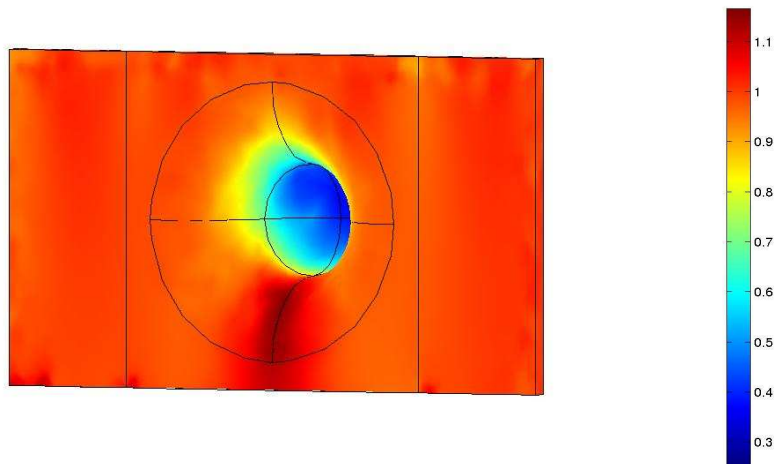


Figure 4.6. Répartition globale de l'auxine pour la géométrie de la Figure 4.5a.

Le résultat de la simulation, observé sur toute la géométrie, montre que le modèle (P1) prédit une zone de déplétion, largement située au cœur de la concavité. L'accumulation est localisée sous cette zone de déplétion.

4.1.3.1.2 Modèle superficiel

Le modèle (P2) a été simulé pour diverses formes d'arbres. Il converge toujours rapidement vers la solution stationnaire. Nous envisageons, dans un premier temps, des arbres peu déformés, puis des arbres de géométrie très déformée.

Arbres peu déformés

La Figure 4.7 présente les résultats numériques obtenus pour la concentration d'auxine. Les valeurs sont normalisées par la concentration de référence $\frac{j_0}{v}$. Les zones où la concentration est égale à la concentration moyenne sont en vert. Les simulations mettent en évidence des zones de déplétion d'hormone en bleu et des zones d'accumulation en rouge. Pour ce modèle, l'accumulation se localise bien dans les zones inférieures de la géométrie. L'arbre des Figures 4.7c et 4.7d présente deux zones distinctes d'accumulation et deux zones de déplétion. Ceci est une conséquence de sa géométrie, qui possède une double déformation.

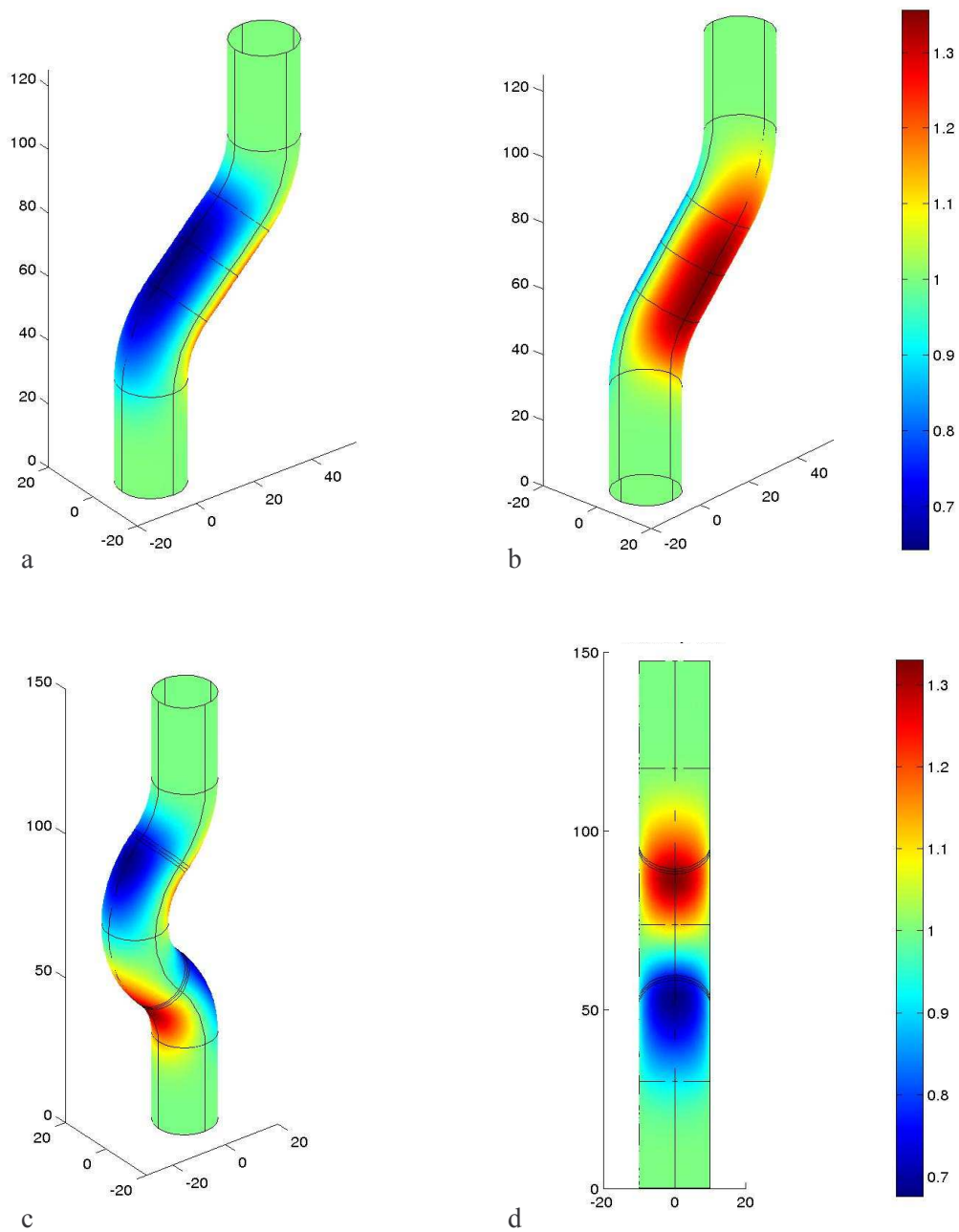
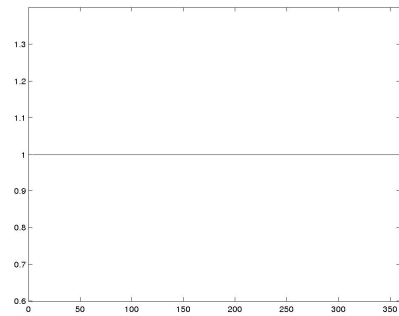
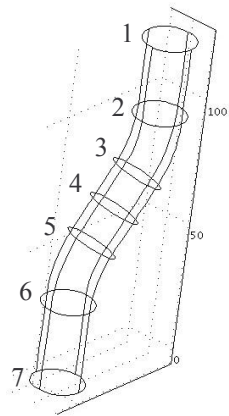


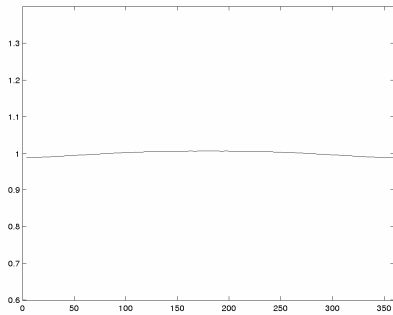
Figure 4.7. Distribution normalisée d'auxine.

(a) et (b) arbre présentant une déformation.
 (c) et (d) arbre présentant une double déformation.

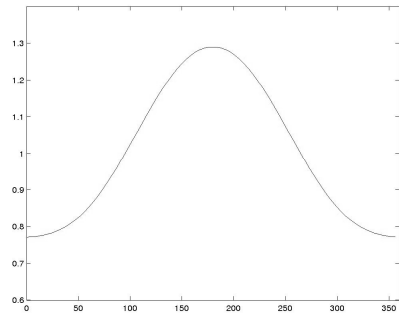
La Figure 4.8 permet de visualiser les répartitions de concentration selon des coupes normales aux directions longitudinales. On observe sept coupes le long de l'arbre. On visualise ainsi différents profils d'hétérogénéité de la Figure 4.7.



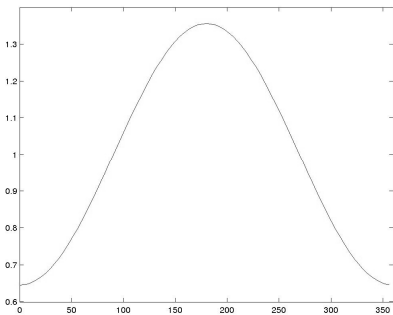
1



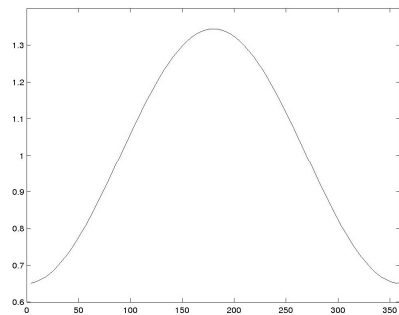
2



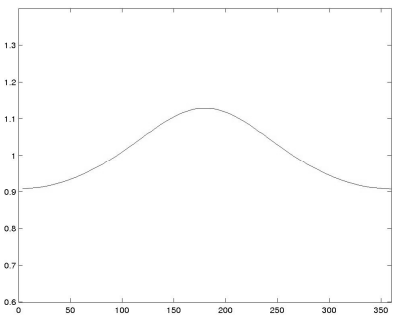
3



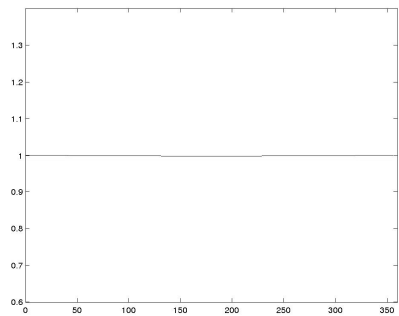
4



5



6



7

Figure 4.8. Répartition de la concentration normalisée d'auxine sur différentes coupes de la géométrie des Figures 4.7a et 4.7b.

En haut du domaine, la répartition est homogène (1). A la fin de la première section cylindrique, une légère hétérogénéité apparaît déjà (2). Les sections (3), (4) et (5) présentent les hétérogénéités les plus marquées. La section (4), prise au milieu de la zone inclinée, présente le maximum d'hétérogénéité. La section (5) conserve presque le même degré d'hétérogénéité qu'en (4), mais on observe une très légère atténuation.

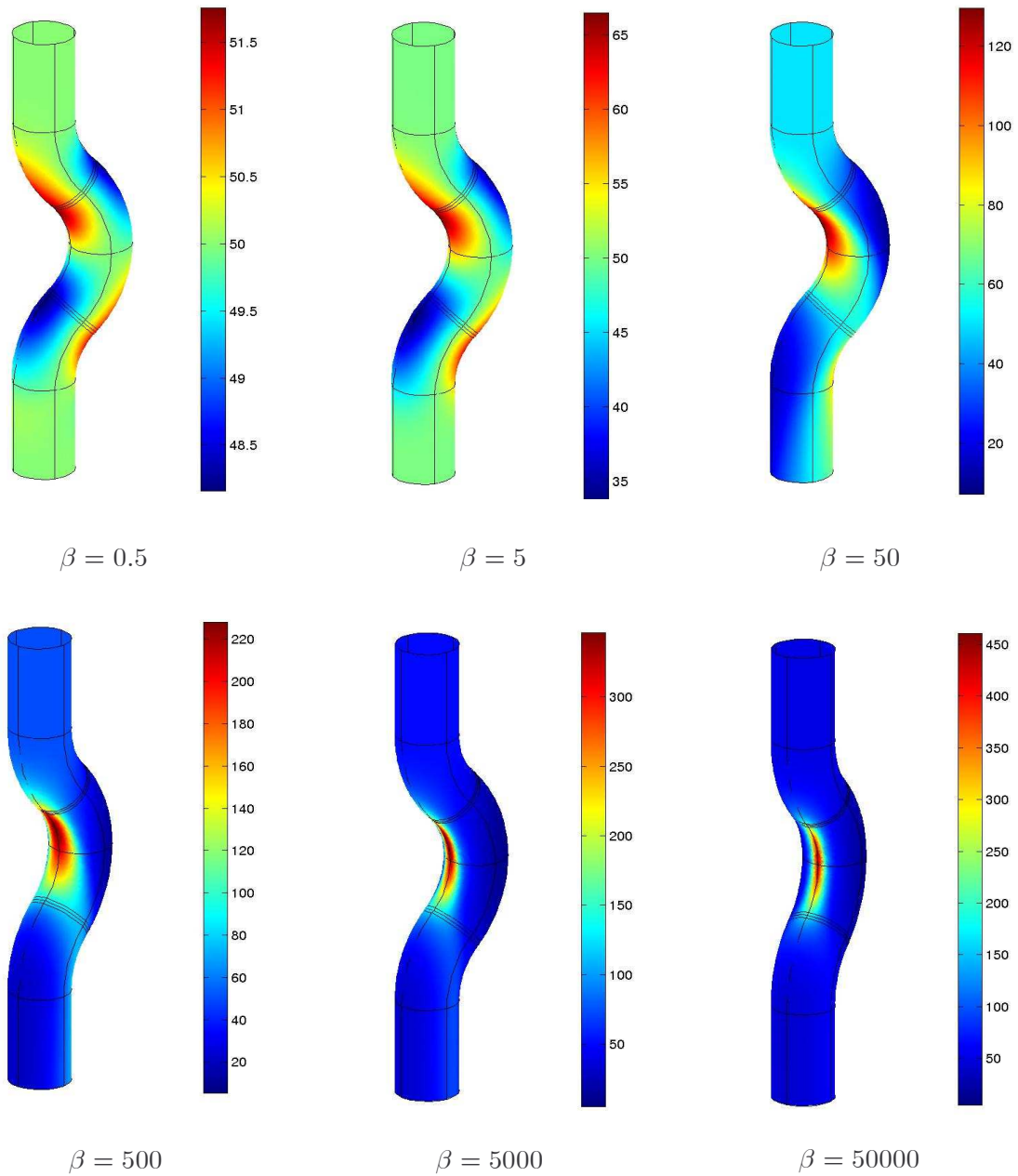


Figure 4.9. Evolution de la répartition cambiale de l'auxine, selon la variation du coefficient β .

La Figure 4.9 montre qu'en amplifiant le poids du terme de gravité par rapport aux autres termes (laissés égaux à leur valeur de référence), on peut passer progressivement de deux zones d'accumulation à une seule. La zone d'accumulation située dans la partie haute de l'arbre, pour des valeurs faibles de β , « descend » progressivement pour se centrer à mi-hauteur de la géométrie. La valeur maximale d'accumulation augmente progressivement.

Arbres très déformés

Le modèle peut aussi être utilisé pour des arbres présentant des déformations beaucoup plus sévères. Comme ce modèle considère un terme de transport actif, l'auxine peut se transporter, même si le tronc présente des parties horizontales (Figure 4.10) ou ascendantes (Figure 4.11). Les résultats montrent toujours des profils d'accumulation et de déplétion d'hormone suivant l'influence de la gravité. Le modèle tridimensionnel, puisqu'il utilise l'écoulement d'un fluide, ne peut pas rendre compte correctement de l'accumulation pour de tels arbres.

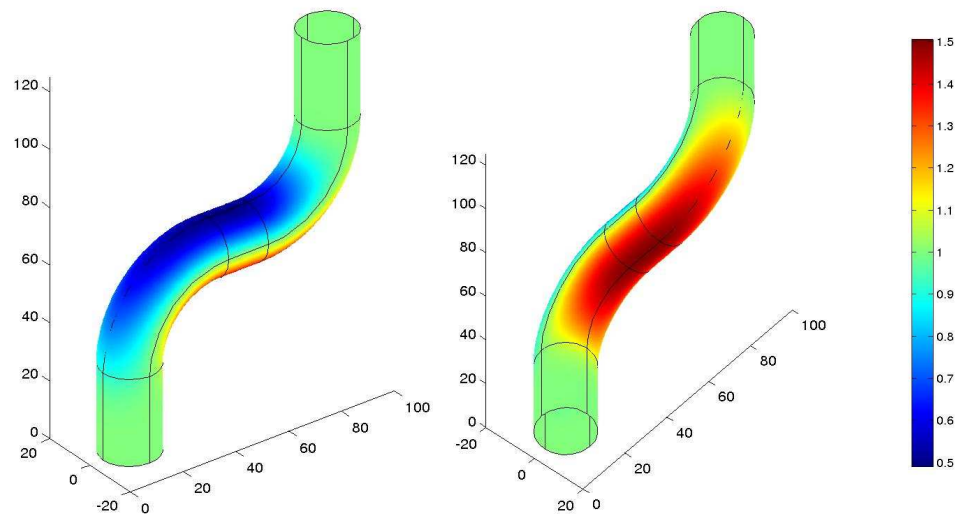


Figure 4.10. Distribution d'auxine pour un arbre très déformé qui présente une portion horizontale.

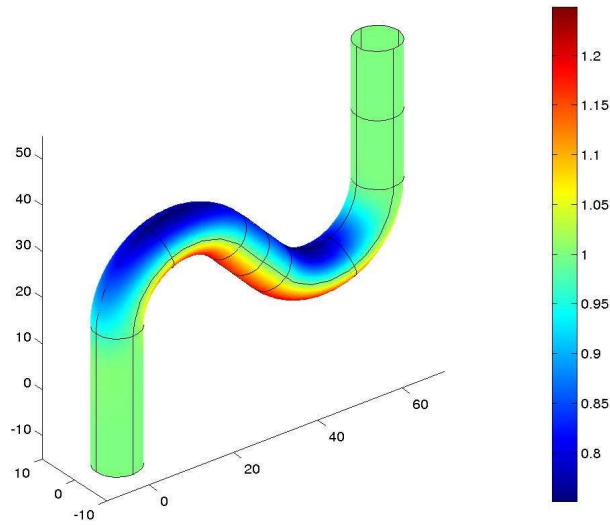


Figure 4.11 Distribution d'auxine pour un arbre très déformé qui présente une pente ascendante.

Concavité

Si l'on considère le modèle (P2) dans une géométrie qui inclut une concavité, le paramétrage de la surface ne suit plus l'équation (3.28) et se pose alors le problème du choix des champs de vecteurs de référence \vec{t}_1 et \vec{t}_2 . Ces champs de vecteurs peuvent être interprétés comme donnant l'orientation des cellules cambiales juste après une déformation, à partir d'une configuration entièrement verticale. Les orientations initiales verticales sont données par $-\vec{t}_2$, avec $\vec{t}_2 = \vec{z}$. On considère que l'orientation des cellules suit les déformations. Dans les cas précédents, on a considéré des géométries produites par des déformations planes du cylindre. C'est pourquoi les configurations initiales des cellules sont naturellement prises longitudinales. Les géométries plus complexes, comme celle de Figure 4.5a, font intervenir des transformations tridimensionnelles. Biologiquement, ce genre de configuration s'obtient par un blocage local de croissance. Le lieu de blocage présente un taux de croissance radiale nul, son voisinage des taux faibles, puis, en s'éloignant de la zone de blocage, on retrouve progressivement des taux de croissance normaux. Ce différentiel de croissance produit alors théoriquement une concavité telle que celle de la Figure 4.5.

Il serait particulièrement intéressant d'utiliser un modèle de croissance en trois dimensions (conçu à partir de ceux proposés) qui puisse intégrer la croissance et l'orientation successive des cellules, pour connaître l'orientation de celles-ci, lorsque la concavité est

formée. Comme nous n'avons pas cette connaissance, nous pouvons proposer plusieurs dispositions initiales. Une première consiste à prendre l'orientation initiale des cellules dans le plan (xOz) en ne considérant qu'un seul plan de déformation (Figure 4.12a). On peut aussi tester le modèle en utilisant une orientation qui suit les formes sphériques de la concavité (Figure 4.12b).

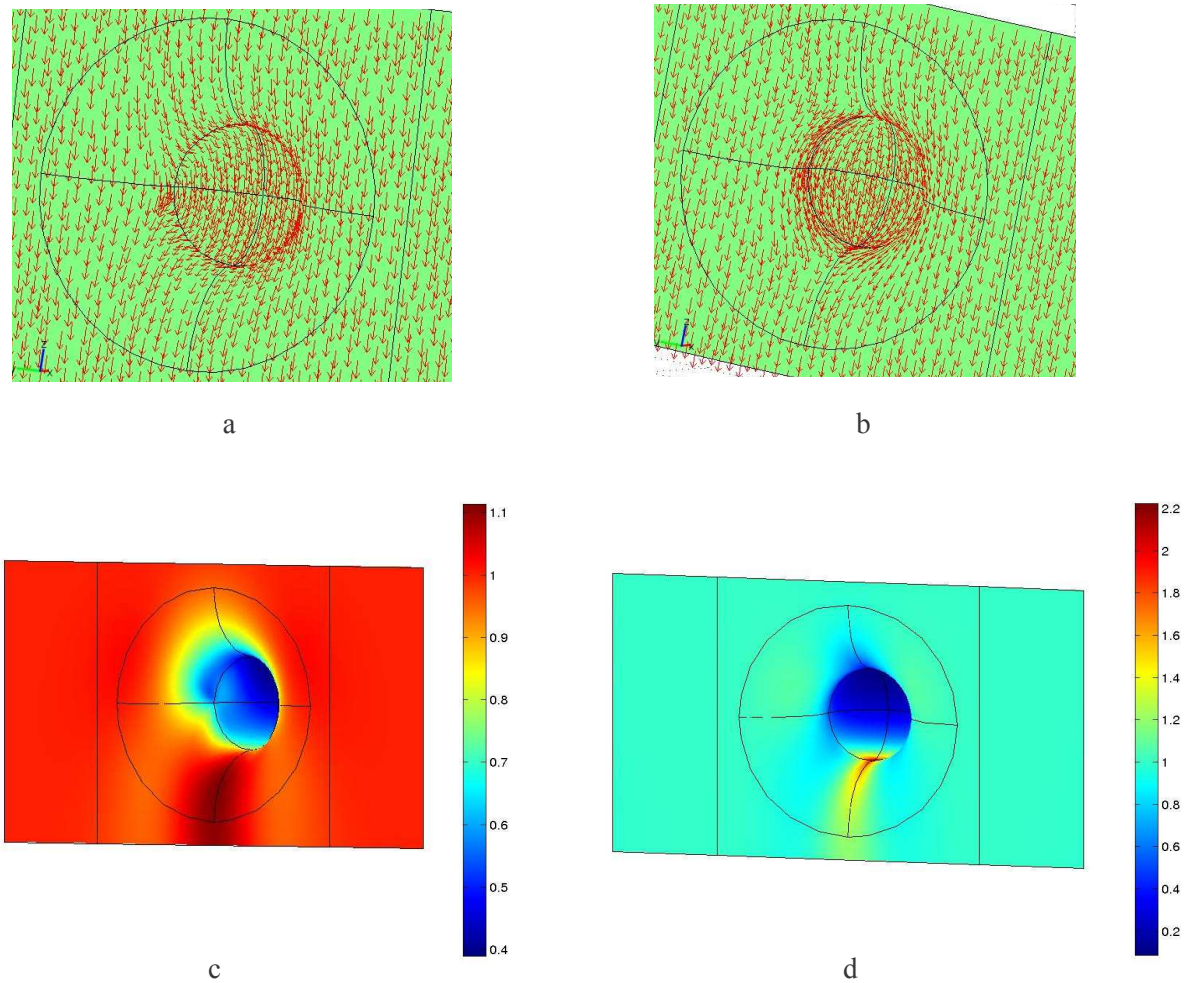


Figure 4.12. Résultat de distribution d'auxine dans une concavité, dans la géométrie de la Figure 4.5, considérée sans épaisseur.

- (a) Configuration de référence des cellules dans le plan (xOz) .
- (b) Configuration de référence des cellules selon la projection de la verticale sur la surface.
- (c) Distribution d'auxine à partir de la configuration (a), avec $\beta = 50000$.
- (d) Distribution d'auxine à partir de la configuration (b), avec $\beta = 5$.

La Figure 4.12 présente les résultats de $(P2)$, selon deux types extrêmes de choix pour l'orientation de (\vec{t}_1, \vec{t}_2) . Dans le cas de la Figure 4.12a, l'orientation est dans le plan (xOz) . Le poids du terme de gravité doit alors être très nettement augmenté par rapport à la valeur qu'on lui affecte habituellement pour qu'apparaisse une zone d'accumulation semblable à celle de la Figure 4.6 montrant la répartition prédite par le modèle tridimensionnel. Dans l'autre extrême, cette orientation suit exactement la déformation ; dans ce cas, cette disposition tend naturellement à produire une accumulation. On obtient alors une accumulation intense et très localisée avec $\beta = 5$. On pourrait aussi considérer des orientations intermédiaires et obtenir des résultats intermédiaires.

Le modèle superficiel permet aussi de considérer de grandes concavités, que l'on peut de plus intégrer dans un plan tangent pour étudier l'étendue des hétérogénéités en dehors de la zone concave. Cette réalisation est impossible avec l'autre modèle de transport, toujours pour les mêmes raisons informatiques.

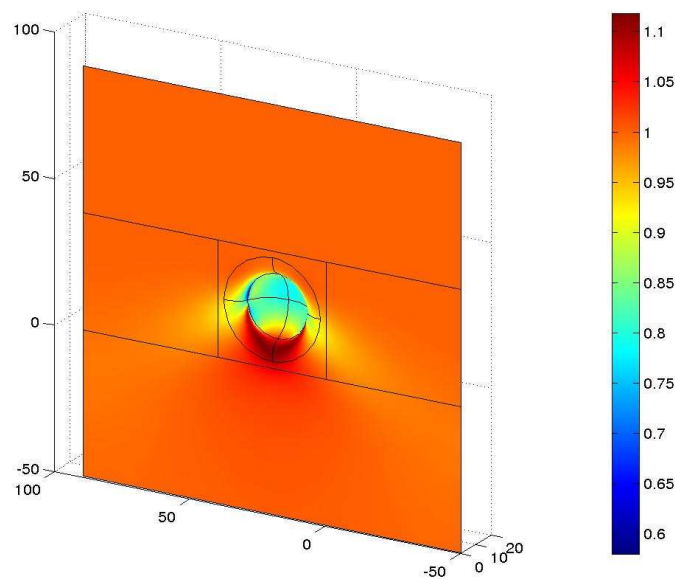


Figure 4.13. Répartition d'auxine normalisée, dans un plan muni d'une concavité, en prenant les orientations initiales des cellules dans le plan (xOz) . Echelle en cm.

Le résultat de la Figure 4.13 montre que l'hétérogénéité due à la présence de la concavité reste très localisée. Le plan situé en dessous de la concavité n'est que très peu affecté par celle-ci. On remarque aussi que l'augmentation de la taille de la concavité permet

de mettre en valeur une accumulation, en utilisant la valeur standard $\beta = 5$ pour le terme de gravité.

4.1.3.2 Résultats de prolifération cellulaire

La situation initiale, pour la simulation de la prolifération, est un cambium quasi-cylindrique, qui présente une concavité résultant d'une attaque parasitaire (Figure 4.14). L'automate de prolifération est alimenté par la fonction f de la Figure 4.4c, perturbée par une fonction locale définie par un « lissage spline » de la Figure 4.5c, c'est-à-dire que l'on approxime la répartition par une fonction régulière. Le résultat de la simulation apparaît sur la Figure 4.15.

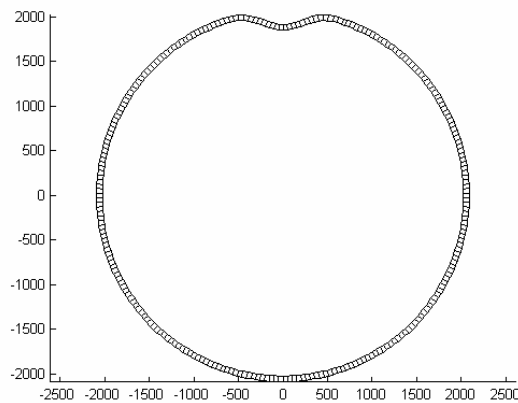


Figure 4.14. Situation initiale.

On observe un différentiel de croissance lié à l'hétérogénéité de la distribution d'auxine. Davantage de cellules sont produites radialement dans la zone concave (Figure 4.15b) (située dans la zone d'accumulation d'auxine) que dans la zone opposée (Figure 4.15c). En effet, sur la Figure 4.15b, la file radiale située au centre de la concavité comporte 15 cellules, alors que, sur la Figure 4.15c, certaines files radiales n'ont que 8 cellules. Les observations de croissance dans les zones latérales montrent des profils intermédiaires avec des files radiales de 10-11 cellules au centre des Figures 4.15d et 4.15e signant ainsi le processus de récupération de la concavité parasitaire. A la fin de la simulation, le cambium a presque complètement retrouvé une forme circulaire, la concavité s'étant largement atténuée. Comme déjà mentionné, la file centrale de la concavité compte 15 cellules, alors que les alignements cellulaires situés en bordure de la concavité n'en possèdent que 12. La

récupération est donc essentiellement produite par le différentiel de croissance au sein de la concavité.

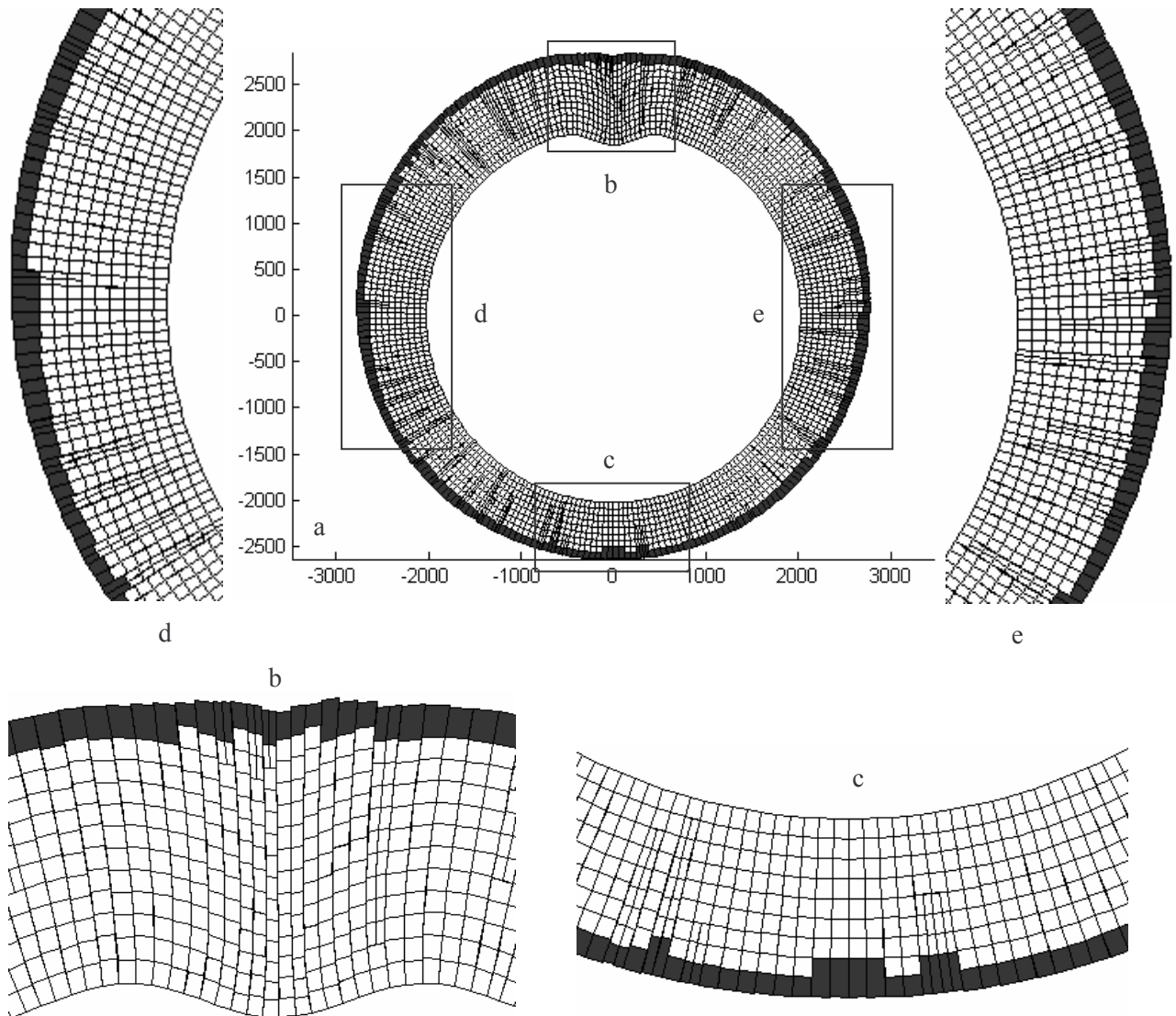


Figure 4.15. Simulation de croissance, suite à une attaque parasitaire.

- (a) vue globale, échelle en μm .
- (b) zoom sur la zone concave.
- (c) zoom sur la zone opposée à la zone concave
- (d) et (e) zooms sur les zones latérales.

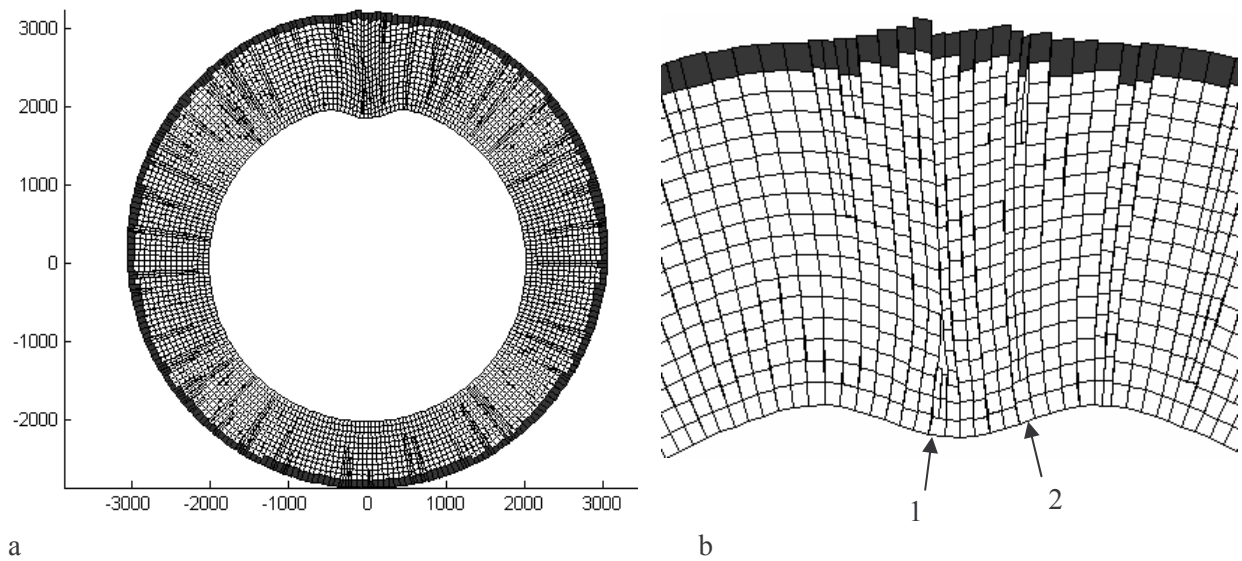


Figure 4.16. Autre simulation à partir de la même situation initiale que celle de la Figure 4.14.

- (a) vue globale
- (b) zoom sur la zone concave

La Figure 4.16 est un autre résultat de simulation, avec les mêmes conditions que celles de la Figure 4.15 : même situation initiale, même valeurs des paramètres. L'allure globale des proliférations pour les deux figures est similaire, mais des différences apparaissent à l'échelle cellulaire. La Figure 4.16b, qui est un zoom sur la zone concave, présente un autre scénario de récupération de la concavité. Contrairement au cas précédent, le processus implique des éliminations cellulaires. Les files concernées par des éliminations sont repérées par des flèches noires. Dans le cas de la flèche numéro 1, l'élimination concerne deux cellules issues de la même division anticlinale. Elles ont été éliminées presque simultanément. Pour la flèche numéro 2, l'élimination se produit près du haut de la figure, ce cas d'élimination étant proche de celui de la Figure 4.2b.

Représentation dynamique

Les résultats peuvent aussi être présentés sous une forme « dynamique ». Les Figures 4.17 et 4.18 présentent une nouvelle simulation où l'état du xylème et du cambium est représenté à intervalles de temps régulier. La Figure 4.17 présente les résultats globaux et la Figure 4.18 les zooms correspondants sur la zone concave. Ces figures permettent de se rendre compte du caractère progressif des récupérations.

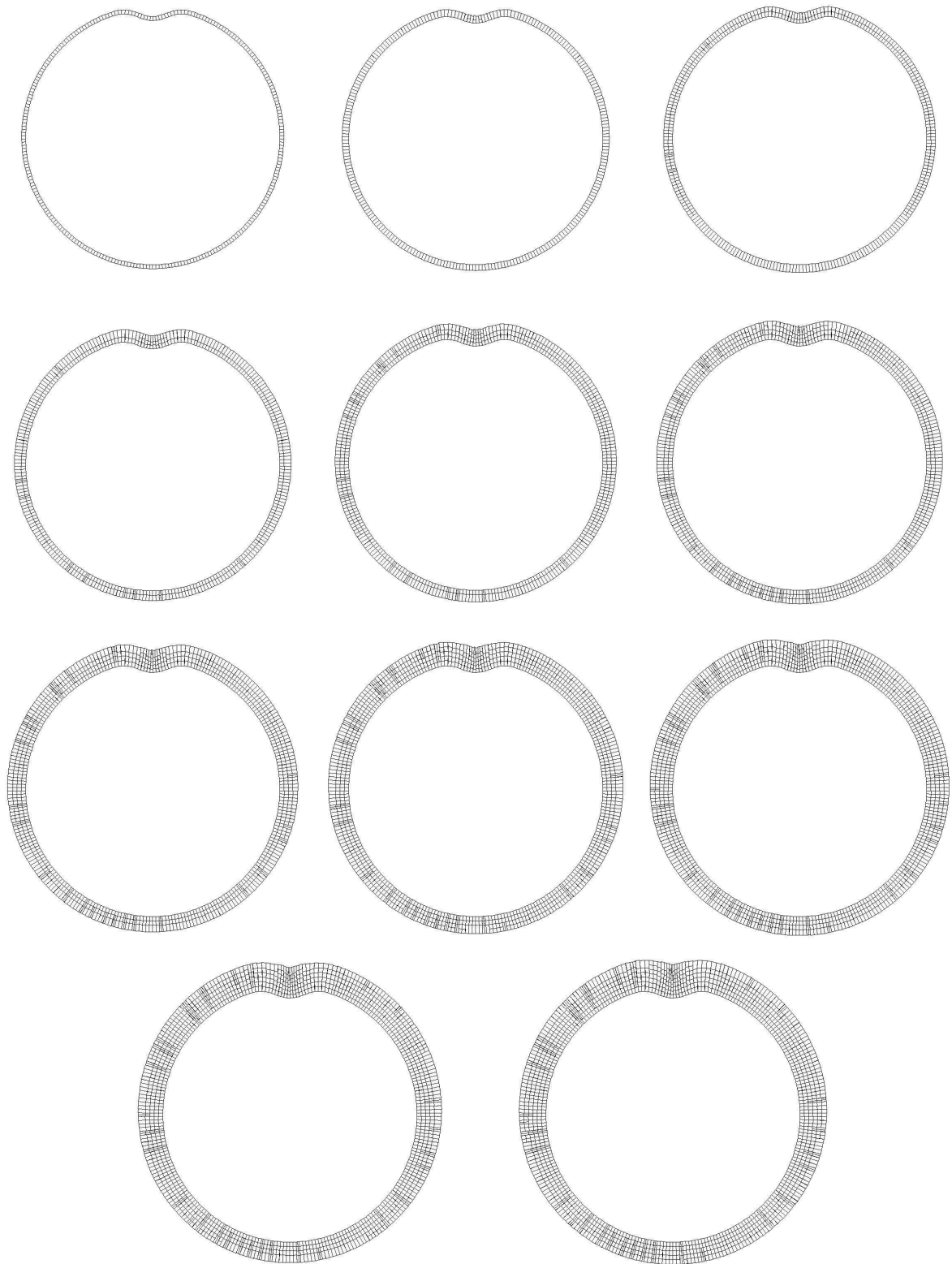


Figure 4.17. Représentation à intervalles de temps réguliers des récupérations.

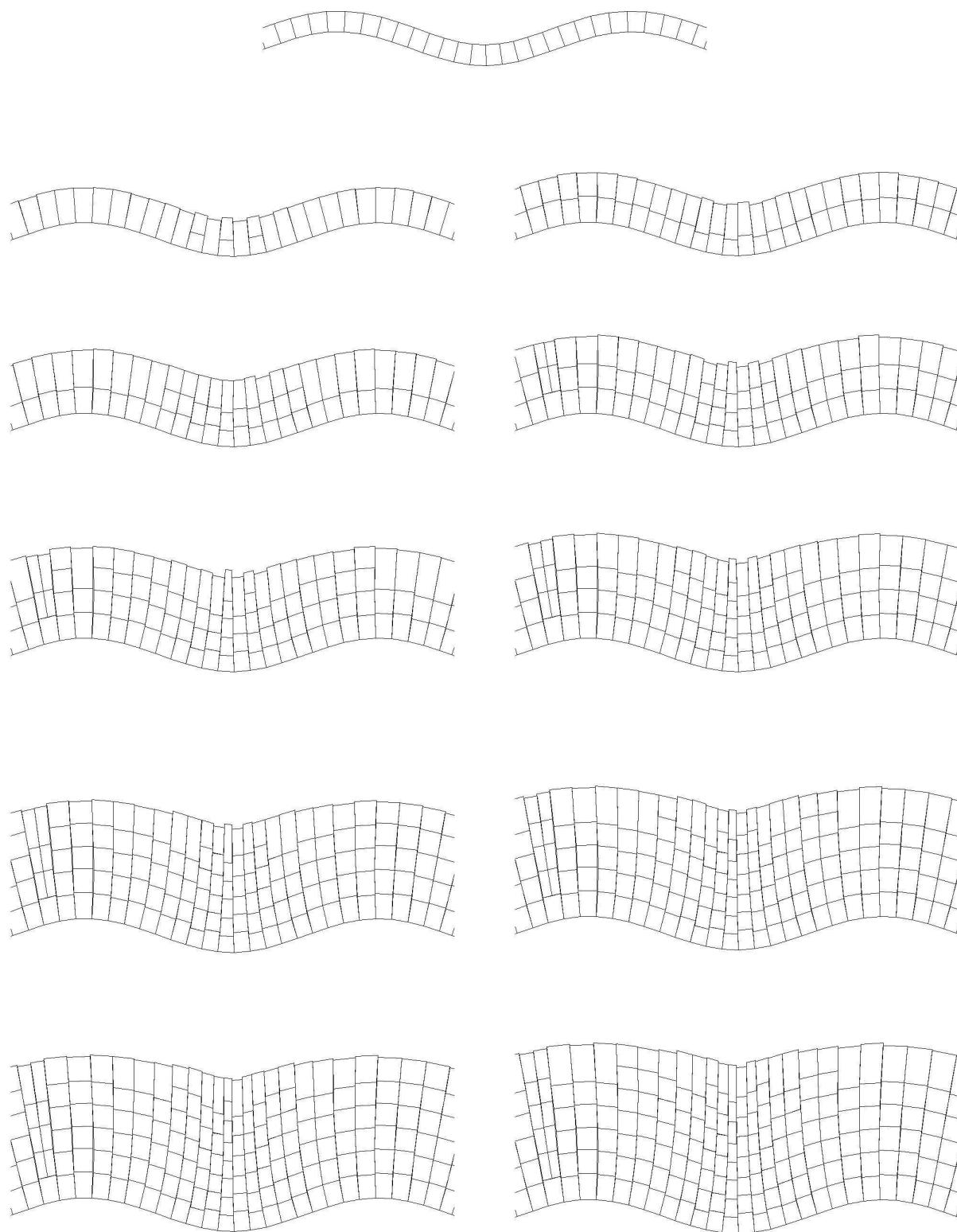


Figure 4.18. Représentation de la récupération de la zone concave, à intervalles de temps réguliers.
 Les zooms sont pris sur les différentes situations de la Figure 4.17.

4.1.4 Elagage d'une branche

L'élagage d'une branche crée une concavité beaucoup plus marquée au sein du cambium. Ceci peut concerner tous les types d'arbres, qu'ils soient ou non déformés globalement. Pour simuler ce cas, la situation initiale du système discret présente une concavité plus importante. Nous considérons que la forme en trois dimensions de l'arbre est un cylindre affecté d'une concavité. Ainsi, la fonction de répartition de croissance sera prise homogène en dehors de la zone concave. On applique une hétérogénéité de la forme de la fonction de la Figure 4.5c dans la zone concave. Les résultats sont présentés dans la Figure 4.19.

Les Figures 4.19a et 4.19c sont deux prédictions du modèle, suite à l'élagage d'une branche. Ces deux simulations ont été réalisées dans les mêmes conditions. Chaque fois, on observe le processus de récupération, par atténuation progressive de la concavité. Comme, dans ce cas, la concavité est très marquée, le phénomène de compétition entre les cellules, pour se développer et conquérir l'espace, est particulièrement intense. Ceci a pour conséquence un taux d'élimination cellulaire important. Si la récupération de la Figure 4.19b ne nécessite qu'une élimination, celle de la Figure 4.19d présente toute une série d'éliminations. En effet, dans la région située sur la gauche du centre de la concavité, on passe de 5 files radiales à une seule, en seulement 7 générations cellulaires. Ces éliminations sont particulièrement localisées, puisqu'elles concernent des files voisines. Nous montrons ainsi à nouveau que les résultats globaux de récupération peuvent être obtenus par plusieurs scénarios cellulaires différents.

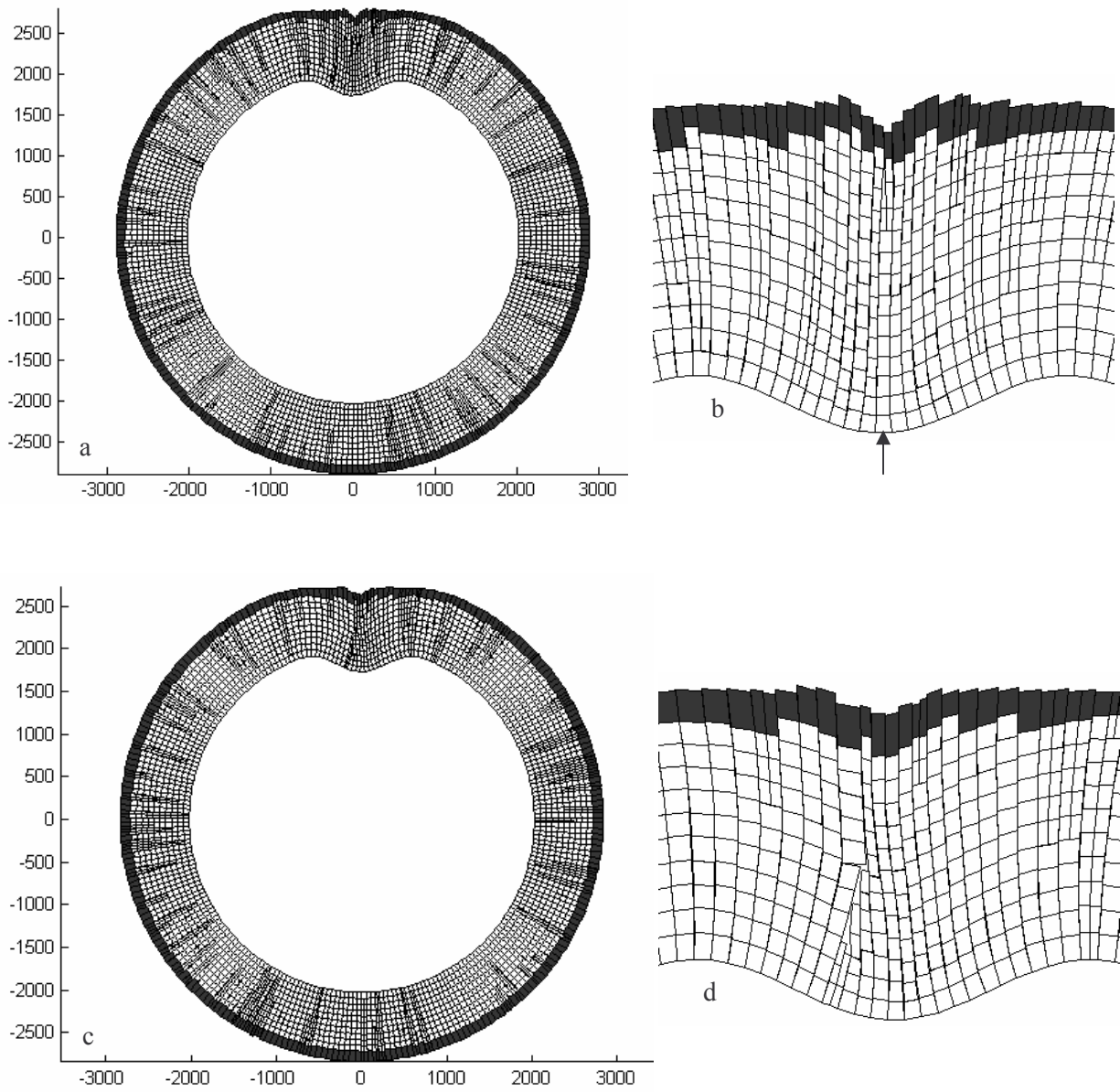


Figure 4.19. Simulations de récupération après l'élagage d'une branche.

(a) et (c) vue globale pour deux simulations différentes (dans les mêmes conditions).
 (b) et (d) zooms sur les zones concaves.

4.1.5 Comparaison des deux modèles continus de transport

Deux modèles de transport de l'auxine ont été développés pendant cette thèse, ils sont synthétisés par les formulations ($P1$) et ($P2$). Cette partie établit des comparaisons entre ces modèles, à la lumière des résultats exposés précédemment.

Comparaison « technique »

D'un point de vue informatique, le problème ($P1$), puisqu'il est tridimensionnel, entraîne des coûts de calculs plus importants que ($P2$), qui est superficiel. L'ordre de grandeur du temps de calcul de la solution avec ($P1$) est de 20 minutes, contre environ 30 secondes pour ($P2$). La résolution de ($P1$) pose surtout un problème de mémoire informatique. Les géométries cambiales tridimensionnelles sont réalistes, lorsqu'elles présentent une épaisseur très faible devant les autres dimensions. De plus, le logiciel Femlab[®] utilise un maillage automatique isotrope, ce qui implique un nombre extrêmement élevé d'éléments pour mailler toute la géométrie. Ainsi, un ordinateur de 512 Mo de RAM pourra résoudre le problème ($P1$), seulement si la géométrie possède moins de 7000 éléments. Ceci contraint alors grandement le rapport entre l'épaisseur du cambium modélisé et la longueur de l'arbre. Par exemple, pour garder un ordre de grandeur réel pour le cambium (~ 1 mm), cette contrainte implique une restriction du problème à une portion d'arbre de longueur inférieure à 2 cm.

Comparaison « conceptuelle »

La formulation ($P2$) offre l'avantage de s'appuyer sur une équation d'orientation plus réaliste, où chaque terme peut s'interpréter en cohérence avec des expériences biologiques. Ce modèle est particulièrement approprié, si l'utilisateur n'est pas intéressé par les détails de la concentration d'auxine selon la direction radiale. ($P2$) est effectivement incapable de fournir une telle information, car les quantités du modèle sont moyennées radialement.

Le problème ($P1$) repose sur une hypothèse d'orientation plus éloignée d'une justification biologique directe, mais possède l'avantage d'intégrer la dimension radiale dans sa géométrie. La géométrie est ainsi plus adaptée, mais finalement la modélisation n'est pas suffisamment aboutie pour pouvoir refléter de possibles hétérogénéités radiales dans la concentration de l'auxine. L'hétérogénéité existe au niveau du résultat du calcul de vitesse,

puisque l'on observe un gradient de vitesse avec une vitesse nulle sur le bord du cambium (imposée par les conditions aux bords) et une vitesse maximale au centre. Mais, ensuite, dans l'équation de transport de l'auxine, la diffusion éteint toute hétérogénéité radiale au niveau de la concentration.

Un modèle tridimensionnel pouvant simuler la concentration de l'auxine selon toutes les dimensions doit ainsi pouvoir s'appuyer sur les aspects réalistes de ces deux modèles.

Comparaison des résultats

La seule différence importante entre les résultats fournis par les deux modèles concerne la répartition de l'auxine dans la partie haute du cambium d'un arbre déformé. Effectivement, le modèle (*P1*) prédit une accumulation peu réaliste à l'intérieur de la zone concave haute (Figure 4.4), alors que (*P2*) prédit quasiment une homogénéité (Figures 4.7a et 4.7b). Il serait probablement possible de corriger l'accumulation haute donnée par (*P1*), en utilisant une équation de fluide plus adaptée, par exemple en considérant un fluide compressible. Les résultats concernant la moitié basse de l'arbre sont par contre similaires, notamment au niveau de la première coupe transversale horizontale. Les résultats sur les concavités sont également analogues.

Le modèle (*P2*) est par contre le seul à pouvoir calculer des résultats pour une plus grande classe de géométries, telles que celles des Figures 4.10 et 4.11. Il permet aussi de s'intéresser à des arbres de n'importe quelles dimensions.

4.1.6 Résultat de la simulation de la croissance radiale en trois dimensions

Cette partie est consacrée aux résultats obtenus par la méthode de simulation de la croissance tridimensionnelle.

4.1.6.1 Résultat du modèle simplifié

Le modèle simplifié, défini dans la partie 3.3, reproduit des patterns de concentration d'auxine très proches de ceux obtenus avec le modèle continu ($P2$). La Figure 4.20 présente une comparaison graphique entre les résultats des deux modèles.

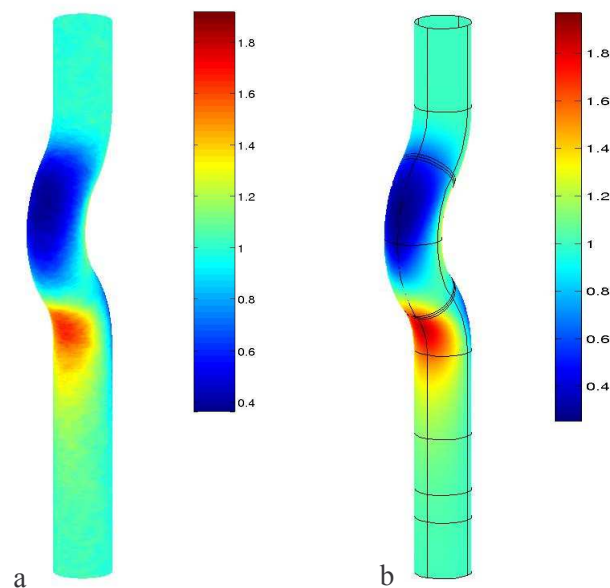


Figure 4.20. Comparaison entre le modèle continu superficiel et le modèle discret probabiliste.

- (a) Distribution obtenue avec l'approche par marches aléatoires.
- (b) Distribution obtenue avec le modèle continu.

4.1.6.2 Croissance radiale en trois dimensions

Selon la loi de croissance normale de l'équation (3.30), chaque polygone est transformé en un nouveau polygone défini dans le même plan que l'ancien. On définit, pour chaque nouveau polygone, un centre (correspondant au centre du nouveau cercle approximé par le nouveau polygone). Les nouveaux centres définissent une nouvelle ligne polygonale, qui permet de réitérer la croissance. Cette méthode permet alors d'itérer plusieurs temps de croissance.

La Figure 4.21 montre un exemple d'une simulation de 7 périodes de croissance pour un arbre initialement déformé selon une géométrie expérimentale réelle qui figure en clair. On remarque qu'une telle loi, dépendant uniquement de l'auxine, permet déjà de rendre compte de la récupération des déformations. L'arbre final présente en effet une déformation largement atténuée par rapport à la situation initiale.

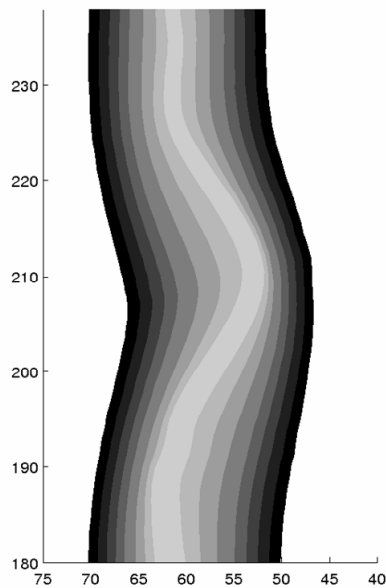


Figure 4.21. Itérations de plusieurs étapes de croissance selon la loi de croissance tridimensionnelle $\frac{d\vec{M}}{dt} = (\alpha_1 + \alpha_2 C) \vec{n}(\vec{M})$, à partir de la condition initiale colorée en clair.

4.1.7 Autres résultats

4.1.7.1 Trajectoire d'écoulement de l'auxine pour ($P1$)

La Figure 4.22 présente les profils de lignes de vitesse, calculés avec les équations de Navier-Stokes. Ces lignes sont calculées de manière à être tangentes en tout point aux vecteurs vitesses solutions des équations. Elles représentent aussi la direction du “grain pattern” (direction d'orientation des cellules cambiales) estimée par le modèle. Les équations de Navier-Stokes possèdent une propriété mathématique importante : les lignes de vitesse solutions des équations ne se croisent pas. Ces lignes peuvent donc bien représenter des alignements cellulaires. Comme déjà vu, les trajectoires dans un arbre droit sont verticales (Figure 4.22c). Dans le cas d'un arbre déformé, les lignes peuvent converger ou diverger, selon la courbure locale du tronc. Cette représentation en lignes de vitesse permet de visualiser les composantes du transport latéral d'auxine. Les convergences et divergences des lignes produisent des zones d'accumulation et de déplétion d'auxine.

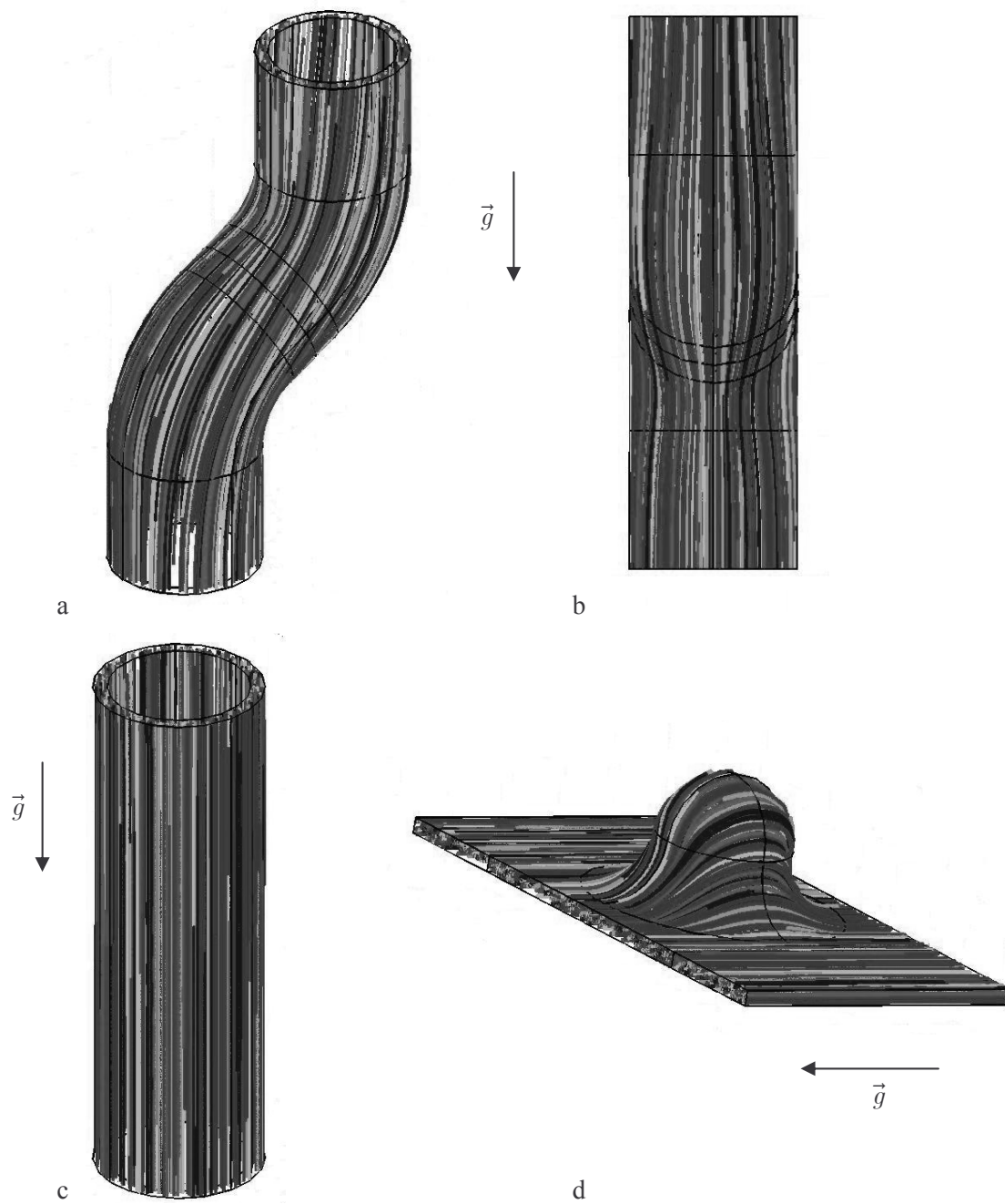


Figure 4.22. Lignes de vitesse de l'auxine calculées pour différentes géométries.

- (a) et (b) pour un arbre déformé.
- (c) pour un arbre droit.
- (d) au sein d'une concavité.

4.1.7.2 Orientations des cellules pour (P2)

La Figure 4.23 présente le même concept d'orientation, mais dans la représentation superficielle. Les trajectoires de l'IAA sont maintenant décrites par la valeur de l'angle ϕ . On a représenté la solution en angle, correspondant à la solution en concentration des Figures 4.7a et 4.7b. De la même manière, ce modèle met en évidence des zones de divergence et de convergence des trajectoires de transport de l'auxine. Par exemple, la zone rouge située en haut de l'arbre de la Figure 4.23 présente une zone où les valeurs des angles sont supérieures à $-\pi/2$. Ainsi, les directions de transport divergent légèrement vers l'extérieur par rapport à la direction longitudinale définie par $\phi = -\frac{\pi}{2}$. La zone bleue correspondante est, elle aussi, une zone où les directions divergent par rapport à $-\pi/2$, puisque les valeurs des angles sont inférieures à $-\pi/2$. Les zones où l'orientation n'est pas purement longitudinale sont des zones de changement de courbure de la géométrie. De même que précédemment, ceci provoque une déplétion par divergence. En arrivant sur le haut du tore inférieur, le phénomène est inversé, ce qui provoque un retour à une distribution homogène d'auxine.

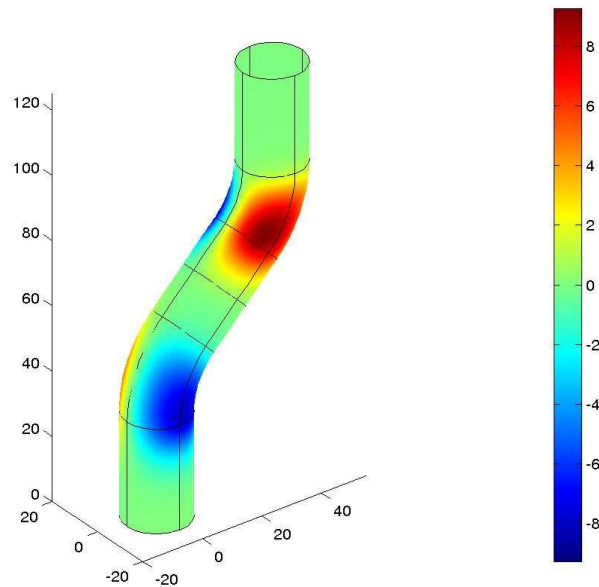


Figure 4.23. Distribution de l'orientation angulaire des cellules cambiales, calculée en degré d'angle, relativement à la valeur de $90^\circ : \left(\frac{180}{\pi} \phi + 90\right)$. Echelles en cm.

4.1.7.3 Résultats de (P2) en mode non stationnaire

Le modèle (P2) peut aussi être simulé en mode non stationnaire (également appelé transitoire). On suppose, pour cela, que l'on a déformé un arbre droit de manière instantanée. On considère que l'orientation des cellules a suivi la déformation. On commence donc avec, comme situation initiale, une concentration constante et une orientation longitudinale des cellules, c'est-à-dire : $C(.,0) = \frac{j_0}{v}$ et $\phi(.,0) = -\frac{\pi}{2}$. La Figure 4.24 montre l'évolution temporelle du profil de la concentration normalisée d'auxine sur la coupe (5) définie sur la Figure 4.8, dans les mêmes conditions de paramètres. L'hétérogénéité se forme progressivement à partir de l'homogénéité initiale, en tendant vers l'hétérogénéité d'équilibre présentée dans la Figure 4.8. Le modèle en mode non stationnaire rend ainsi compte de la formation progressive des zones de déplétion et d'accumulation (Figure 4.24).

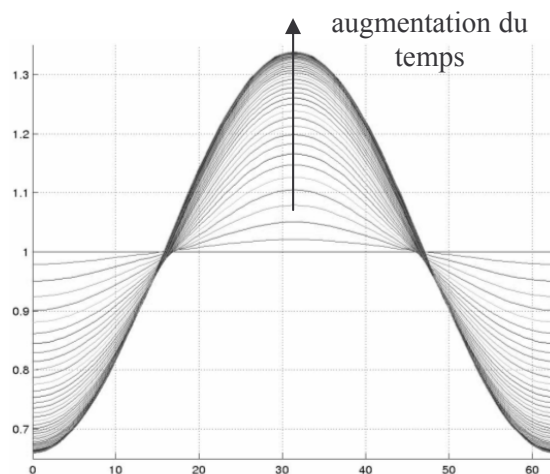


Figure 4.24. Evolution temporelle de la concentration normalisée d'auxine.
(en fonction de l'abscisse curviligne de la section).

4.1.7.4 Analyse des paramètres pour (P2)

Le temps de calcul nécessaire pour une simulation de (P2) est suffisamment faible, pour pouvoir engager facilement une étude de robustesse du modèle. L'interface entre les logiciels Matlab[®] et Femlab[®] permet de lancer en boucle les calculs, en variant progressivement les valeurs de certains paramètres. Nous présentons ici plusieurs résultats de telles études en prenant pour référence l'arbre de la Figure 4.7a. Les figures de cette section présentent les concentrations d'auxine sur la section transversale (5) définie sur la Figure 4.8 selon la variation d'un paramètre spécifique. On appellera S cette section particulière, les valeurs de concentration relevées sont tracées en fonction de l'angle θ qui décrit les points de S . Ces figures prouvent que le modèle est très robuste par rapport aux variations des valeurs des paramètres.

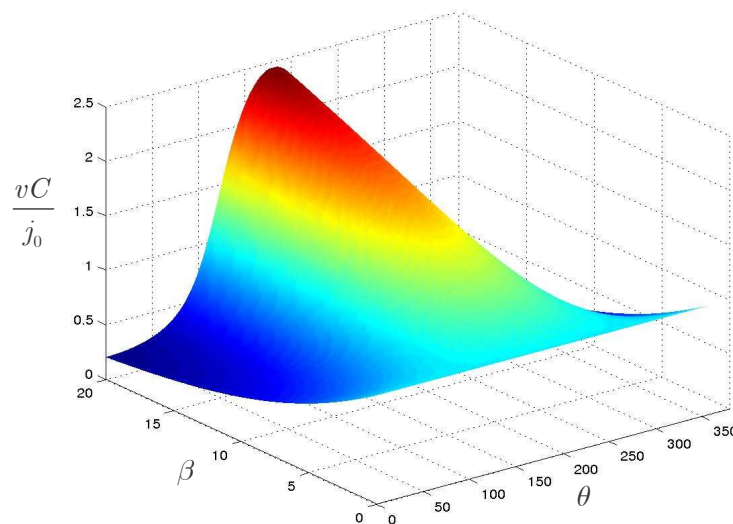


Figure 4.25. Concentration normalisée d'auxine selon la variation du coefficient de gravité β entre les valeurs 0 et 20, sur la coupe S .

Pour $\beta = 0$, la répartition est homogène car il n'y a pas d'effet de gravité. Ce résultat se généralise : pour n'importe quelle géométrie, la distribution est homogène sur toute la surface cambiale, si l'on n'inclut pas le terme de gravité. La solution est alors $\left(C = \frac{j_0}{v}, \phi = -\frac{\pi}{2} \right)$, ce qui signifie que les directions d'écoulement de l'auxine sont purement longitudinales. D'une manière générale, l'intensité de l'hétérogénéité augmente progressivement avec β .

La Figure 4.26 montre que les faibles valeurs de μ entraînent une forte hétérogénéité dans la solution, alors que les fortes valeurs de μ tendent à homogénéiser la concentration d'auxine. Ceci s'explique par le fait que le terme associé dépend du gradient de la concentration. On peut remarquer que les variations de μ , qui rendent compte de l'orientation des cellules selon le flux d'auxine, peuvent entraîner de fortes perturbations de la solution.

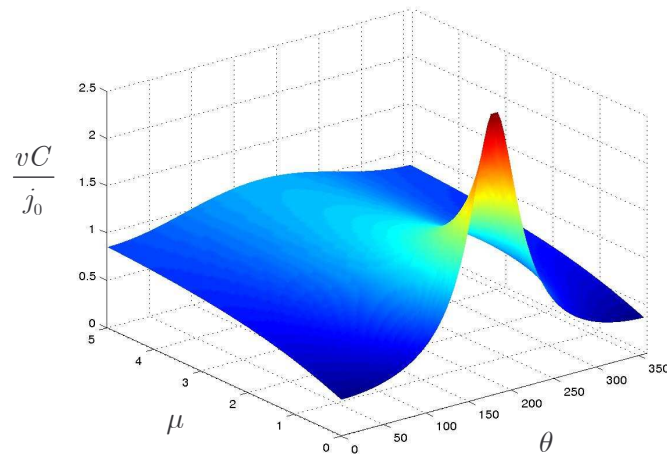


Figure 4.26. Concentration normalisée d'auxine selon la variation du coefficient μ entre les valeurs 0 et 5, sur la coupe S .

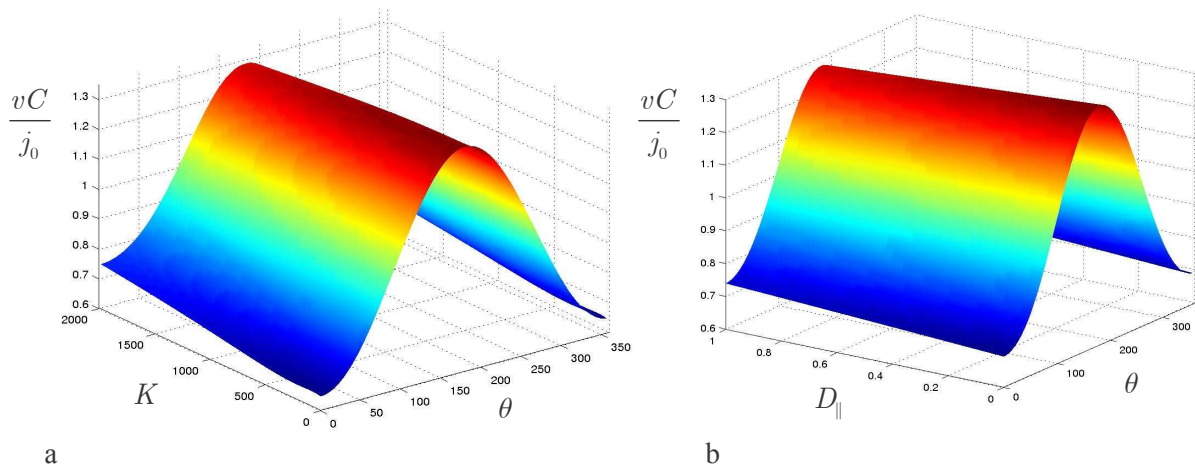


Figure 4.27. Concentration normalisée d'auxine sur S .

(a) selon la variation du coefficient K entre 0 et 2000.

(b) selon la variation de D_{\parallel} entre 0 et 1 (en imposant $\frac{D_{\parallel}}{D_{\perp}} = 5$).

Les variations de K et de D_{\parallel} affectent peu la solution, même pour une valeur nulle de D_{\parallel} , ce qui est le cas de l'absence de diffusion (Figures 4.27a et 4.27b). Ceci confirme le rôle largement prédominant du transport devant la diffusion.

On peut aussi analyser l'influence de la variation de certains paramètres géométriques sur la solution (Figure 4.28). L'augmentation du rayon de l'arbre considéré et de son angle de déformation provoque, de manière cohérente, une augmentation de l'hétérogénéité de la solution.

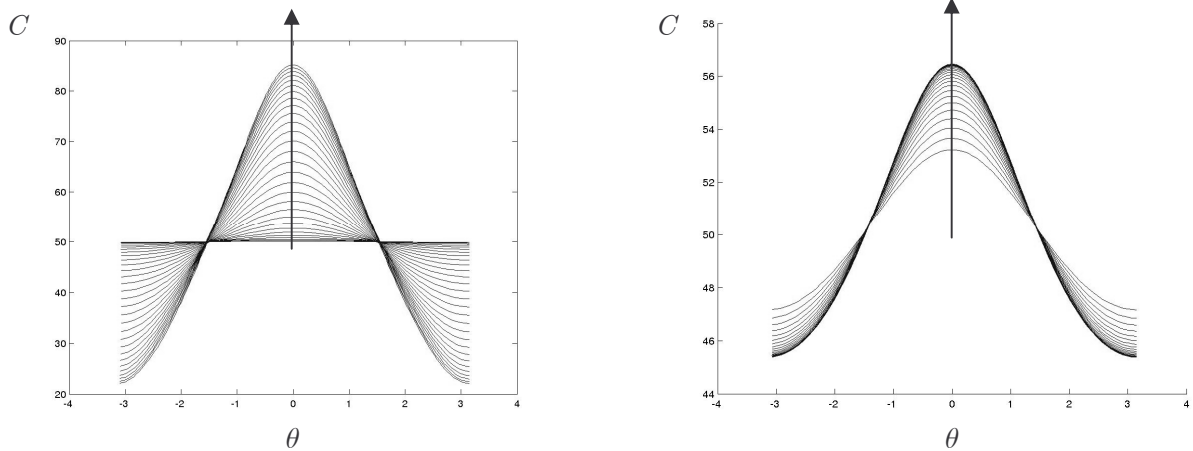


Figure 4.28. Influence de paramètres géométriques sur la solution.

(a) variation de rayon de l'arbre entre 1 et 30 cm.

(b) variation de l'angle d'inclinaison entre $\frac{\pi}{18}$ et $\frac{\pi}{2} - \frac{\pi}{18}$.

4.2 Validation

Nous synthétisons dans cette partie les éléments expérimentaux qui permettent de valider les modèles en fonction des résultats exposés précédemment.

4.2.1 Validation des distributions d'auxine

Les résultats de distribution d'auxine doivent être comparés avec des données expérimentales. Funada a mesuré, en 1990, la concentration d'auxine en certaines zones d'un conifère incliné, dans le but d'étudier la relation entre la concentration d'auxine et le bois de compression (Funada *et al.*, 1990). L'espèce choisie est le Cèdre rouge japonais. Il distingue des zones basses, hautes et latérales. La concentration d'auxine a été mesurée à deux altitudes différentes, pour un arbre incliné depuis une semaine et pour un autre incliné depuis quatre semaines (Figure 4.29).

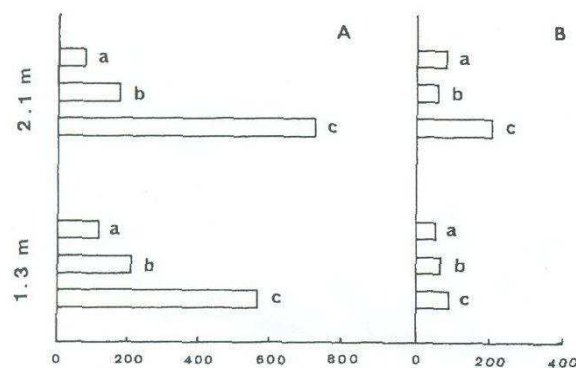


Figure 4.29. Distribution d'IAA dans la région cambiale de troncs de *Cryptomeria japonica* après inclinaison (en ng.cm^{-2}) (Funada, 1990). A : inclinaison d'une semaine, B : inclinaison de quatre semaines. a : zones basses, b : zones latérales et c : zones hautes.

En général, les valeurs de concentration mesurées sont fortes dans les zones basses, faibles dans les zones hautes et intermédiaires dans les zones latérales. Seule la mesure en zone intermédiaire pour l'arbre B ne respecte pas cette hiérarchie. L'amplitude des hétérogénéités entre les différentes zones ne varie pas linéairement : l'importance de l'accumulation en zone basse conforte l'idée d'une répartition Gaussienne suggérée par nos modèles. La variation des hétérogénéités entre les deux altitudes considérées ne peut pas vraiment être analysée en

fonction de nos résultats théoriques sans la donnée exacte de la géométrie de l'arbre utilisée. Nos résultats sont néanmoins en bonne cohérence avec les hétérogénéités expérimentales mesurées par Funada.

Selon nos connaissances, il s'agit des seuls relevés de concentration d'auxine dans le cas précis de conifères inclinés. La validation de nos prédictions d'une loi gaussienne pour la répartition d'auxine nécessite des mesures expérimentales plus précises, prises sur toute la circonférence de coupes transversales. Ces données permettraient aussi de comparer plus précisément nos deux modèles de transport.

Nous ne connaissons par contre aucune expérience permettant de se faire une idée de la répartition de l'auxine au sein de zones concaves. Là encore, nos études suggèrent de réaliser de telles mesures pour pouvoir pousser davantage la validation des modèles.

4.2.2 Validation du modèle de prolifération

Conformément aux objectifs de notre travail, la validation expérimentale du modèle de prolifération doit porter sur des données macroscopiques de croissance permettant de valider les évolutions tissulaires, ainsi que sur des données microscopiques, à l'échelle cellulaire, pour valider la modélisation des mécanismes cellulaires.

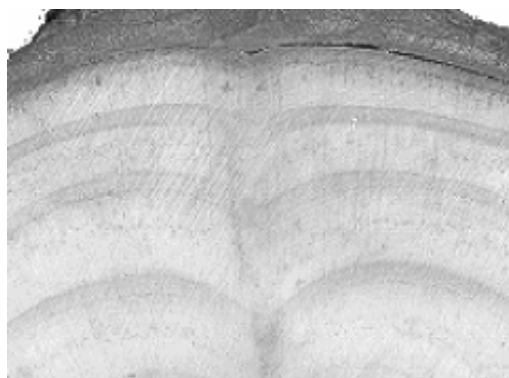
4.2.2.1 Validation macroscopique

La première validation possible pour le modèle de prolifération est donc une validation au niveau macroscopique, en comparant l'évolution de la forme globale du cambium théorique avec les délimitations des anneaux de croissance. Les limites des anneaux sont une donnée cohérente, puisqu'elles sont composées de cellules de xylème qui ont été produites sensiblement au même moment par le cambium. Elles sont donc une mémoire de la forme du cambium à un instant du développement. Cette synchronisation est observable grâce aux changements de densité cellulaire, selon la succession des périodes de croissance.

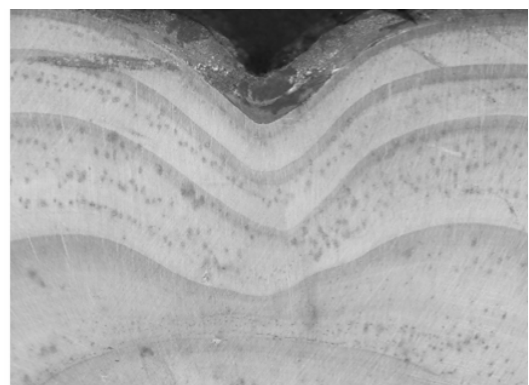
Les résultats de prolifération, selon les types de croissance, possèdent bien qualitativement une évolution de forme cohérente avec les données expérimentales macroscopiques, comme celles qui illustrent la partie 2 (Figures 2.8, 2.13, 2.15b,...). Si l'on se place dans le cas d'une croissance « normale », le modèle reproduit bien un développement concentrique du xylème. Si l'on implémente une déformation de l'arbre, le modèle reflète

bien la croissance différentielle observée, qui engendre un décentrement des anneaux de croissance selon la direction de la déformation (le taux de production de xylème est plus élevé du côté de la déformation que du côté opposé).

Enfin, si l'on considère une zone concave dans le cambium et le xylème, les simulations produisent une atténuation progressive des concavités selon le processus naturel observé, lorsque l'on utilise une fonction de répartition de l'auxine de la forme de la Figure 4.5c. Ce type de répartition se caractérise par une accumulation d'auxine au centre de la concavité et une légère déplétion sur les zones latérales. Cependant, les résultats des modèles de répartition de l'auxine montrent qu'un tel profil ne peut se trouver que dans la partie basse de la concavité, envisagée en trois dimensions. Le modèle, prédit, en effet, une distribution bien différente dans les parties hautes des concavités, avec une déplétion centrale et des accumulations au niveau des zones latérales (Figures 4.6, 4.12 et 4.13). Ce deuxième mode de distribution impliquerait alors, contrairement au processus que nous avons étudié, une intensification de la concavité. Il est cependant possible de trouver des traces expérimentales d'un tel comportement. La Figure 4.30b, toujours issue d'une coupe transversale de l'étude de F. Padilla, en donne un exemple. La Figure 4.30 établit un comparatif graphique de ces deux types de comportements concaves, au niveau expérimental, en reprenant la Figure 2.15b. Ces observations valident aussi quelque peu les résultats du modèle de transport de l'auxine au sein d'une concavité tridimensionnelle, puisque ces résultats font apparaître les deux comportements de la Figure 4.30, si on interprète les résultats de répartition de l'auxine en terme de taux de croissance radiale.



a



b

Figure 4.30. Deux développements réels de concavité.

- (a) Atténuation de la concavité.
- (b) Intensification de la concavité.

Comme l'étude des concavités n'était pas l'objectif du travail expérimental de F. Padilla, celles que l'on a observées sur certaines coupes transversales ne sont pas localisées dans leur contexte tridimensionnel, ce qui ne permet pas d'interpréter précisément le développement observé par rapport aux résultats des modèles. Il aurait été bon de pouvoir savoir si la coupe de la Figure 4.30a provenait d'une partie inférieure de concavité et celle de la Figure 4.30b d'une partie supérieure.

4.2.2.2 Validation microscopique des configurations cellulaires obtenues

Pour valider les patterns cellulaires obtenus, nous avons observé des coupes transversales de *Pinus radiata* à l'échelle cellulaire. Pour cela, nous avons utilisé une loupe binoculaire pour observer des coupes transversales obtenues précisément par l'étude sur le terrain menée par Fernando Padilla (Padilla, 2001). Les Figures 4.31 et 4.32 montrent des observations microscopiques de xylème.

Ces observations confirment que les cellules de type fusiforme sont dominantes chez *Pinus radiata*, par rapport aux cellules de rayons, comme signalé dans les hypothèses du modèle. Nous remarquons aussi que les cellules fusiformes tendent à s'aligner en file radiale. Ces configurations montrent que les cellules cambiales tendent à croître principalement selon les directions données par leurs vecteurs latéraux \overrightarrow{AC} et \overrightarrow{BD} , car, selon ces directions, les nouvelles cellules produites par division périclinale se placent dans la continuité des files existantes. Ceci justifie les deux dernières équations d'alignement du système relatif à la transition de croissance \overline{Sc} . La Figure 4.32 prouve que les cellules du xylème peuvent, en première approximation, être représentées par des quadrilatères, proches de rectangles. Elle permet aussi de constater qu'en moyenne, les cellules qui appartiennent à une même file radiale sont de dimensions homogènes (par période de croissance). Par contre, ces dimensions varient entre les files radiales.

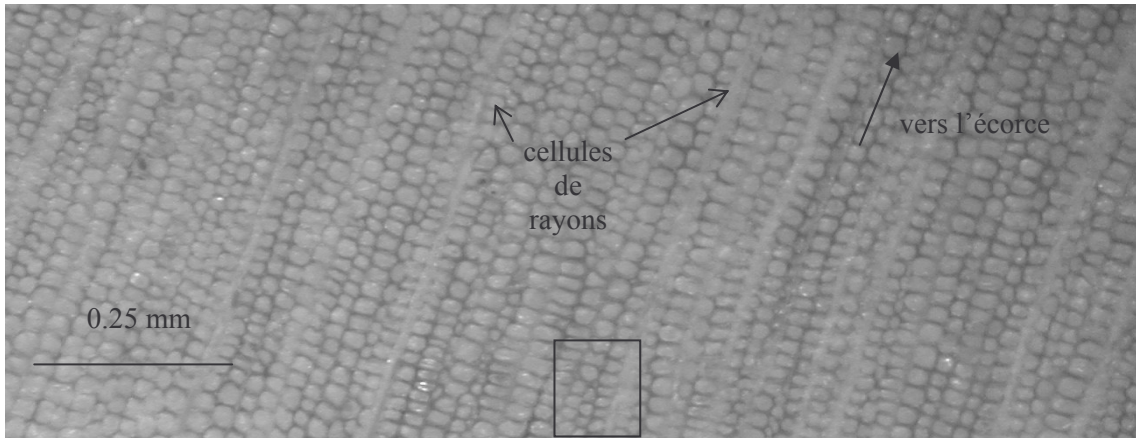


Figure 4.31. Observation microscopique d'une section de xylème d'arbre en croissance "normale".

Les divisions cellulaires sont les responsables de ces patterns. Ainsi, le contrôle spatio-temporel de ces divisions est particulièrement important. Ces observations confirment la bonne adaptation du critère de Thom pour décider de l'occurrence des divisions cellulaires. En effet, les cellules appartenant à une même file radiale conservent sensiblement, à travers les générations cellulaires, la valeur de leur périmètre utile p , par division péricleinale. Ainsi, du fait du critère de Thom, l'aire de ces cellules sera quasiment constante, égale à $\Delta = \frac{p}{\tau}$. De plus, pour une file radiale produite par une cellule cambiale de petit périmètre utile, cette même relation montre que l'aire des cellules constitutives est plus petite. Le critère de Thom rend ainsi bien compte des dimensions cellulaires. D'une manière générale, nous observons aussi que les dimensions des cellules cambiales sont assez variables. Nos simulations permettent de générer une variabilité acceptable dans les dimensions des cellules, bien que la situation initiale soit composée de cellules homogènes en taille.

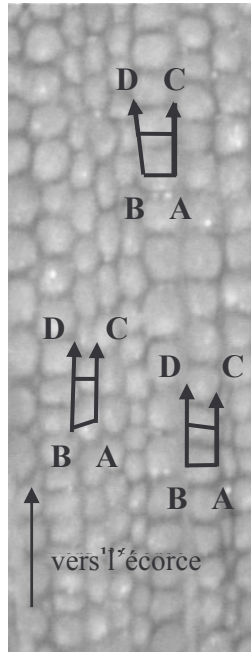


Figure 4.32. Exemple de configuration normale du xylème en files radiales.

La Figure 4.33a présente un zoom de la zone encadrée de la Figure 4.31. Nous pouvons superposer un pattern de quadrilatère sur cette partie zoomée pour approximer les délimitations des cellules du xylème (Figure 4.33b). Nous observons ainsi clairement la mise en évidence expérimentale du phénomène d'élimination.

Sur la Figure 4.33b, les flèches en pointillé mettent en évidence que, localement, le xylème était arrangé en trois files radiales, puis s'est réarrangé en deux files seulement. La file centrale (au moment où l'on compte trois files radiales) s'achève par une élimination du cambium de sa dernière cellule. Le réarrangement du cambium en deux files jointives est assez rapide, puisqu'il s'établit en une génération cellulaire seulement. Cette élimination est, semble-t-il, la cause du développement des deux files voisines, qui contraignent fortement la file centrale par action de forces de contact. Les contraintes ont pour effet de diminuer progressivement la valeur du périmètre utile des cellules créées dans la file centrale. Cette Figure 4.33b est à comparer avec les résultats de simulations où apparaît le phénomène d'élimination. La Figure 4.33c présente un tel exemple. Dans ce cas théorique, l'élimination est causée par la diminution progressive du périmètre utile, jusqu'à ce qu'il atteigne une valeur inférieure au seuil d'élimination τ_E du modèle. La Figure 4.33 met ainsi en évidence une bonne corrélation entre le scénario réel d'élimination cellulaire et le scénario simulé.

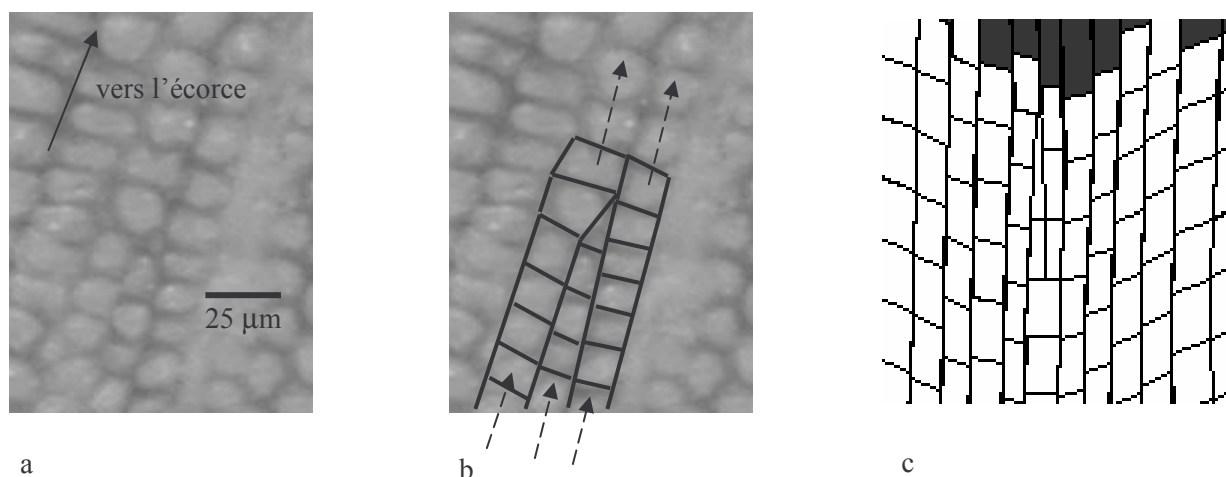


Figure 4.33. Événement d'élimination cellulaire.

- (a) zoom d'une partie de la Figure 4.31.
- (b) superposition d'une grille quadrilatérale.
- (c) zoom de la Figure 4.19b qui présente une élimination théorique.

Un autre critère important de validation est l'estimation des fréquences de chaque événement. Bannan a estimé que les cellules initiales fusiformes de l'espèce *Chamaecyparis* se divisent de manière anticlinale environ chaque 100 divisions et que, pendant une année, environ 400 divisions périclinales interviennent par file radiale. Nos simulations reproduisent le même ordre de grandeur pour la fréquence des divisions anticlinales. Nous estimons aussi, sur nos figures expérimentales, que, si l'on considère 100 files radiales de 6 cellules de longueur, deux d'entre elles présentent une élimination. Ceci confirme que le nombre de cellules dans le cambium est le résultat d'une compétition importante entre les éliminations cellulaires et les divisions anticlinales. Ces divisions anticlinales doivent cependant être plus nombreuses que les éliminations, pour assurer une augmentation du nombre de cellules et pallier ainsi l'augmentation en périmètre. Le présent modèle est capable de générer le phénomène d'élimination, mais les simulations présentées dans la partie 4.1 possèdent des fréquences d'élimination plus faibles que les fréquences expérimentales. De plus, les éliminations apparaissent en grande majorité dans les zones concaves et pas assez dans les zones « normales ». Cependant, nous pouvons, avec le modèle actuel, augmenter le nombre d'éliminations, en augmentant la force de l'effet de compétition présent dans la transition $\overline{\mathfrak{S}m}$. Nous pouvons le faire en modifiant le coefficient de maintenance ou en remplaçant la loi actuelle par une loi non-linéaire. Ce nombre d'éliminations peut aussi être augmenté en réhaussant la valeur du seuil d'élimination.

Pour ce qui est de la récupération des concavités, nous observons que, contrairement à ce que l'on aurait pu croire, les cellules situées dans les zones concaves ne semblent pas nettement plus sensibles que les autres aux contraintes mécaniques pouvant entraîner des éliminations (Figure 4.34). Ceci signifie, conformément aux résultats théoriques, que le phénomène de récupération semble principalement dû à des taux de croissance différentiels dans les zones concaves et à un réarrangement des formes des cellules sous l'effet de la compétition pour l'espace. L'événement d'élimination cellulaire joue un rôle plus mineur, quoique sans doute plus présent dans les zones concaves que dans les zones convexes.

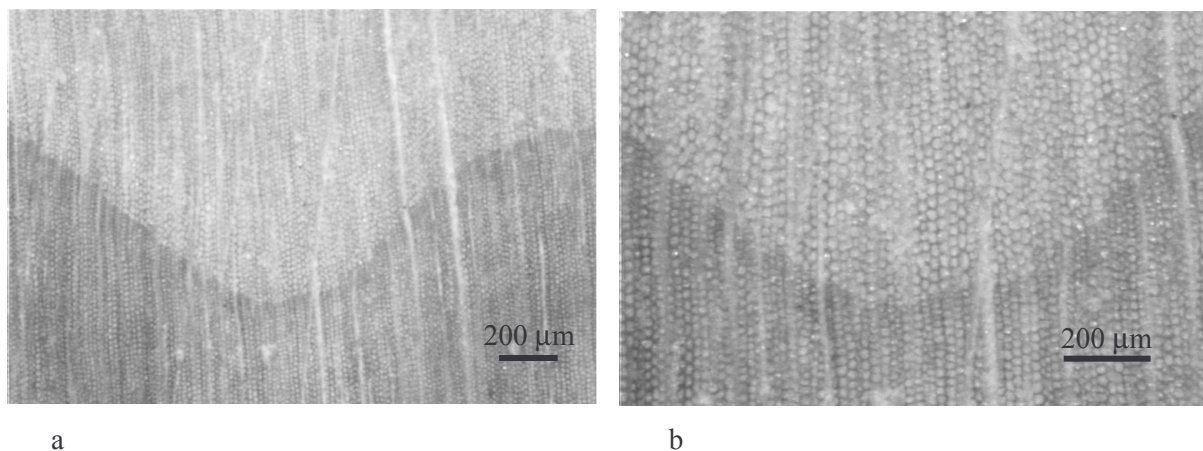


Figure 4.34. Observations microscopiques d'une zone concave selon deux valeurs de grossissement.
 (a) vue globale.
 (b) zoom sur le centre de la concavité.

La Figure 4.34 a été réalisée dans le cas d'une concavité en récupération. Nous n'avons pas de données microscopiques pour le deuxième type de concavité. Une telle observation devrait permettre d'identifier un fort taux d'élimination cellulaire, puisque, comme décrit précédemment, l'évolution, tend, dans ce cas, à intensifier la concavité, le potentiel important de croissance des zones latérales « enfermantes » progressivement la zone centrale.

Ces observations microscopiques nous ont donc permis d'étudier les configurations cellulaires du xylème. Les agencements cellulaires observés ont servi à justifier l'expression de la plupart des lois de transition utilisées. Une validation plus poussée des patterns cellulaires de développement nécessiterait plus de données microscopiques, notamment pour

étudier les récupérations des zones concaves. D'après nos résultats théoriques, ces récupérations semblent se réaliser selon plusieurs scénarios, en fonction de la position du plan d'observation de la concavité dans la concavité tridimensionnelle, ceci devant se refléter au niveau cellulaire par des fréquences différentes des événements qui affectent les cellules cambiales.

4.2.3 Validation de la croissance radiale en trois dimensions

Nous pouvons également discuter de la validité des simulations proposées pour la loi de croissance 3D liée à l'auxine. Le procédé décrit dans la partie 3.3 permet d'obtenir une bonne approximation des différents volumes annuels de croissance de *Pinus radiata*. La Figure 4.35a est une photographie d'un *Pinus radiata* réel, qui présente une déformation à une hauteur de 2 mètres, causée par le parasite *Rhyacionia buoliana*. La Figure 4.35b est la reconstruction informatique des années de croissance de cet arbre selon la méthode de Cominetti *et al.* (2002), détaillée dans la partie 2.2. Huit années de croissance sont ainsi reconstruites. A partir de cette reconstruction, les volumes annuels de croissance sont calculés. La Figure 4.35c est le résultat de la simulation de la croissance radiale en trois dimensions. La condition initiale, représentée en très clair, est la géométrie initiale de l'arbre reconstruit, approximée par une surface conique. Les taux de croissance vectoriels, en tout point de la surface, sont déterminés par notre loi de croissance (3.30). Pour chaque année de croissance, le volume de croissance théorique est ajusté au volume de croissance expérimentale. Nous pouvons ainsi comparer la répartition des volumes.

Il est à noter que l'apparence externe de l'arbre à l'époque où a été prise la photographie de la Figure 4.35a ne préfigure pas l'amplitude de la déformation initiale subie par l'arbre. En effet, huit années de croissance ont eu pour effet la récupération progressive d'une forme plus cylindrique, par croissance différentielle. Nos simulations, bien que mettant en jeu une loi de croissance extrêmement simple, permettent d'approcher significativement l'historique expérimental de croissance (Figures 4.35b et 4.35c). Ces résultats valident aussi les répartitions d'auxine calculées.

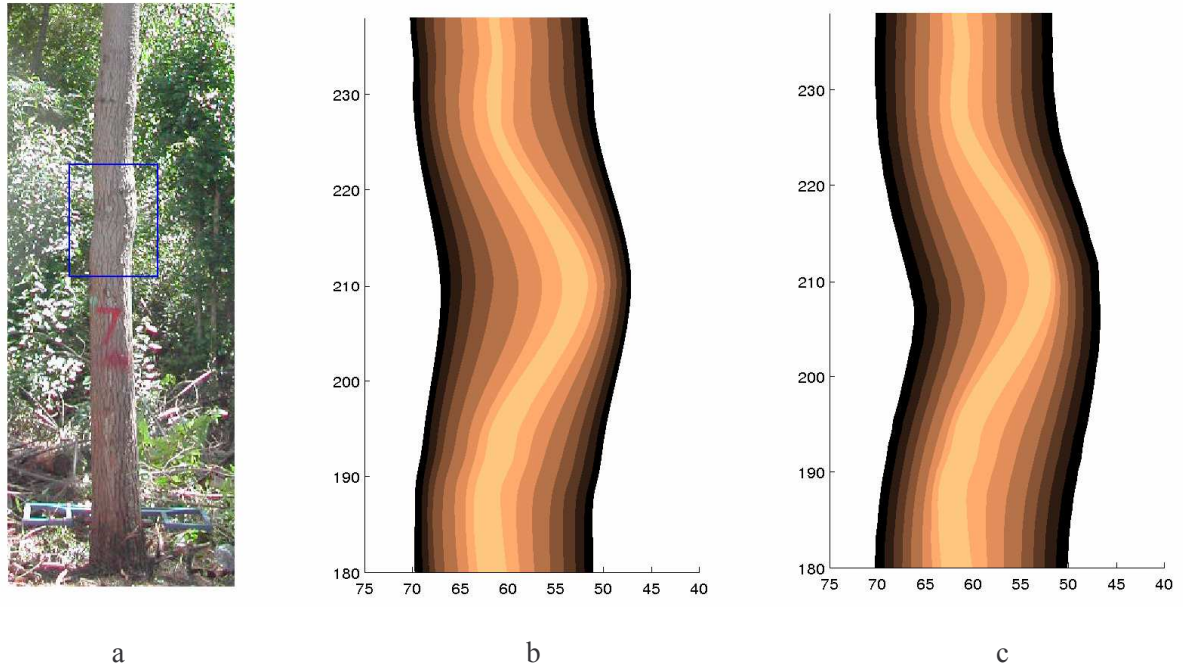


Figure 4.35. Croissance en trois dimensions.

- (a) photographie d'un arbre présentant une déformation.
- (b) reconstruction informatique de l'historique de croissance de la portion encadrée de (a).
- (c) simulation de la loi de croissance dépendante de l'auxine.

5 DISCUSSION

Tables des matières

5.1	Conclusion et discussion	180
5.2	Perspectives	184
5.3	Bibliographie	192

Table des illustrations

Figure 5.1.	Illustration du concept du modèle du drapeau français de L. Wolpert.	186
Figure 5.2.	Profil de la concentration radiale de l'IAA	186
Figure 5.3.	Connexions et perspectives de connexions entre les modèles.	191

5.1 Conclusion et discussion

Le but de ce travail a été de développer un modèle cellulaire de la croissance radiale secondaire des conifères, pour expliquer comment le comportement de chaque cellule s'intègre en un mouvement cohérent global de morphogenèse. Les cellules sont affectées d'une loi de comportement au sein d'un modèle discret de prolifération. Ce modèle peut être considéré comme un système dynamique discret, un automate cellulaire généralisé ou encore un modèle multi-agents ou événementiel. Il appartient, en tout cas, au champ des systèmes complexes. Chaque cellule du cambium croît en tendant à maintenir sa forme. Elle peut aussi se diviser ou être éliminée. Les divisions cellulaires du cambium peuvent être soit anticlinales, soit périclinales. Le premier type assure une augmentation du nombre de cellules cambiales, pour faire face à la croissance du périmètre de l'arbre par croissance radiale. Le deuxième type assure la production du xylème. Ce modèle rend compte des principales caractéristiques de la dynamique cambiale et de la production de xylème.

Les comportements cellulaires sont contrôlés localement et globalement. Le contrôle local est de type mécanique. Il s'agit de la propriété de maintenance de forme, qui transcrit une résistance des cellules à la déformation (par compression ou par dilatation) et des relations de voisinages. Le contrôle global est hormonal : les taux de croissance des cellules du système discret sont calculés en fonction de la concentration d'un promoteur chimique de croissance, l'hormone acide indole-3-acétique ou IAA. Ce contrôle nécessite l'élaboration d'un modèle basé sur le transport de cette hormone dans le cambium, représenté en trois dimensions pour avoir accès à sa concentration sur la section étudiée. Ce modèle est décrit selon un formalisme continu, par des systèmes d'équations aux dérivées partielles. Il s'agit en effet de modéliser l'écoulement de l'hormone qui est produite en permanence au sommet de l'arbre. Le formalisme discret a été utilisé au préalable, car tous les phénomènes cellulaires envisagés précédemment mettent en jeu des échelles de temps longues. Le transport de l'auxine est mis en équation, en s'appuyant sur des modèles préalables comportant au mieux deux dimensions. Nous proposons deux extensions, qui permettent de décrire ce procédé dans une géométrie tridimensionnelle. Les modèles comportent toujours une équation de diffusion-transport, où le transport est dirigé selon le grand axe des cellules cambiales. La dynamique d'orientation de ces cellules est modélisée, soit par une équation de fluide soumis à la gravité, soit par une équation d'orientation dépendante des directions de flux d'auxine, des cellules voisines et de la gravité. Les équations d'orientation permettent notamment d'inclure la

possibilité de réorientation latérale du flux d'auxine, essentielle dans la médiation du tropisme gravitropique par l'IAA.

La combinaison des modèles discret et continu forme un système hybride capable de simuler la croissance radiale secondaire dans une section transversale. Bien que s'appuyant sur de nombreuses simplifications, ce système permet de simuler la dynamique du cambium, la production du xylème et le transport de l'auxine, en prenant en compte leurs principales caractéristiques. Il a été appliqué à plusieurs cas expérimentaux de croissance observés par l'étude sur le terrain de Padilla (Padilla, 2001). Différents scénarios de croissance ont été étudiés, tout d'abord, la croissance en anneaux concentriques, observée pour des arbres sans déformation particulière. Nous avons également considéré des cas de croissance pathologique, liés à l'action d'un parasite qui provoque des déformations de l'arbre. Ces déformations entraînent des perturbations de la direction du tronc de l'arbre par rapport à la verticale. L'arbre met alors en place des stratégies de compensation des déformations par gravitropisme : il distribue son potentiel de croissance de manière à atténuer ses déformations. Enfin, nous avons également étudié le cas de l'élagage d'une branche, qui provoque une importante concavité au sein du cambium. Là encore, on remarque expérimentalement une réaction de l'arbre, qui a tendance, le plus souvent, à croître de manière à résorber cette concavité.

Les résultats obtenus pour la distribution de l'auxine et les patterns cellulaires ont pu être validés. Déjà, les simulations sont toujours cohérentes avec les variations des paramètres. Par exemple, l'hétérogénéité prédite pour la répartition de l'auxine s'intensifie en fonction du poids du coefficient de gravité, le terme de diffusion est de moindre importance devant celui du transport actif, etc... Les résultats de répartition hétérogène de l'auxine pour des arbres déformés sont en accord avec les valeurs expérimentales existantes. De plus, le scénario d'apparition de l'hétérogénéité est cohérent avec la théorie existante dominante : la gravité affecte l'orientation des cellules cambiales. Ceci provoque l'existence d'une composante latérale du flux d'auxine qui, à son tour, engendre des zones d'accumulation ou de déplétion de l'auxine. Notre modélisation permet notamment de généraliser le concept de croissance radiale contrôlée par l'auxine, en montrant que cette théorie est aussi adaptée à des cas de croissance pathologique. Il s'agit du premier modèle produisant un cadre capable de traiter des situations plus complexes que celle d'un arbre présentant une symétrie de révolution. Cette généralisation à des cas asymétriques a été nécessaire pour traiter des cas pathologiques

réels. Ce modèle permet de suggérer de nombreuses expériences. Peu de données sur la concentration d'auxine ont été produites dans le cas de croissances pathologiques. Une validation plus poussée de ce modèle nécessite des mesures complètes, pour savoir si la répartition expérimentale de l'auxine sur la périphérie de l'arbre suit les distributions de type gaussien prédites par la théorie. Ces données permettraient d'adapter les paramètres et les termes des équations, pour mieux représenter la réalité. Il serait aussi très important d'avoir des données de concentration d'auxine dans des zones concaves. A l'heure actuelle, nous ne connaissons pas de telles données, qui permettraient de décider si la répartition différentielle d'auxine est toujours le principal facteur de récupération.

Les comportements cellulaires observés ont été comparés à des observations microscopiques de xylème. L'état du xylème reflète effectivement un état passé du cambium. Là encore, les comportements théoriques sont en accord avec les comportements réels observés, ce qui permet de justifier la construction des règles de comportement cellulaire. Nous retrouvons, dans les observations microscopiques, les tendances d'alignements cellulaires théoriques, les scénarios menant à des éliminations cambiales, les fréquences de divisions anticlinales, la tendance à un retour rapide à la continuité pour le cambium, la diversité des formes des cellules cambiales,... Ce modèle est capable de déterminer des patterns de prolifération, même pour des géométries très concaves, comme dans les cas d'élagage. Ceci est rendu possible grâce à la stabilité du modèle, qui peut prendre en compte un taux élevé d'éliminations cellulaires.

Cette modélisation offre donc un cadre stable pour la croissance radiale secondaire et prend en compte les composantes principales du phénomène. L'implémentation choisie pour le modèle permet d'inclure facilement des améliorations. Nous pensons notamment à une interface possible avec des modèles cherchant à prévoir quantitativement les volumes de croissance en fonction de la température, du climat, de la lumière,...

Nous proposons aussi, en marge du système hybride, des simulations de la croissance radiale en trois dimensions. Nous employons, dans ce cas, le terme de simulation plutôt que de modèle, car il s'agit simplement de l'itération d'une loi de croissance fondée sur la concentration de l'auxine. Une loi affine simple est implémentée selon la direction normale de la surface qui définit le cambium : elle apporte déjà certains résultats intéressants. Elle permet de reproduire qualitativement le procédé de récupération des zones déformées, conformément

aux historiques de croissance expérimentaux d'un arbre déformé. Il s'agit d'un premier pas vers un modèle où la croissance serait générée par un cambium entièrement tridimensionnel. Les lois d'évolution d'un tel cambium doivent alors être justifiées par les comportements cellulaires du modèle de prolifération et alimentées par un modèle d'auxine incluant l'hétérogénéité radiale de sa concentration. Les mécanismes cellulaires peuvent être intégrés dans des lois continues si, par exemple, l'intensité de la compétition entre les cellules pour se développer est reliée à un terme dépendant de la concavité de la géométrie. Les résultats du modèle discret montrent que, plus la concavité est importante, plus l'espace est confiné et plus forte est la compétition cellulaire. De même, le taux spatial de division périclinale doit être mis en relation avec l'augmentation locale du rayon de l'arbre et le taux de division anticlinale avec l'augmentation de sa circonférence. Ce modèle doit aussi être fortement amélioré par des considérations biomécaniques, qui jouent aussi un rôle essentiel. Dans les zones concaves, les directions normales de croissance convergent : les cellules entrent fortement en compétition pour l'espace de développement. Dans ce cas, les aspects biomécaniques pourront déterminer des directions de croissance plus réalistes, principalement normales, mais avec une composante divergente résultant de la compétition.

Le modèle de transport de l'auxine devrait aussi, lorsque les avancées biologiques le permettront, intégrer le métabolisme de l'auxine, en incluant des termes de production et de consommation de l'hormone dans l'équation de diffusion-transport, notamment si l'on prouve que les cellules cambiales interviennent dans le métabolisme de l'auxine. Sous cette hypothèse, il semblerait que l'accumulation d'auxine puisse aussi être le fruit d'une synthèse plus rapide d'auxine par stimulation gravitropique comme évoqué par Funada (Funada *et al.*, 1990). Nous pourrions aussi inclure l'auxine dans un réseau métabolique (voir génétique), en considérant des réactions chimiques entre l'auxine et d'autres composants, et ainsi complexifier les relations de régulation, en intégrant des régulations conjointes entre l'auxine et d'autres hormones, comme par exemple les interactions auxine-éthylène (Eklund, 1995). Comme invoqué dans l'introduction, ces interactions auxine-éthylène pourraient être un médiateur de l'alternance de la densité cellulaire, selon les changements de saisons de croissance.

5.2 Perspectives

Nous citons ici, par thème, plusieurs perspectives de travail sur la modélisation de la croissance radiale et le transport de l'IAA. Nous détaillons, lorsque cela est possible, comment les nouveaux éléments peuvent s'intégrer dans les modèles existants.

Validation des répartitions d'auxine

Comme mentionné dans la partie 4.2.1, la modélisation de la répartition de l'auxine nécessite une validation expérimentale plus précise. La confrontation avec les résultats existants est encourageante, mais ces résultats sont peu nombreux et pas entièrement adaptés à notre cas. Notre étude demande des relevés de concentration multiples, pour différentes géométries. Une perspective importante est la collaboration avec des biologistes capables de fournir de telles données.

La dimension radiale

Une limite commune, présente dans tous nos modèles, est de ne jamais considérer la dimension radiale du cambium. L'importance de cette composante est mise en valeur par Uggla (Uggla *et al.*, 1996 et 1998) (Figure 5.2). Dans le modèle discret, le cambium possède une seule cellule d'épaisseur. Dans le modèle ($P2$), formulé sur un domaine $\bar{\Omega}$, le cambium n'a pas d'épaisseur et est représenté par une surface. La seule formulation qui considère une épaisseur cambiale est ($P1$), mais l'hétérogénéité de l'auxine selon cette épaisseur n'est pas vraiment considérée : la diffusion homogénéise la concentration d'auxine selon cette direction, car l'épaisseur est très faible. La question est donc de savoir comment modéliser le transport de l'auxine en trois dimensions, en prenant en compte son hétérogénéité radiale. La conservation de l'hétérogénéité tout au long du transport nécessite une diffusion extrêmement faible ou alors un terme de production cambial, qui alimenterait les hétérogénéités. Ceci dépend toujours de l'existence ou non de sources locales de production de l'IAA par les cellules cambiales. Si, par exemple, seules les cellules cambiales initiales produisent de l'IAA, l'intensité du gradient radial d'IAA serait renforcée puisque ces cellules sont situées près du centre du cambium.

Un modèle de prolifération amélioré doit ainsi présenter un cambium plus réaliste, multi-colonnes, régulé notamment par le gradient radial de l'auxine. Une telle approche permettrait de prendre en compte les voies de différenciation progressive des cellules

produites, vers le phloème ou le xylème. Elle prendrait aussi en compte les étapes de croissance cellulaire, de formation de second mur cellulaire,... Un premier pas consisterait à élaborer et à tester un système de régulation basé sur l'auxine, pour un cambium multi-colonnes « droit », sans se préoccuper des aspects mécaniques.

Si l'on se donne un profil gaussien d'auxine sur une dimension radiale (Figure 5.2), on peut affecter un taux de croissance en aire des cellules dépendant de la quantité d'auxine et ainsi permettre à toutes les cellules cambiales de croître. La différence des profils radiaux selon les saisons de croissance expliquerait alors la succession de périodes de forte croissance et de faible croissance : le gradient de la période de forte croissance présente une zone pic plus étendue que celle du gradient de faible croissance. Ainsi, plus de cellules sont en croissance dans le premier cas, ce qui expliquerait les différences de taux de croissance selon les périodes. Nous pouvons alors mettre en relation le coefficient k_s de la loi de Kramer (2.1) avec l'étendue du gradient radial d'auxine.

Nous pouvons aussi définir une dépendance entre le seuil critique de division et la concentration en auxine, de manière à favoriser la division pour les cellules initiales (situées sous le maximum d'auxine) et au contraire la défavoriser pour les cellules proches du xylème et du phloème. On respecte ainsi le fort pouvoir de division des cellules initiales par rapport aux cellules plus périphériques. De plus, ceci permettrait de simuler des cellules initiales fines et des cellules périphériques qui s'épaississent progressivement par croissance.

Nous pourrions également décider de déclencher la différenciation des cellules cambiales en cellules de xylème ou de phloème, lorsque la concentration d'auxine est inférieure à un certain seuil. Ce genre de critère constitue un procédé bien connu pour prendre en compte la différenciation cellulaire. Lewis Wolpert, dans sa théorie du « french flag model » (modèle du drapeau français), met en scène l'alignement d'une population de cellules souches pouvant se différencier selon trois états : « bleu », « blanc » ou « rouge » (Wolpert, 1968 ; Wolpert *et al.* 2002). Cette population est exposée à la concentration d'un morphogène, qui décroît de la gauche de la population vers la droite (Figure 5.1). Selon ce modèle, les cellules interprètent la concentration de morphogène, qui constitue un signal de différenciation. Ce modèle est une illustration du concept d'information de position, de Wolpert, déjà évoqué dans l'introduction générale. La « couleur » de la voie de la différenciation est choisie selon le franchissement ou non de deux seuils de concentration (« thresholds »). On observe alors une juxtaposition des trois populations « bleu », « blanc » et « rouge ». Le même concept pourrait être utilisé pour la différenciation cambiale en prenant l'auxine pour morphogène et en utilisant un seul seuil.

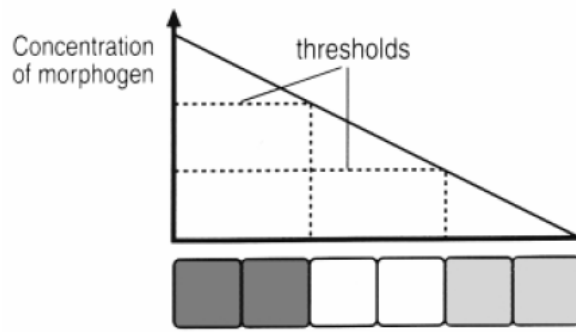


Figure 5.1. Illustration du concept du modèle du drapeau français de L. Wolpert.
(Figure issue de (Wolpert, 2000)).

En ajoutant ce critère de différenciation, la différence de forme des gradients radiaux d'auxine expliquerait non seulement l'alternance des taux de croissance selon les saisons, mais aussi l'alternance de densité. En effet, en basse saison, moins de cellules seraient en croissance et davantage seraient en voie de différenciation. Les cellules seraient ainsi moins longtemps en étape de croissance, ceci ayant pour effet de former des cellules de xylème plus petites.

Nous devons aussi inclure un autre signal pour décider entre une différenciation en xylème ou en phloème, un signal global ou une signalisation locale par voisinage cellulaire. La partie 6.4, montre justement que la signalisation par voisinage peut rendre compte correctement de la différenciation spécifique.

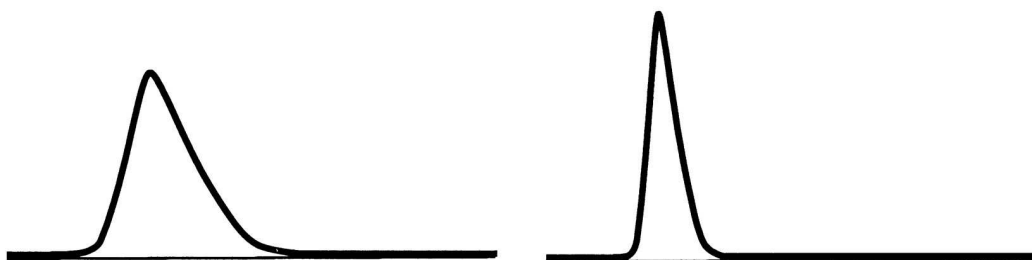


Figure 5.2. Profil de la concentration radiale de l'IAA, étudié par Uggla (Uggla *et al.*, 2001).
A gauche, le profil en période de forte croissance, à droite le profil en période de faible croissance.

Structure du bois

Une autre perspective serait de prendre en compte plus précisément les différents types cellulaires du bois. Nous pourrions, par exemple, considérer la production du phloème qui d'ailleurs, pour certaines espèces d'arbres, n'est pas négligeable devant la quantité de xylème. Pour cela, il faudrait distinguer les trois issues possibles pour les cellules naissant d'une division périnclinale : rester dans le cambium, entamer une voie de différenciation vers le xylème ou enfin entamer une voie de différenciation vers le phloème. La manière la plus immédiate pour le faire serait, à l'image du choix du type de division (périnclinal ou anticlinal), de décider du type de cellules produites, grâce à un critère de probabilité respectant les proportions relatives de xylème et de phloème.

Nous pourrions aussi compléter le détail de la structure du bois en intégrant les cellules de rayons. Il serait possible d'obtenir de telles cellules grâce au modèle actuel, en considérant deux familles de cellules cambiales. Une première famille majoritaire serait caractérisée par un seuil critique de division τ_{C_1} , alors qu'une deuxième famille serait affectée d'un seuil τ_{C_2} , plus faible, permettant de générer des cellules allongées selon la direction radiale.

Biomécanique et bois de compression

Une amélioration du modèle consisterait aussi à considérer une description plus réaliste des aspects mécaniques, au niveau cellulaire, basés sur les avancées dans ce domaine. Les travaux de Watanabe visent en effet à établir certaines relations entre les modules d'Young dans les directions radiales et tangentielles et des paramètres géométriques des cellules (longueurs du mur radial et du mur axial, épaisseur de ces murs,...) (Watanabe *et al.*, 2002). Il serait bénéfique d'intégrer une loi mécanique cellulaire plus détaillée. Théoriquement, chaque cellule pourrait être affectée d'une équation des milieux continus permettant de calculer les déformations de la cellule en fonction des contraintes subies. Cette approche semble cependant impossible à mettre en pratique, à cause du trop grand nombre de cellules à gérer. Il faudrait extraire de ces lois un comportement simplifié, capable de mettre en relation les contraintes, le module d'Young de la cellule et l'effet engendré sur sa forme. Ainsi, chaque espèce cellulaire serait affectée d'une valeur de module d'Young, ces modules pouvant être estimés expérimentalement. Ainsi, avec une même loi, mais des coefficients différents, nous pourrions rendre compte de la rigidité des cellules du xylème et du caractère

plus déformable des cellules cambiales. Ceci constituerait une amélioration de la transition « maintien de la forme » utilisée actuellement.

De plus, ce formalisme permettrait aussi de caractériser le bois de compression, qui est plus dense. Ce type de bois est particulièrement important pour nos applications, puisqu'il se forme souvent lorsque l'arbre présente des déformations conséquentes.

Contrôle spatial du type de division cambiale

Dans le présent modèle, la détermination de l'orientation du nouveau mur cellulaire préfigurant la future division utilise une loi uniforme de probabilité, calculée de manière à produire le bon ratio entre les deux types de division possibles. Cette approche ne permet donc pas de localiser spatialement ces divisions. Le contrôle de cette orientation est peu étudié. Smith montre que la direction des contraintes mécaniques peut augmenter la probabilité de formation du mur selon une direction spécifique (Smith, 2001). Les aspects chimiques de ce contrôle seraient aussi à explorer. Certaines améliorations peuvent cependant être directement implémentées avec le formalisme actuel. Notre modèle répartit de manière homogène les divisions anticlinales, alors que, selon les travaux de Bannan, le rapport divisions anticlinales/périclinales augmente à la fin des saisons de forte croissance, certainement suite à l'élargissement progressif des cellules initiales du cambium (Bannan 1950 et 1955). On pourrait alors multiplier le critère de décision actuel p_C par une loi dépendant du périmètre utile p_i des cellules cambiales. En effet, p_i donne une mesure de la largeur des cellules. Si nous choisissons cette loi comme une fonction croissante de p_i , les divisions anticlinales se produiraient alors préférentiellement à la fin de la saison de forte croissance, ceci après une période où l'élargissement des cellules serait la principale réponse pour faire face à l'augmentation de la circonférence cambiale. Les conditions $(p_i \geq \tau_L)$ et $(p_i \geq 2\tau_E)$ dans l'équation (3.20) du modèle de prolifération prennent bien en compte cet effet de largeur des initiales, mais d'une manière extrêmement simplifiée : une cellule trop large se divise anticlinalement et, au contraire, une cellule pas assez large ne peut se diviser selon cette tendance. Une fonction croissante de p_i intégrerait ces conditions, si on affectait 0 comme valeur pour $(p_i = 2\tau_E)$ et une valeur élevée pour $(p_i = \tau_L)$.

Cycle cellulaire

Il serait également bénéfique d'implémenter le cycle des cellules cambiales plus précisément, en considérant toutes les phases du cycle : G1, S, G2 et M. Le critère de Thom assurerait alors seulement une condition de passage entre les phases G1 et S et la transition de division interviendrait seulement pendant la phase M de mitose.

Géométrie

Le modèle de transport de l'auxine doit être testé dans plusieurs nouveaux types de géométrie. Par exemple, il serait intéressant d'étudier des structures ramifiées pour voir si le modèle répond de manière satisfaisante aux jonctions branches-tronc.

Continuité / discontinuité du cambium

Nous souhaitons aussi, à l'avenir, étudier plus en détail les dynamiques de rupture de continuité / retour à la continuité du cambium. Pour cela, nous pouvons intégrer des obstacles empêchant localement la croissance ou alors détruire une partie des cellules du cambium. Ces scénarios permettront notamment de simuler la formation des concavités.

Tropisme

Le modèle pourrait aussi intégrer d'autres tropismes possibles, tels que le phototropisme, en incluant dans ($P2$) un nouveau terme dans l'équation d'orientation, qui serait dépendant de la direction du flux lumineux.

Informatique

Plusieurs des perspectives avancées ici nécessitent des améliorations informatiques : la prise en compte de la géométrie de cellules de rayons, la mise en place d'un cambium multi-colonnes, etc...

Le sujet pour lequel l'utilisation d'outils informatiques spécifiques est absolument prioritaire est celui de la croissance en trois dimensions du cambium. Des travaux ont commencé en collaboration avec Nancy Hitschfeld du département d'informatique de l'Université du Chili, pour mettre en œuvre des algorithmes de croissance en utilisant l'environnement Femlab[©]-Matlab[©]. Les simulations de loi de croissance réalisées jusqu'ici nécessitent une approche simplifiée du modèle et l'utilisation de géométries relativement simples. L'idée du travail se serait de communiquer avec Femlab[©], soit par Matlab[©] qui est

son « interlocuteur naturel », soit par un autre outil informatique, pour pouvoir traiter les données générées par Femlab[©]. En effet, nous voulons pouvoir lancer le calcul de résolution de (P2) sur n'importe quel type de géométrie, aussi complexe soit-il. Mathématiquement, le problème (P2) semble *a priori* avoir une solution unique, quel que soit le domaine $\bar{\Omega}$; par contre, l'implémentation d'une géométrie quelconque pose problème sous le logiciel Femlab[©]. Le passage par des outils informatiques spécialisés permettrait de définir, à partir d'un ensemble de points, un objet de la classe « objet géométrique de Femlab[©] », alors reconnu par le logiciel.

Si cette compétence est atteinte, elle permettra alors aussi d'itérer la croissance 3D en se servant de Femlab[©]. En effet, à partir d'un objet géométrique, on définit un maillage et la loi de croissance nous donne, pour chaque nœud du maillage, son correspondant par croissance. Ainsi, si l'on peut, de même que précédemment, définir un nouvel objet géométrique régulier à partir du nouvel ensemble de point, on pourra réitérer le processus de croissance. Actuellement, on est capable, à partir d'un maillage Femlab[©] et de la solution de (P2), de calculer le taux d'accroissement vectoriel à chaque sommet du maillage. Ceci nous permet donc de calculer le nouvel ensemble de point. A partir de cet ensemble, nous pouvons définir un nouveau maillage à partir de l'ancien, en changeant seulement la valeur des coordonnées des sommets, les éléments étant toujours constitués du même ensemble de nœuds. Femlab[©] est alors capable d'interpréter ce nouveau maillage comme un objet géométrique que l'on peut remailler, etc... Le problème est que ce processus engendre rapidement des raccords non réguliers entre les éléments du maillage. On rencontre, en quelques itérations, des raccords de classe seulement C^0 (où seule la continuité est assurée), qui induisent une erreur très importante dans la solution (de l'ordre de 20%, si l'on fait croître de manière homogène un cylindre initialement parfait !). Le rôle des outils informatiques serait de pouvoir, à partir d'un ensemble de points, définir un objet géométrique très régulier, comme un lissage spline de l'ensemble non régulier qui consiste à relier les points par triangulation. Un tel progrès permettrait de tester la croissance de zones concaves en trois dimensions afin d'observer l'agencement global des répartitions de croissance entre les parties hautes où la concavité se creuse et les parties basses où elle s'atténue.

Connexions entre les modèles

Beaucoup de ces perspectives résident en des connexions à réaliser, ou à améliorer, entre les modèles existants. Si l'on reprend la Figure 3.12, nous avons déjà établi les liens en

traits continus : les modèles de transport de l'auxine alimentent les taux de croissance du modèle discret et sont aussi en interaction avec les simulations de croissance radiale en trois dimensions. Idéalement, le modèle de prolifération devrait interagir avec le modèle de répartition et le modèle de croissance 3D, pour calculer la concentration d'auxine dans la nouvelle géométrie définie par croissance radiale de l'ancienne. Ceci permettrait alors de mettre à jour la nouvelle répartition d'auxine (en considérant alors la dépendance en temps de f_t), avant un nouveau calcul de prolifération cellulaire. Comme évoqué précédemment, les comportements du modèle de prolifération devraient inspirer la complexification de la loi de croissance tridimensionnelle.

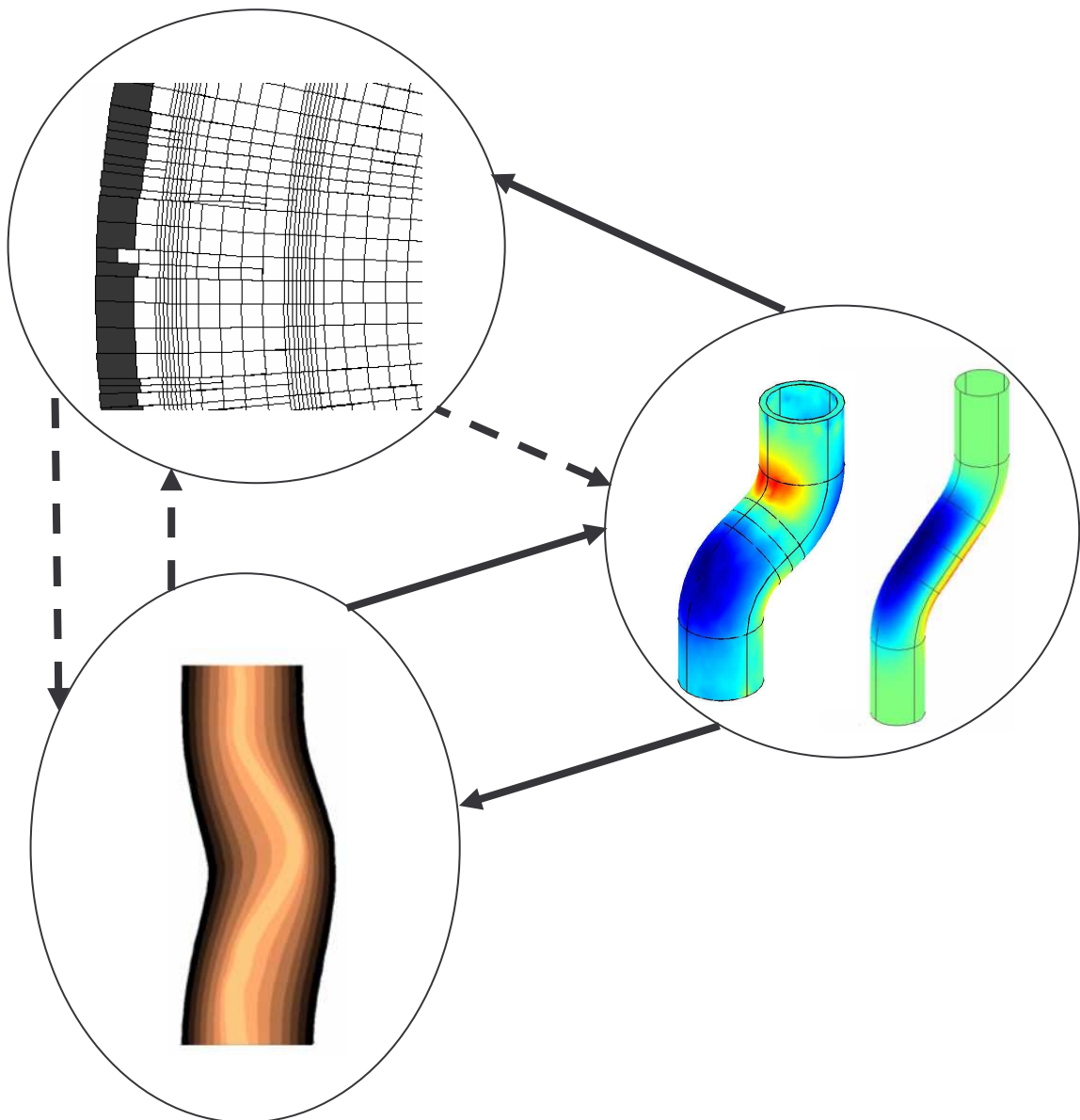


Figure 5.3. Connexions et perspectives de connexions entre les modèles.

5.3 Bibliographie

1. Adam J.A. (2003). *Mathematics in Nature : Modeling Patterns in the Natural World*. Princeton Univ. Press, Princeton.
2. Aloni, R. (2004). *The induction of vascular tissue by auxin*. In : *Plant Hormones : Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* PJ Davies (ed), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London. 471-492 pp.
3. Bamber, R.K. and Burley J. (1983). *The wood properties of Radiata Pine*. Commonwealth Agricultural Bureau. Wallingford UK, 84 pp.
4. Bannan, M.W. (1950). The frequency of anticlinal divisions in fusiform cambial cells of *Chamaecyparis*. *Amer. J. Bot.* 37, 511-519.
5. Bannan, M.W. (1955). The vascular cambium and radial growth of *Thuja occidentalis*. *Canad. J.Bot.* 33, 113-138.
6. Barlow, P.W., Brain P. and Powers S.J. (2002). Estimation of directional division frequencies in vascular cambium and in marginal meristematic cells of plants. *Cell Proliferation* 35, 49-68.
7. Barlow, P.W. and Lück J. (2004). Cell division systems that account for the various arrangements and types of differentiated cells within the secondary phloem of conifers. *Plant Biosystems* 138, 179-202.
8. Bennett, M.J., Marchant A., Green H.G., May S.T. Ward S.P., Millner P.A., Walker A.R., Schulz B. and Feldmann, K.A. (1996). *Arabidopsis* AUX1 gene : a permease-like regulator of root gravitropism. *Science* 273, 948-950.
9. Butterfield, B.G. (1975). Terminology used for describing the cambium. *IAWA Bulletin* 1, 13-14.

10. Chandebois, R (1989). *Le gène et la forme, ou la démystification de l'ADN*. Montpellier : Editions Espaces 34. Préface de René Thom.
11. Chen, R., Rosen E. and Masson P.H. (1999). Gravitropism in higher plants. *Plant Physiology* 120(2), 343-350.
12. Clare, C.E., Harberd N.P., and Leyser O. (2000). Hormonal Interactions in the Control of *Arabidopsis* Hypocotyl Elongation. *Plant Physiology* 124(2), 553-561.
13. Clem, C.J, König D. and Rigaut J.P. (1997). A three-dimensional dynamic simulation model of epithelial tissue renewal. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 19, 174-184.
14. Cominetti, R., Padilla F. and San Martín J. (2002). Field methodology for reconstruction of a *Pinus radiata* log. *New Zealand Journal of Forestry Science* 32(3), 309-321.
15. Cottet, G.H. and Maday Y. (1981). Hydrodynamic and cell division. *Lecture notes in Biomathematics.* 49, 227-235.
16. Darwin, C. and Darwin F. (1880). *The power of movement in plants*. Londres. John Murray. 591 pp.
17. Darzynkiewicz, Z., Evenson D.P., Stainano-Coico L., Sharpless T.K. and Melamed M.L. (1979). Correlation between Cell Cycle Duration and RNA Content. *Journal of Cell Physiology* 100, 425-438.
18. Davies, P.J. (1995). The Plant Hormones : Their nature, Occurrence and Functions, In : *Plant Hormones : Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology*. (Davies, P.J., Ed.). Dordrecht, The Netherlands : Kluwer Academic Publishers, 1-5 pp.
19. Demongeot, J., Thomas R., Thellier M. (2000). A mathematical model for storage and recall functions in plants. *C R Acad Sci III.* 323(1), 93-7.

20. De Reffye, P., Blaise F. and Houllier F. (1998). Modelling plant growth and architecture : some recent advances and applications to agronomy and forestry. In : *2nd International Symposium on Models for plant growth, environmental control and farm management in protected cultivation*, L.F.M. Marcelis (Ed.), Wageningen, The Netherland 25-28/08/1997. ISHS. *Acta Horticulturae*. 456, 105-116 pp.

21. De Reffye, P., Edelin C., Françon J., Jaeger M. et Puech C. (1988). Plant models faithful to botanical structure and development. In : *SIGGRAPH'88*, Atlanta (USA), 1-15 Août 1988, Computer Graphics : SIGGRAPH'88 Conference Proceedings, 22(4), 151-158.

22. Do Carmo, M.P. (1976). *Differential Geometry of Curves and Surfaces*. New Jersey. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs. 803 pp.

23. Dolk, H.E. (1936). Geotropism and Growth. *Rec. Trav. Bot. Neer*. 33, 509-585.

24. Dumas, R. (2002). *Traité de l'arbre. Essai d'une philosophie occidentale*. Actes Sud. 256 pp.

25. Edelstein-Keshet, L. (1988). *Mathematical Models in Biology*. Random House, Inc., New York, NY, 325 pp.

26. Eklund, L. and Little C.H.A. (1995). Interaction between indole-3-acetic acid and ethylene in the control of tracheid production in detached shoots of *Abies balsamea*. *Tree Physiology* 15(1), 27-34.

27. Eklund, L. and Little C.H.A. (1998). Ethylene evolution, radial growth and carbohydrate concentrations in *Abies balsamea* shoots ringed with Ethrel. *Tree Physiology* 18, 383-391.

28. Eklund, L. and Tiltu A. (1999). Cambial activity in « normal » spruce *Picea abies* Karst (L.) and snack spruce *Picea abies* (L.) Karst f. *virgata* (Jacq.) Rehd in response to ethylene. *Journal of Experimental Botany* 50(338), 1489-1493.

29. Estelle, M. (1998). Polar Auxin Transport : New Support for an Old Model. *Plant Cell* 10, 1775-1778.
30. Evans, M. (1991). Gravitropism : interaction of sensitivity modulation and effector redistribution. *Plant Physiology* 95, 1-5.
31. Forest, L., San Martin J., Padilla F., Chassat F., Giroud F. and Demongeot J. (2004). Morphogenetic processes : application to cambial growth dynamics. *Acta Biotheor.* 52(4), 415-438.
32. Forest, L. and Demongeot, J. Cellular modelling of secondary radial growth in conifer trees : application to *Pinus radiata* (D. Don). *Bull. Math. Biol. Accepted.*
33. Forest, L., Padilla F., Martinez S., Demongeot J., San Martin J. Modelling of auxin transport affected by gravity and differential radial growth. *J. Theor. Biol. Accepted.*
34. Friml, J., Wisniewska J., Benkova E. Mendgen K. and Palme K. (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature* 415, 806-809.
35. Funada, R., Mizukami E., Kubo T., Fushitani M. and Sigiyaama T. (1990). Distribution of Indole-3-acetic acid and compression wood formation in stems of inclined *Cryptomeria japonica*. *Holzforschung* 44, 331-334.
36. Funada, R., Kubo T., Tabuchi M., Sugiyama T. and Fushitani M. (2001). Seasonal Variations in Endogenous Indole-3-Acetic Acid and Abscisic Acid in the Cambial Region of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. Stems in Relation to Earlywood-Latewood Transition and Cessation of Tracheid Production. *Holzforschung* 55, 128-134.
37. Gillespie, B. and Thimann, K.V. (1963). Transport and distribution of auxin during tropistic response. I. The lateral migration of auxin in geotropism. *Plant Physiology* 38, 214-225.

38. Goldsmith, M.H.M. and Wilkins M.B. (1964). Movement of auxin in coleoptiles of *Zea mays* L. during geotropic stimulation. *Plant Physiology* 39, 151-162.
39. Goldsmith, M.H.M. (1977). The polar transport of auxin. *Annual Review of Plant Physiology* 28, 439-478.
40. Goldsmith, M.H.M, Goldsmith T.H. and Martin M.H. (1981). Mathematical analysis of the chemosmotic polar diffusion of auxin through plant tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78(2), 976-980.
41. Goldsmith, M.H.M. (1993). Cellular Signalling : New Insights Into the Action of the Plant Growth Hormone Auxin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90(24), 11442-11445.
42. Han, K. (2001). Molecular Biology of Secondary Growth. *J. Plant Biotechnology.* 3(2), 45-57.
43. Harris, J.M. (1969). On the causes of spiral grain in corewood of radiate pine. *N. Z. J. Bot.* 7, 189-213.
44. Harris, J. M. (1973). Spiral grain and xylem polarity in radiate pine : microscopy of cambial reorientation. *New Zealand Journal of Forestry Science* 3, 363-378.
45. Harris, J.M. (1981). Spiral grain formation. In : *Xylem Cell Development* (Barnett, J., ed.). Kent, U.K. : Castle House Publication. 256-274 pp.
46. Harris, J.M. (1989). *Spiral Grain and Wave Phenomena in Wood Formation*. New York, NY : Springer-Verlag, 214 pp.
47. Harris, J.M. (1991a). Structure of wood and bark. In : *Properties and uses of New Zealand Radiata Pine*. Vol. 1. Wood properties. Chapter 2. (Kininmonth, J. and Whiteside, I. Eds.) Published by New Zealand Ministry of Forestry. Forest Research Institute. Wellington.

48. Harris, J.M. (1991b). Formation of wood and bark. In : *Properties and uses of New Zealand Radiata Pine*. Vol. 1. Wood properties. Chapter 3. (Kininmonth, J. and Whiteside, I. Eds.) Published by New Zealand Ministry of Forestry. Forest Research Institute. Wellington.
49. Hayflick, L. and Moorhead P.S. (1961). The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25, 585-621.
50. Jacobs, M. and Gilbert S.F. (1983). Basal localization of the presumptive auxin transport carrier in pea stem cells. *Science* 220, 1297-1300.
51. Kalev, N. and Aloni R. (1998). Role of auxin and gibberellin in regenerative differentiation of tracheids in *Pinus pinea* seedlings. *The New Phytologist* 138(3), 307-313.
52. Katekar, G.F. and Geissler A.E. (1977). Auxin transport inhibitors III. Chemical requirements of a class of auxin transport inhibitors. *Plant Physiology* 60, 826-829.
53. Kirschner, H., Sachs T. et Fahn A. (1971). Secondary xylem reorientation as a special case of vascular tissue differentiation. *Israel J. Bot.* 20, 184-198.
54. Kondorosi, E., Roudier F. and Gendreau E. (2000). Plant cell-size control : growing by ploidy ? *Current Opinion in Plant Biology* 3, 488-492.
55. Kramer, E.M. (1999). Observation of topological defects in the xylem of *Populus deltoides* and implications for the vascular cambium. *J. Theor. Biol.* 200, 223-230.
56. Kramer, E.M. (2001). A Mathematical Model of Auxin-mediated Radial Growth in Trees. *J. Theor. Biol.* 208, 387-397.
57. Kramer, E.M. (2002). A Mathematical Model of Pattern Formation in the Vascular Cambium of Trees. *J. Theor. Biol.* 216(2), 147-158.

58. Kramer E.M. and Groves J.V. (2003). Defect Coarsening in a Biological System : The Vascular Cambium of Cottonwood Trees. *Phys. Rev. E* 67, article no. 041914.
59. Lachaud, S. and Bonnemain J.L. (1982). Xylogénèse chez les dicotylédones arborescentes. III. Transport de l'auxine et activité cambiale dans les jeunes tiges de Hêtre. *Can. J. Bot.* 60, 869-876.
60. Lachaud, S. and Bonnemain J. L. (1984). Seasonal variations in the polar-transport pathways and retention sites of [3H]indole-3-acetic acid in young branches of *Fagus sylvatica* L. *Planta* 161, 207-215.
61. Larson, P.R. (1994). *The vascular cambium. Development and Structure*. Berlin. Springer-Verlag, 725 pp.
62. Lindenmayer, A. (1968). Mathematical models for cellular interaction in development I. Filaments with one-sided inputs. *J. Theor. Biol.* 18, 280-289.
63. Little, C.H.A. and Savidge R.A. (1987). The role of plant growth regulators in forest tree cambial growth. *Plant Growth Regulation* 6, 137–169.
64. Little, C.H.A. and Pharis R.P. (1995). Hormonal control of radial and longitudinal growth in the tree stem. In : *Plant Stem: Physiology and Functional Morphology* (Gartner, B., ed.). New York, NY : Academic Press, 281-319 pp.
65. Ljung, K., Bhalerao R. and Sandberg G. (2001). Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *Plant J.* 28, 465-474.
66. Lomax, T.L., Muday G.K. and Rubery P. (1995). Auxin Transport. In : *Plant Hormones : Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology*. (Davies, P.J., Ed.). Dordrecht, The Netherlands Kluwer Academic Publishers, 509-530 pp.

67. Lück, J. and Lück H.B. (1985). Comparative Plant Morphogenesis Founded on Map and Stereomap Generating System. In : *Dynamical Systems and cellular automata.* (Demongeot, J., Goles, E. and Tchente, M. , eds.). Academic Press. London, 111-121 pp.
68. Maini, P.K. (2004). Using mathematical models to help understand biological pattern formation. *C. R. Biologies* 327, 225-234.
69. Markus M., Bohm D. and Schmick M. (1999). Simulation of vessel morphogenesis using cellular automata. *Math Biosci.* 156(1-2), 191-206.
70. Mitchison, G.J. (1980a). The dynamics of auxin transport. *Proc. R. Soc. Lond. B* 209, 489-511.
71. Mitchison, G.J. (1980b). A model for vein formation in higher plants. *Proc. R. Soc. Lond. B* 295, 461-471.
72. Mitchison, G.J. (1981). The polar transport of auxin and vein patterns in plants. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 295, 461-471.
73. Muday, G.K., Hu, S. and Brady, S.R. (2000). The cytoskeleton may control the polar distribution of an auxin transport protein. *Gravitational and Space Biology Bulletin* 13(2), 75-83.
74. Odani, K. (1985). Indole-3-acetic acid transport in pine shoots under the stage of true dormancy. *J. Jap. For. Soc.* 67, 332-334.
75. Ottensschläger, I., Wolff P., Wolverton C., Bhalerao R., Sandberg G., Ishikawa H., Evans M., and Palme K. (2003). Gravity-regulated differential auxin transport from columella to lateral roots cap cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100(5), 2987-2991.

76. Padilla, F. (2001). *Estudio de la deformación del fuste causada por polilla del brote rhyacionia buoliana en Pinus radiata en la décima región*. Memoria de Ingeniero forestal. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad de Chile. 127 pp.
77. Parker, K. and Briggs W. (1990). Transport of indole-3-acetic acid during gravitropism in intact maize coleoptiles. *Plant Physiology* 94(4), 1763-1769.
78. Plomion, C., Pionneau C., Brach J., Costa P. and Bailleres H. (2000). Compression wood-responsive proteins in developing xylem of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Plant Physiology* 123(3), 959-969.
79. Potten, C.S. (1979). Proliferative Cell Populations in Surface Epithelia : Biological Model for Cell Replacement. *Lecture notes in Biomathematics* 38, 22-35.
80. Prusinkiewicz, P. and Lindenmayer A. (1990). *The Algorithmic Beauty of Plants*. Springer-Verlag. New York. 228 pp.
81. Rashotte, A.M., Brady S.R., Reed R.C., Ante S.J. and Muday G.K. (2000). Basipetal auxin transport is required for gravitropism in roots of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 122(2), 481-490.
82. Rashotte, A. Poupart J. Waddell CS. and Muday G. (2003). Transport of the two natural auxins, indole-3-butyric acid and indole-3-acetic acid, in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 133(2), 761-772.
83. Roberts, K. (2001). How the Cell Wall Acquired a Cellular Context. *Plant Physiology* 125, 127-130.
84. Rolland-Lagan A.G., Federl, P. and Prusinkiewicz P. Reviewing models of canalisation in the context of vein pattern formation in *Arabidopsis* leaves. *FSPM 2004. Submitted*.
85. Romberger, J.A., Hejnowicz, Z. and Hill, J.F. (1993) *Plant structure : function and development*. Springer-Verlag. Berlin. 524 pp.

86. Rubery, P.H. and Sheldrake, A.R. (1974). Carrier-mediated auxin transport. *Planta* 118, 101-121.
87. Sachs, T. (1981). The control of the patterned differentiation of vascular tissues. *Adv. Bot. Res.* 9, 151-162.
88. Schrader, J., Baba K., May S.T., Palme K., Bennett M., Bhalerao R.P. and Sandberg G (2003). Polar auxin transport in the wood-forming tissues of hybrid aspen is under simultaneous control of developmental and environmental signals, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 10096-10101.
89. Shibaoka, H. and Nagai R. (1994). The plant cytoskeleton. *Current Opin in Cell Biology* 6, 10-15.
90. Smith, L.G. (2001). Plant cell division : building walls in the right place. *Nature Rev. Molec. Cell Biol.* 2, 33-39.
91. Somerville, A. (1980). Resin pockets and related defects of *Pinus radiata* grown in New Zealand. *New Zealand Journal of Forestry Science* 10-2, 439-444.
92. Sundberg, B., Little C.H.A., Cui K. and Sandberg G. (1991). Level of endogenous indole-3-acetic acid in the stem of *Pinus sylvestris* in relation to seasonal variation of cambial activity. *Plant Cell Environ.* 14, 241-246.
93. Sundberg, B., Tuominen H., Little C.H.A. (1994). Effects of the indole-3-acetic acid (IAA) transport inhibitors N-1-naphtylphthalamic acid and morphactin on endogenous IAA dynamics in relation to compression wood formation in 1-year old *Pinus sylvestris* L. shoots. *Plant Physiology* 10(2), 469-476.
94. Thellier, M., Le Sceller L., Norris V., Verdus M.C. and Ripoll C. (2000). Long-distance transport, storage and recall of morphogenetic information in plants. The existence of a sort of primitive plant 'memory'. *C. R. Acad. Sci.* III. 323(1), 81-91.

95. Thellier, M., Demongeot J., Norris V., Guespin J., Ripoll C. and Thomas R. (2004). A logical (discrete) formulation for the storage and recall of environmental signals in plants. *Plant. Biol. (Stuttg)*. 6(5), 590-7.
96. Thom, R. (1972). *Stabilité structurelle et morphogenèse. Essai d'une théorie générale des modèles*. Massachusetts : W. A. Benjamin, Inc. 362 pp.
97. Thom, R. (1980). *Modèles mathématiques de la morphogenèse*. Paris : Christian Bourgeois.
98. Tsoumis, G. (1991). *Science and technology of wood. Structure, properties, utilisation*. New York : Van Nostrand Reinhold. 494 pp.
99. Uggla, C. Moritz T. Sandberg G. and Sundberg B. (1996). Auxin as positional signal in pattern formation in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 9282-9386.
100. Uggla, C., Mellerowicz E.J. and Sundberg B. (1998). Indole-3-acetic acid controls cambial growth in *Pinus sylvestris* (L.) by signalling. *Plant Physiology* 117, 113-121.
101. Uggla, C., Magel E., Moritz T. and Sundberg B. (2001). Function and Dynamics of Auxin and Carbohydrates during Earlywood / Latewood Transition in Scots Pine. *Plant Physiology* 125, 2029-2039.
102. Vogel, S. (1988). *Life's Devices*. Princeton, NJ : Princeton University Press. 580 pp.
103. Von Karman, T. and Biot M.A. (1940). *Mathematical Methods in Engineering : An Introduction to the Mathematical Treatment of Engineering Problems*. McGraw-Hill : New York.
104. Wang, Q., Little C.H.A. and Odén P.C. (1997). Control of longitudinal and cambial growth by gibberellins and indole-3-acetic acid in current-year shoots of *Pinus sylvestris*. *Tree Physiology* 17, 715-721.

105. Watanabe, U., Minoru M. and Norimoto M. (2002). Transverse Young's Moduli and Cell Shapes in Coniferous Early Wood. *Holzforschung* 56, 1-6.
106. Webb, D. (2005). <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/webb/BOT410/anatweb/pages> University of Hawaii.
107. Went, F.W. (1928). Wuchstoff und Wachstum. *Recl. Trav. Bot. Neerl.* 25, 1-116
108. Wolpert, L. (1968). The French flag problem : A contribution to the discussion on pattern development and regulation. In : *Waddington, Towards a Theoretical Biology*, vol 1, 125-133.
109. Wolpert, L., Beddington R., Jessell T., Lawrence P., Meyerowitz E. and Smith, J. (2002). *Principles of development* (2nd edition). Oxford University Press, Oxford.
110. Yamaguchi, K., Itoh T. and Shimaji K. (1980). Compression wood induced by 1-N-Naphtylphthalamic acid (NPA), an IAA transport inhibitor. *Wood Science and Technology* 14, 181-185.
111. Zamski, E. and Wareing P.F. (1974). Vertical and radial movement of auxin in young sycamore plants. *New Phytol.* 73, 61-69.
112. Zimmermann, M. and Brown C. (1971). *Trees : structure and function*. New York : Springer-Verlag. pp 336.

6 AUTOMATE DE DIFFERENCIATION CELLULAIRE

Table des matières

6.1	Contexte	206
6.2	Modélisation	207
6.2.1	Système N-Switch	207
6.2.2	Automate de différenciation cellulaire	208
6.3	Résultats.....	212
6.4	Différenciation cambiale.....	217
6.5	Conclusion	220
6.6	Bibliographie	222

Tables des illustrations

Figure 6.1.	Premier exemple de simulation.....	213
Figure 6.2.	Deuxième exemple de simulation.....	213
Figure 6.3.	Troisième exemple de simulation.....	214
Figure 6.4.	Représentation des résultats précédents selon le critère de différenciation irréversible. ..	215
Figure 6.5.	Autre résultat de simulation.....	215
Figure 6.6.	Deux simulations avec les nouveaux paramètres.....	216
Figure 6.7.	Résultat de croissance et de différenciation.....	219
Figure 6.8.	Evolution temporelle du nombre de cellules de chaque tissu	219

Cette partie est consacrée à la présentation d'un travail, développé en parallèle de la partie principale, concernant la différenciation cellulaire. Comme annoncé en introduction, cette étude porte sur un modèle d'automate cellulaire de différenciation. Nous montrons comment les règles de voisinages, qui régissent le fonctionnement de l'automate, permettent de rendre compte de plusieurs phénomènes de différenciation cellulaire. Ces règles de voisinage reposent sur l'existence biologique de voies de signalisation intercellulaire.

6.1 Contexte

Toutes les cellules d'un tissu n'ont pas les mêmes fonctions biologiques. Les cellules souches sont capables de se reproduire, leurs cellules filles pouvant être identiques à la cellule mère dans le cas d'une prolifération sans modification du phénotype ou entamer une voie de différenciation. Les voies de différenciation spécialisent les cellules dans des fonctions précises. Dans le cas de la croissance radiale des conifères, les cellules initiales de cambium sont des cellules souches qui peuvent donner naissance à tous les types cellulaires. La différenciation des cellules se réalise de manière extrêmement ordonnée, puisque les futures cellules du xylème ou du phloème sont précisément localisées de part et d'autre de la frontière cambiale.

Le rôle du voisinage cellulaire dans la détermination de la voie de différenciation semble déterminant. Des cellules épithéliales (jointives) peuvent communiquer entre elles à l'aide de signaux. Une cellule peut émettre une molécule diffusible, qui interagit avec les récepteurs membranaires de la cellule cible. Le signal peut aussi se transmettre par échange entre les protéines membranaires de deux cellules. Si le signal est véhiculé par de petites molécules, il peut être transmis directement de cellules à cellules par les « gap junctions ».

Le modèle présenté ici vise à étudier la différenciation cellulaire par simple relation de voisinage, en considérant que l'état de chaque cellule influence la différenciation des cellules voisines dans le même état.

6.2 Modélisation

Le modèle utilisé est une version discrète d'un modèle continu issu des études menées par O. Cinquin (thèse à paraître) sur l'application des systèmes d'équations « N-switch » à la différenciation cellulaire. Ces systèmes ont également été utilisés, sous le nom de systèmes compétitifs, dans le cadre des réseaux de neurones (Rabinovich *et al.*, 2001 ; Taylor *et al.*, 2002).

6.2.1 Système N-Switch

Les modèles N-switch ont été utilisés pour modéliser des réseaux d'interaction entièrement interconnectés de N noeuds. Les équations pour ces systèmes sont des équations différentielles ordinaires du type :

$$\forall i = 1, \dots, N, \quad \frac{dx_i}{dt} = -v x_i + \frac{\sigma a_i x_i^c}{1 + \sum_{j=1}^n a_j x_j^c} \quad (6.1)$$

Les x_i représentent les concentrations (ou la taille, ou la quantité...) des composants X_i du réseau. Dans ces équations figure un terme de dégradation (non régulé) en $-v x_i$. L'autre terme caractérise véritablement un N-switch : chaque élément s'auto-régule positivement et réprime les $N - 1$ autres composants selon des coefficients multiplicatifs (Cinquin et Demongeot, 2005 ; Demongeot *et al.*, accepté). Le terme de répression est ici pris sous la forme d'une inhibition compétitive de type Hill. La puissance c est appelée coopérativité. Selon ce formalisme, les réactions se réalisent indépendamment des critères spatiaux.

Ces équations peuvent, selon les paramètres, produire différents comportements asymptotiques : un composant peut dominer tous les autres ou plusieurs peuvent cohabiter. Ce dernier cas est appelé multi-tissulaire. Ce type de dynamique se rencontre dans la croissance des plantes sous l'aspect de la dominance apicale ou dans l'embryogenèse du cerveau (Demongeot *et al.*, 2000 et 2003 ; Jolliot et Prochiantz, 2004 ; Thellier *et al.*, 2004). Dans le cas de la dominance apicale, les hormones auxines, sécrétées dans une partie de l'organisme

(l'apex principal) inhibent la croissance des autres parties (les bourgeons latéraux pour les plantes) (Thellier *et al.*, 2004).

6.2.2 Automate de différenciation cellulaire

Nous proposons d'étudier un modèle simplifié de différenciation cellulaire, où le tissu est représenté par un automate cellulaire en deux dimensions. Les cellules constitutives sont des carrés, tous de même taille. Nous introduisons spécifiquement des relations de voisinage pour déterminer l'évolution des types cellulaires. Les cellules peuvent être dans trois états possibles. L'état noir, noté N , est l'état indifférencié (comme le cambium pour l'arbre). Les cellules peuvent se spécialiser en cellules rouges R (type xylème) ou en cellules vertes V (type phloème). L'état de chaque cellule est déterminé par les états de ses cellules voisines : chaque cellule adopte l'état le plus représenté dans son voisinage, sous réserve qu'il dépasse une fréquence seuil. Si plusieurs états sont représentés de manière équivalente dans le voisinage, la cellule choisit un de ces états selon une loi de probabilité. Cet automate suit la caractéristique des systèmes N-switch. En effet, l'état des cellules est choisi en fonction de la représentation de chaque type cellulaire dans le voisinage, chaque type cellulaire réprime ainsi tous les autres : ces inhibitions sont qualitativement l'équivalent d'un 3-switch. L'utilisation d'un automate permet en plus d'ajouter une composante spatiale, puisque les interactions entre les trois espèces de cellules se font par voisinage. Une partie de ce travail se trouve dans (Glade *et al.*, accepté).

Notations

Le nombre total de cellules est noté n_C . E est l'ensemble des états possibles des cellules : $E = \{N, V, R\}$. L'état d'une cellule X_i au temps t est donné par la variable $x_i(t) \in E$ qui peut prendre les valeurs noir, vert ou rouge. Lorsque cela est nécessaire, l'indice i est décrit par sa localisation dans la grille de l'automate, c'est-à-dire sous la forme $i = (k, m)$, pour spécifier que la cellule associée est située à l'intersection de la $k^{\text{ème}}$ ligne et de la $m^{\text{ème}}$ colonne de l'automate. Chaque cellule i possède un voisinage $\vartheta(i)$, représenté par un ensemble d'indices de cellules : $\vartheta(i) \subseteq [1, \dots, n_C]$. Chaque cellule j du voisinage est caractérisée, quant à sa relation avec la cellule i , par son poids w_{ij} . Généralement, on choisira

$i \in \vartheta(i)$ et $w_{ii} = \max(w_{ij})$, c'est-à-dire que le voisinage d'une cellule X_i inclut la cellule elle-même, avec un poids dominant. Ce critère favorise le franchissement du seuil lié à l'état courant de la cellule et représente donc une certaine inertie des cellules à changer d'état. Ce choix dans le voisinage agit de manière analogue à l'auto-régulation positive du système continu N-Switch.

Les transitions de l'automate cellulaire sont notamment définies à partir des deux fonctions suivantes :

$$y(e, i, t) = \begin{cases} 1, & \text{si } x_i(t) = e \\ 0, & \text{sinon} \end{cases}$$

et :

$$A(e, i, t) = \begin{cases} 0, & \text{si } x_i(t-1) \neq e \\ \max\{n / x_i(t-j) = e, \forall j = 1, \dots, n\}, & \text{sinon} \end{cases}$$

La fonction y permet de tester l'état des cellules et la fonction A calcule son âge dans l'état e , c'est-à-dire le nombre d'itérations consécutives qu'elle a passé dans l'état e avant le temps t . Si $e \in \{V, R\}$, la valeur de A reflète le degré d'avancement de la cellule dans la voie de différenciation verte ou rouge. Pour chaque état, nous définissons aussi des fonctions seuils $s_e(f, i, t)$, à partir des valeurs de base des seuils s_R^* , s_V^* et s_N^* et de deux paramètres v_R et v_V . Ces deux derniers paramètres mesurent la vitesse d'avancée des cellules dans les voies de différenciation R et V . Ces fonctions déterminent les seuils de passage de l'état e à l'état f pour la cellule i au temps t . Elles sont définies plus précisément par :

$$\begin{aligned} s_R(R, i, t) &= s_R^* - v_R A(R, i, t), & s_R(V, i, t) &= s_V^* + v_R A(R, i, t), & s_R(N, i, t) &= s_N^* \\ s_V(R, i, t) &= s_R^* + v_V A(V, i, t), & s_V(V, i, t) &= s_V^* - v_V A(V, i, t), & s_V(N, i, t) &= s_N^* \\ s_N(R, i, t) &= s_R^*, & s_N(V, i, t) &= s_V^*, & s_N(N, i, t) &= s_N^* \end{aligned}$$

Nous définissons enfin la fonction $p(e, \vartheta(i), t)$ qui calcule la valeur du poids de l'état e dans le voisinage $\vartheta(i)$ au temps t . p mesure l'importance relative des différents états dans le

$$\text{voisinage : } p(e, \vartheta(i), t) = \sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, e, t).$$

Transitions de l'automate

Les transitions entre les différents états sont définies à partir des seuils et des valeurs des poids du voisinage.

Soit une cellule X_i qui est dans un état e au temps t :

- Si $s_e(f, i, t)$ est le seul seuil franchi, c'est-à-dire :

Si $p(f, \vartheta(i), t) \geq s_e(f, i, t)$ et $\forall g \neq f, p(g, \vartheta(i), t) < s_e(g, i, t)$, alors $x_i(t+1) = f$

- Si s_N et s_R sont franchis conjointement, sans que s_V soit franchi ($p(N, \vartheta(i), t) \geq s_e(N, i, t)$, $p(R, \vartheta(i), t) \geq s_e(R, i, t)$ et $p(V, \vartheta(i), t) < s_e(V, i, t)$), on choisit :

$$\begin{aligned}
 - \quad x_i(t+1) = R & \text{ avec la probabilité } \frac{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, R, t)}{\sum_{j \in \bar{\vartheta}(i)} w_{ij}} \\
 - \quad x_i(t+1) = N & \text{ avec la probabilité } \frac{1}{2} \frac{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, N, t)}{\sum_{j \in \bar{\vartheta}(i)} w_{ij}} \\
 - \quad x_i(t+1) = V & \text{ avec la probabilité } \frac{1}{2} \frac{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, V, t)}{\sum_{j \in \bar{\vartheta}(i)} w_{ij}}
 \end{aligned}$$

où $\bar{\vartheta}(i)$ est le voisinage restreint aux cellules de $\vartheta(i)$ qui sont dans un état qui satisfait aux passages de seuils. $\bar{\vartheta}(i) \subset \vartheta(i)$ et $j \in \bar{\vartheta}(i)$, si

$$x_j(t) \in \left\{ f \in E, \frac{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, f, t)}{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij}} \geq s_e(f, i, t) \right\}. \text{ Ce voisinage permet de normaliser}$$

correctement les probabilités précédentes.

La dernière éventualité permet la création *de novo* de cellules dans l'état vert. Le franchissement conjoint des seuils rouge et noir est traité à part car on s'intéresse

notamment à la création d'une population verte au sein d'un espace peuplé de cellules rouges et noires

- Si plusieurs seuils sont franchis conjointement en dehors du cas précédent, on choisit l'état

$$x_i(t+1) = f \text{ avec la probabilité } \frac{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, f, t)}{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij}}.$$

- Si aucun seuil n'est franchi, la cellule reste dans le même état,

Si $\forall f \in E, p(f, \vartheta(i), t) < s_e(f, i, t)$, alors $x_i(t) = e$.

Différenciation irréversible

Si une cellule est différenciée en un état $e \in \{V, R\}$ au temps t , une condition suffisante pour que cette cellule reste dans le même état e est que : $p(\bar{e}, \vartheta(i), t) < s_e(\bar{e}, i, t)$ et $p(N, \vartheta(i), t) < s_e(N, i, t)$, en notant \bar{e} le complémentaire de e dans $\{V, R\}$: $\{e, \bar{e}\} = \{V, R\}$. Le seuil de passage dans l'autre état différencié \bar{e} ne doit pas être franchi, tout comme le seuil de retour à l'état indifférencié N .

On a de plus : $p(\bar{e}, \vartheta(i), t) \leq \sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij}$ et $s_e(\bar{e}, i, t) = s_e^* + v_e A(e, i, t)$.

Finalement, la condition : $A(e, i, t) > \frac{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, \bar{e}, t) - s_{\bar{e}}}{v_e}$ et $\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, N, t) < s_N^*$ fournit

une condition suffisante de permanence de la cellule dans le même état e . De manière cohérente, si l'ancienneté de la cellule dans l'état e est supérieure à une certaine valeur seuil, la cellule reste dans le même état, sous réserve de ne pas retourner dans l'état indifférencié. La condition sur l'ancienneté est d'autant plus facilement satisfaite que le coefficient v_e de rapidité d'avancée dans la voie de différenciation e est élevé.

La différenciation est irréversible, si :

$$\exists t_0 \in \mathbb{N}, \forall t \geq t_0, A(e, i, t) > \frac{\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, \bar{e}, t) - s_{\bar{e}}}{v_e} \text{ et } \sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, N, t) < s_N^* \quad (6.2)$$

6.3 Résultats

Paramètres

Sauf précision contraire, les paramètres des simulations sont :

- $v_R = v_V = \frac{1}{2}$.

- Le voisinage ϑ est décrit dans la table ci-dessous avec les poids de chaque cellule du voisinage.

1	1	1	1	1
1	2	2	2	1
1	2	4	2	1
1	2	2	2	1
1	1	1	1	1

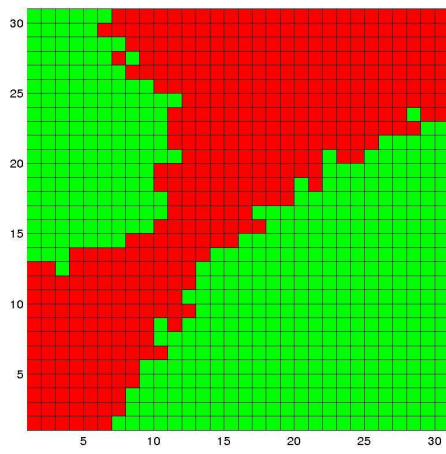
Table donnant, à l'intersection de la ligne k et de la colonne m , le poids w_{ij} , où $j = (k, m)$. La valeur 4 correspond au poids de la cellule X_i , la valeur 2 est affectée à ses plus proches voisins tandis que la valeur 1 est choisie pour ses voisins les plus éloignés.

- Situation initiale : nous utilisons un automate carré de $n_C = 900$ cellules, toutes les cellules étant initialement du type noir, sauf 9 cellules rouges centrées qui forment une zone carrée de trois cellules de côté. Nous étudions alors la naissance des cellules vertes et leur extension. Comme déjà signalé dans les lois d'évolutions, nous avons en effet laissé la possibilité de création de cellules vertes lors du franchissement conjoint des seuils noir et rouge.

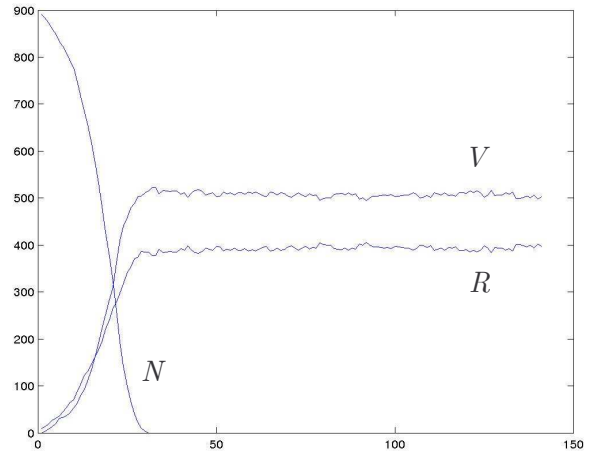
Configurations obtenues

Nous présentons certains résultats, obtenus selon différentes valeurs prises pour les seuils de référence.

- $s_R^* = 6$, $s_V^* = 6$ et $s_N^* = 24$.



a

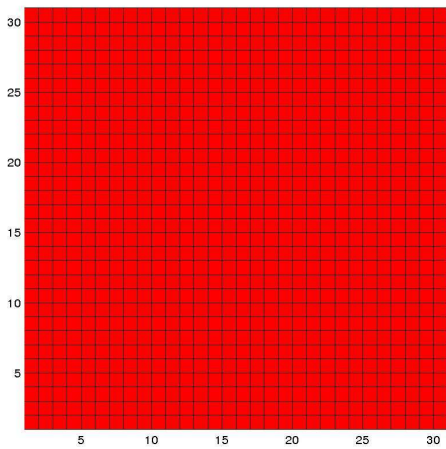


b

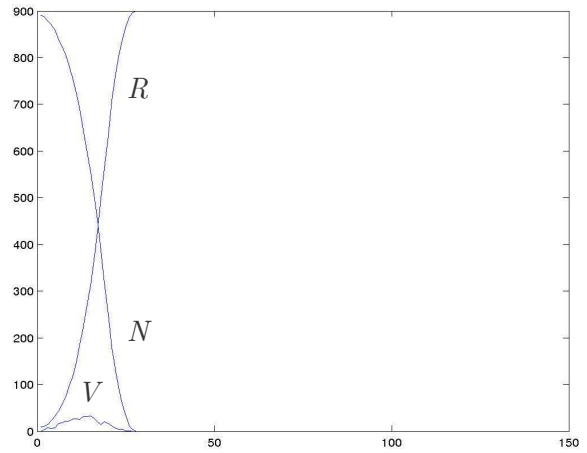
Figure 6.1. Premier exemple de simulation.

(a) Configuration de l'automate après 140 itérations.

(b) Evolution du nombre de cellules de chaque type au cours des itérations.



a



b

Figure 6.2. Deuxième exemple de simulation.

(a) Configuration de l'automate après 140 itérations.

(b) Evolution du nombre de cellules de chaque type au cours des itérations.

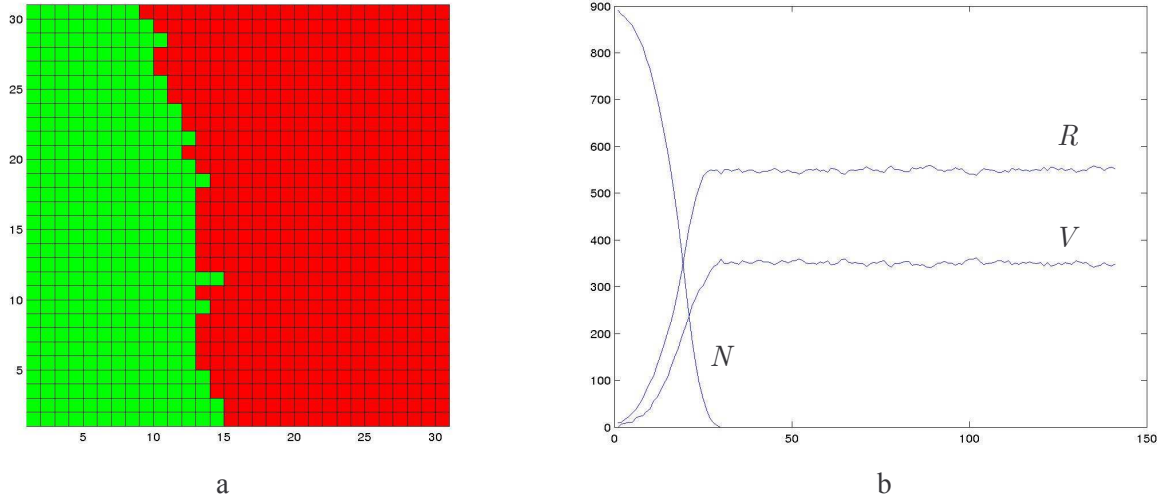


Figure 6.3. Troisième exemple de simulation.

- (a) Configuration de l'automate après 140 itérations.
(b) Evolution du nombre de cellules de chaque type au cours des itérations.

Avec les mêmes paramètres de seuils et la même condition initiale, le système peut donc converger vers des états différents. Dans la première simulation, les deux types vert et rouge co-existent. La zone rouge sépare deux zones vertes. La seconde simulation montre un exemple où la population rouge conquiert tout l'espace. La troisième produit de nouveau une partition de l'espace entre vert et rouge mais, cette fois, la population rouge l'emporte et chaque population est confinée en une seule zone connexe.

Les figures précédentes donnent la configuration de l'automate à un instant précis (140^{ème} itération). Comme le montrent les courbes d'évolution temporelle, le nombre de cellules rouges et vertes, dans les cas de co-existence rouge-vert, ne se stabilise jamais exactement sur une valeur précise. Nous pouvons, par contre, adopter une nouvelle représentation, en représentant en vert (resp. rouge) les cellules irréversiblement vertes (resp. rouges) et en bleu celles que ne sont pas définitivement déterminées. Avec les paramètres choisis, les conditions de différenciation irréversible sont, d'après (6.2) :

$$A(e, i, t) > 2 \left(\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, \bar{e}, t) - 6 \right) \text{ et } \sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, N, t) < 24$$

D'après les courbes d'évolution temporelle, au delà de la 50^{ème} itération, les cellules noires ne sont plus représentées, donc la deuxième condition est remplie. Pour la première, on peut majorer : $\sum_{j \in \vartheta(i)} w_{ij} y(j, \bar{e}, t) \leq 36 - 4 = 32$, car, si $x_i(t) = e$, $y(i, \bar{e}, t) = 0$ et $w_{ii} = 4$. Nous

traçons en bleu les cellules dont l'ancienneté est inférieure à 52. Pour les autres, la différenciation est irréversible, car $A(e, i, t) > 52 = 2(32 - 6)$.

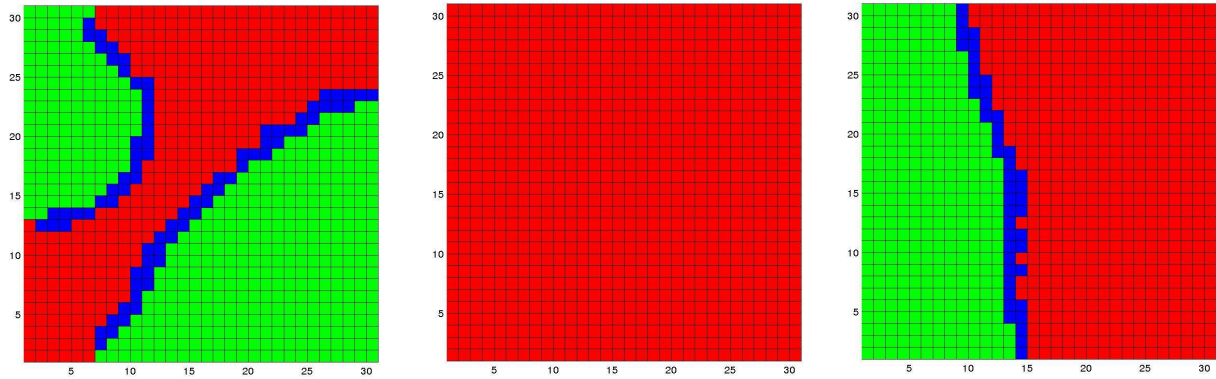


Figure 6.4. Représentation des résultats précédents selon le critère de différenciation irréversible.

Cette nouvelle représentation permet de montrer que les zones vertes et rouges sont majoritairement stables et que les cellules non définitivement différenciées délimitent les frontières entre ces zones.

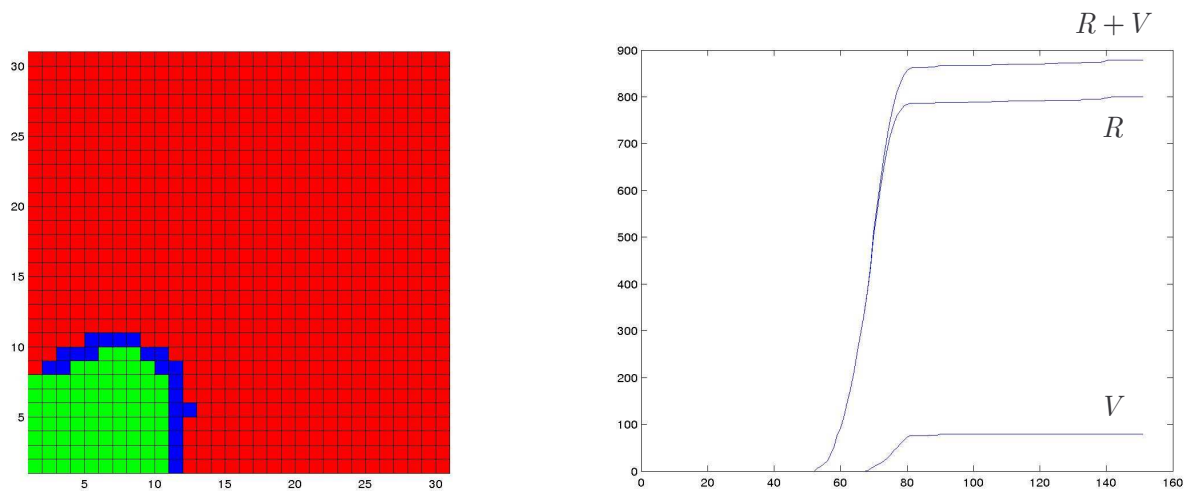


Figure 6.5. Autre résultat de simulation.

La figure de droite montre les profils temporels d'évolution du nombre de cellules irréversiblement différenciées, selon leur type rouge et vert, ainsi que l'évolution du nombre total de cellules irréversiblement différenciées.

La Figure 6.5 s'intéresse à l'évolution temporelle des différenciations irréversibles. Les courbes réagissent évidemment fortement au passage du seuil d'irréversibilité 52. Le type Vert atteint rapidement un palier, alors que le type Rouge progresse encore très lentement.

- $s_R^* = 5$, $s_V^* = 5$ et $s_N^* = 22$.

Nous montrons deux derniers résultats, obtenus avec ces nouvelles valeurs des seuils de référence.

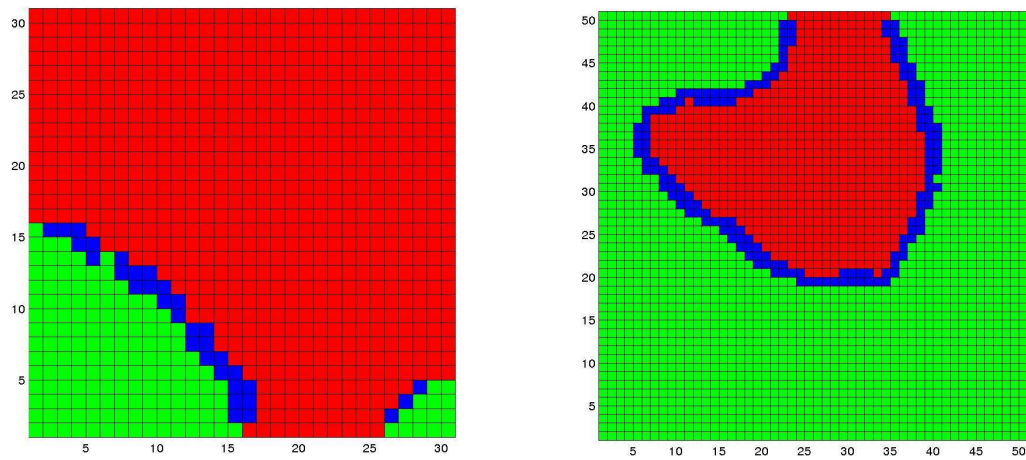


Figure 6.6. Deux simulations avec les nouveaux paramètres.
La figure de droite est réalisée avec un automate de 50 par 50 cellules.

6.4 Différenciation cambiale

L'étude précédente s'avère capable de proposer un mécanisme de différenciation des cellules cambiales.

Adaptation de l'automate pour la différenciation cambiale

Ce modèle peut s'adapter à la différenciation cambiale. Comme annoncé en 6.1, les cellules du cambium sont affectées de l'état noir propre aux cellules souches, les cellules spécialisées du xylème étant dans l'état rouge et celles du phloème dans l'état vert. Les transitions de l'automate restent les mêmes que celles décrites précédemment à la différence que, cette fois-ci, le cas de franchissement conjoint des seuils noir et rouge est traité de la même manière que tous les autres cas de franchissement conjoint de seuil. Autrement dit, la différenciation en cellules vertes n'est plus stimulée par des contacts entre cellules noires et rouges. Dans le cas précédent, ce critère était utilisé pour étudier l'émergence d'une population verte au sein d'un tissu composé de cellules noires ou rouges. Cette condition n'est plus utilisée, car on se place maintenant dans un cas où les deux tissus différenciés sont déjà en place, suite à l'étape d'embryogenèse.

Le cas de la croissance radiale est similaire à l'étude précédente, mais présente la particularité d'une population de cellules pluripotentes qui se régénère par prolifération. On prend en compte cette prolifération d'une manière très simplifiée. A chaque itération, une cellule cambiale située en (i, j) se divise selon le franchissement d'un seuil critique de division $p_C(i, j)$, qui détermine la probabilité de division des cellules. On ne prendra en compte que les divisions périclinales. Pour chaque cellule noire, un nombre q est tiré uniformément entre 0 et 1.

- Si $q \leq p_C(i, j)$, la cellule cambiale se divise.
- Si $q > p_C(i, j)$, la cellule ne se divise pas.

On se place dans le cas d'un cambium alimenté de manière homogène en IAA. Dans ce cas, la concentration totale d'hormone par file radiale est constante. Nous affectons ainsi à chaque colonne de cellules cambiales la même probabilité de division :

$$p_C(i, j) = \frac{p_C^*}{\sum_j y((i, j), N, t)} \quad (6.3)$$

où p_C^* est la probabilité de division par file cambiale.

Lorsqu'une division intervient, une des deux cellules filles prend la place de la cellule mère et la deuxième cellule fille prend la place de la voisine de la cellule mère du côté du phloème. Toutes les cellules qui suivent sont déplacées d'une case vers l'extérieur.

Nous utilisons aussi des conditions toriques sur les bords latéraux.

Résultats

Nous considérons une situation initiale composée de trois bandes de 50 cellules de large et de 10 cellules d'épaisseur. La bande rouge représente le xylème, la bande verte, le phloème et la bande noire, le cambium (Figure 6.7). Une moitié de l'automate n'est pas peuplée de cellules, elle représente le milieu extérieur, dans lequel la croissance va s'établir.

La Figure 6.7 présente un résultat de simulation en utilisant : $p_C^* = 0.6$, $v_R = v_V = \frac{1}{2}$, $s_R^* = 5$, $s_V^* = 16$ et $s_N^* = 17$.

L'automate est capable de générer la croissance radiale secondaire par accrétions successives de nouvelles cellules au sein du xylème et du phloème. Le cambium conserve un nombre de cellules constitutives sensiblement constant. La Figure 6.8 confirme plus précisément ce constat : le nombre de cellules cambiales est de 500 au départ, et oscille ensuite entre 471 et 528. Le xylème et le phloème se forment de manière linéaire, avec une formation largement plus rapide pour le xylème.

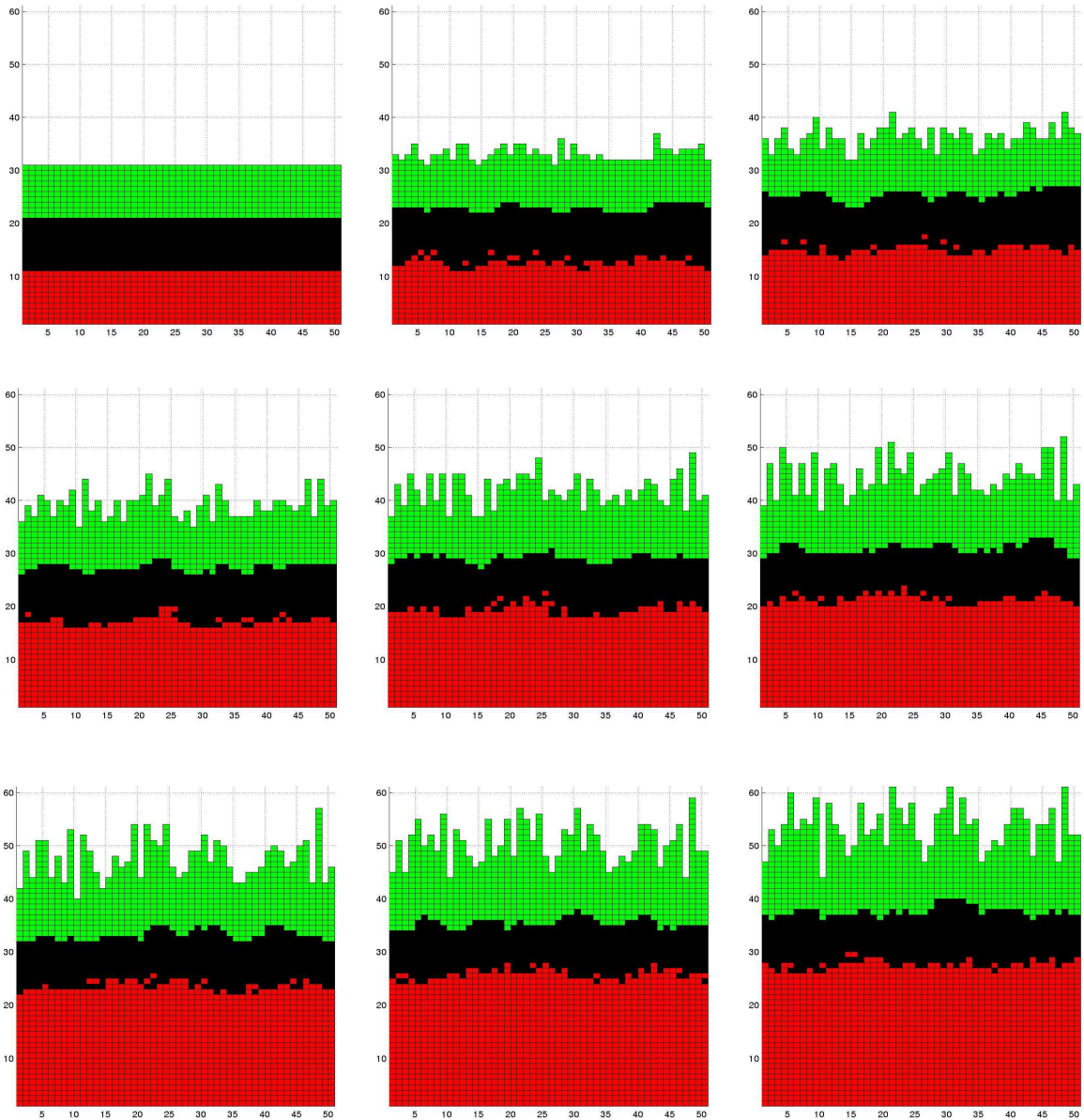


Figure 6.7. Résultat de croissance et de différenciation.

En haut à gauche, la situation initiale, puis de gauche à droite et de haut en bas, 8 états de l'automate, représentés toutes les 5 itérations.

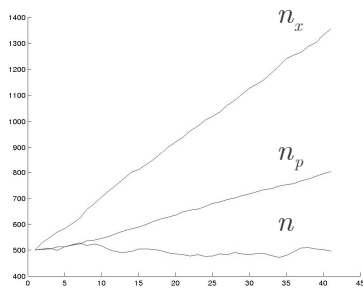


Figure 6.8. Evolution temporelle du nombre de cellules de chaque tissu dans la simulation de la Figure 6.7 (n_x est le nombre de cellules de xylèmes, n_p le nombre de cellules de phloème et n le nombre de cellules cambiales).

6.5 Conclusion

L'automate cellulaire de différenciation vise à étudier l'importance des relations de voisinage dans le processus de différenciation cellulaire. Il permet de généraliser la version discrète des systèmes N-switch en intégrant la composante spatiale. Nous retrouvons des courbes d'évolution de la taille des différentes populations caractéristiques des N-switch avec une cohabitation de plusieurs populations ou l'établissement progressif d'une seule population au détriment des autres. Ce formalisme permet d'observer la formation de zones de population connexes stables en cas de cohabitation, caractéristiques de la formation de nouveaux tissus par différenciation.

En perspective, nous pouvons nous interroger sur le comportement du système dans le cas où on autoriserait la différenciation selon le type rouge en cas de franchissement conjoint des seuils noir et vert. Ce critère supplémentaire rétablirait une symétrie complète entre les lois de comportement des deux populations spécialisées rouge et verte. Le premier cas que nous avons étudié avantage la population verte au niveau des lois de comportements, mais la pénalise dans le choix des situations initiales.

Ce même automate permet de simuler la différenciation cambiale. Ce cas de différenciation est sensiblement différent du cas précédent, puisque les tissus sont, cette fois-ci, organisés spécifiquement : le xylème, à l'intérieur et le phloème, à l'extérieur, entourent le cambium. De plus, les cellules indifférenciées se régénèrent par prolifération. L'automate peut reproduire la croissance radiale en conservant le partitionnement en tissu. Ceci constitue un premier pas vers la prise en compte du caractère multi-colonnes du cambium, discuté dans la section 5.2. Dans la réalité biologique, comme dans nos résultats, c'est précisément ce caractère multi-colonnes qui représente l'aspect progressif de la différenciation en xylème et en phloème. Ce mécanisme est ainsi un candidat pour la régulation de la différenciation cambiale.

Comme annoncé, toujours dans la section 5.2, la composante radiale de l'auxine semble avoir une grande importance dans ce processus de différenciation. On peut considérer que les cellules cambiales reçoivent un signal de différenciation suite à leur positionnement dans une zone où la concentration d'auxine est inférieure à un certain seuil. Selon cette hypothèse, le signalement global de l'auxine peut être un déclencheur de différenciation, mais ne permet pas la spécification des voies de différenciations, entre celle du xylème et celle du phloème. Le mécanisme utilisé dans cette partie propose un deuxième niveau de contrôle, local, fondé

sur les voisinages cellulaires, qui assurerait la décision de la voie de différenciation. La Figure 6.7 est obtenue pratiquement sans prendre en compte le contrôle hormonal et présente déjà des patterns réalistes. Le contrôle hormonal n'intervient qu'à travers l'hypothèse de probabilité homogène de division des files cambiales. Si l'on rajoutait la composante de contrôle de l'auxine, en autorisant la différenciation seulement dans le cas où un seuil de concentration est franchi, on obtiendrait des résultats analogues, mais avec des files radiales plus homogènes en taille, selon la régularité inter-colonnes de la répartition d'auxine implémentée.

6.6 Bibliographie

1. Cinquin, O. and Demongeot J. (2005). High-dimensional switches and the modeling of cellular differentiation, *J. Theor. Biol.* 233(3), 391-411.
2. Demongeot, J., Kaufmann M. and Thomas R. (2000). Positive feedback circuits and memory, *C. R. Acad. Sc. Sciences de la Vie* 323 69-79.
3. Demongeot, J., Aracena J., Thuderoz F., Baum T.P. and Cohen O. (2003). Genetic regulation networks : circuits, regulons and attractors, *C. R. Acad. Sci. Biologies* 326, 171-188.
4. Demongeot, J., Glade N. and Forest L. Liénard systems and potential-Hamiltonian decomposition. I. Methodology. *C. R. Acad. Sc. Accepted.*
5. Glade, N., Forest L. and Demongeot J. Liénard systems and potential-Hamiltonian decomposition. II. Applications in biology. *C. R. Acad. Sc. Accepted.*
6. Jolliot, A. and Prochiantz A. (2004). Transduction peptides : from technology to physiology, *Nature Cell Biology* 6,189-196.
7. Rabinovich, M., Volkovskii A., Lecanda P., Huerta R., Abarbanel H.D.I. and Laurent G. (2001). Dynamical encoding by networks of competing neuron groups: winnerless competition. *Phys. Rev. Letters* 87, 068102, 1-4.
8. Taylor A.L., Cottrell G.W. and Kristan W.B. (2002). Analysis of oscillations in a reciprocally inhibitory network with synaptic depression. *Neural Computation* 14, 561-581.
9. Thellier, M., Demongeot J., Guespin J., Ripoll C., Norris V. and Thomas R. (2004). A logical (discrete) formulation model for the storage and recall of environmental signals in plants, *Plant Biol.* 10, 1055-1075.

7 GASTRULATION

« It is not birth, marriage, or death, but gastrulation, which is truly the most important time in your life. »

« Ce n'est pas la naissance, le mariage, ou la mort, mais la gastrulation qui est vraiment le moment le plus important de votre vie. »

Lewis Wolpert (1991).

Table de matière

7.1	Contexte	225
7.1.1	Contexte biologique de la gastrulation	225
7.1.2	Etat de l'art	228
7.2	Modélisation cellulaire de l'invagination	230
7.3	Premiers résultats	237
7.4	Conclusion et perspectives.....	242
7.5	Bibliographie	246

Tables des illustrations

Figure 7.1. Quatre étapes de la gastrulation de la drosophile.....	226
Figure 7.2. Représentation schématique de plusieurs étapes de la gastrulation de l'oursin.....	227
Figure 7.3. Exemple de géométrie initiale.....	230
Figure 7.4. Représentation de quelques forces ponctuelles.....	233
Figure 7.5. Simulation du modèle avec trois cellules productrices de morphogène.	239
Figure 7.6. Simulation du modèle avec une seule cellule productrice de morphogène.....	240
Figure 7.7. Simulation du modèle avec quatre cellules productrices.	240
Figure 7.8. Autres résultats de simulation.....	241
Figure 7.9. Graphe de la fonction f non-linéaire utilisée pour la simulation de la Figure 7.8c.....	241
Figure 7.10. Observations expérimentales de l'invagination.	242

Cette partie est consacrée à l'application de la méthode de modélisation hybride à un autre cas de mouvement morphogénétique, cette fois largement dominé par la migration cellulaire. Nous voulons ainsi illustrer l'adaptabilité du formalisme utilisé pour la croissance radiale. Cette nouvelle application concerne les mouvements d'invagination nécessaires au bon déroulement de la gastrulation. Nous montrons comment ce mouvement peut s'expliquer par l'action coordonnée des cellules épithéliales.

7.1 Contexte

La gastrulation est une étape particulièrement importante de l'embryogenèse animale, qui permet notamment la mise en place du futur tube digestif de l'organisme.

7.1.1 Contexte biologique de la gastrulation

L'œuf fécondé entre premièrement dans une étape de clivage : l'œuf initial se divise, sans changer de volume, en deux blastomères, puis en quatre, puis en huit, etc... jusqu'à atteindre le stade de blastula ou blastoderme, selon les espèces. La blastula (ou le blastoderme) a ainsi le même volume que l'œuf initial mais est composée de plus de mille cellules. La gastrulation commence lorsque l'embryon est au stage de blastula. Ce processus embryonnaire transforme la blastula en une structure multicouche polarisée, composée de l'ectoderme, du mésoderme et de l'endoderme. La division cellulaire, omniprésente durant le clivage, ralentit très nettement et ce sont les migrations cellulaires qui deviennent primordiales. La gastrulation met ainsi en place de nombreux mouvements cellulaires et implique aussi des changements de forme de certaines cellules.

La gamme des mouvements et des changements de forme générateurs de la gastrulation est relativement bien connue, mais la compréhension de leur déclenchement et de leur coordination reste faible. Nous nous intéresserons particulièrement aux mouvements d'invagination, nécessaires à la formation du futur tube digestif, à travers deux exemples, la formation du sillon ventral de la drosophile et la formation de l'archentéron (tube digestif primitif) de l'oursin.

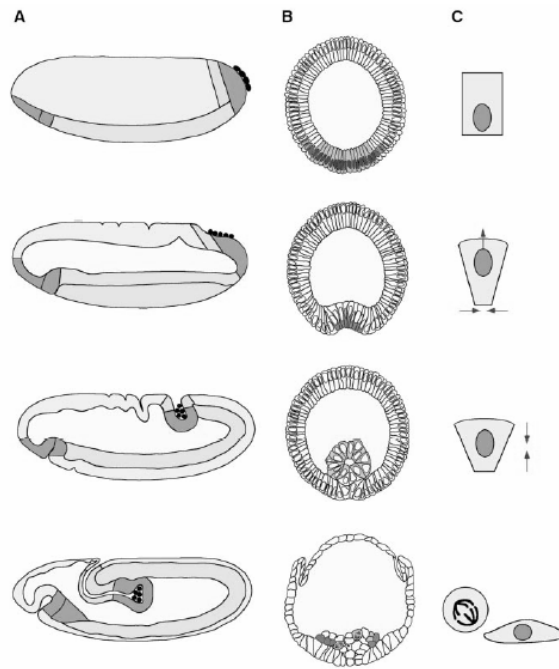


Figure 7.1. Quatre étapes de la gastrulation de la drosophile (Leptin, 1999).

- A. Coupes longitudinales de l'embryon, partitionné en futur mésoderme, futur endoderme et futur ectoderme. Les étapes permettent de visualiser la réorganisation intense des tissus.
- B. Coupes transversales correspondantes mettant en évidence la formation du sillon ventral.
- C. Phénotypes cellulaires observés pendant la formation du sillon ventral.

La Figure 7.1B met en évidence l'invagination qui mène à la formation du sillon ventral pendant la gastrulation de la drosophile. Au troisième stage, suite à l'invagination, l'état de l'embryon présente une internalisation d'un petit cylindre, qui est le futur tube digestif de l'adulte, dans un grand cylindre, qui est l'embryon lui-même. La dernière étape montre un tassement des cellules qui stabilise la cavité formée. Le passage du premier au deuxième état nécessite un changement de forme de certaines cellules épithéliales (Figure 7.1C) : toute une série de cellules, initialement rectangulaires, adopte une forme trapézoïdale en raccourcissant leur périmètre interne et en augmentant leur périmètre externe (Leptin et Grunewald, 1990 ; Leptin 1999). Ces cellules trapézoïdales sont appelées « bottle cells » (cellules en bouteille) en raison de leur forme. Le rôle potentiel des bottle cells dans l'invagination de la gastrulation a été proposé, il y a déjà bien longtemps, par L. Rhumbler (Rhumbler, 1902).

Selon la théorie prédominante, ce changement de forme est le résultat d'une constriction apicale, due aux filaments d'actine et donc à la dynamique du cytosquelette (Oda et Tsukita, 2000). La théorie de la constriction apicale a été évoquée pour la première fois par

W.D. Lewis (Lewis, 1947). Le rôle des « bottle cells » dans les mouvements d'invagination de la gastrulation a été étudié chez d'autres espèces comme l'oursin (Kimberly et Hardin, 1998 ; Nakajima et Burke, 1996) ou le xénope (Hardin et Keller, 1988). Le déclenchement des constriction apicales serait lié à l'activation d'un gène, appelé Rho.

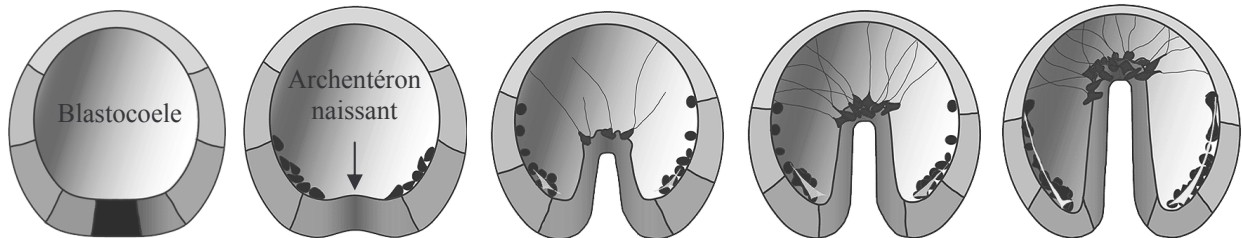


Figure 7.2. Représentation schématique de plusieurs étapes de la gastrulation de l'oursin (Delarue, 2005).

Dans le cas de l'oursin, le processus suit l'évolution schématisée par la Figure 7.2. On retrouve un comportement analogue à celui de la drosophile jusqu'à la deuxième étape, où l'invagination est similaire. Par contre, ensuite, l'archentéron, continue sa progression dans le blastocoele sans création de nouveau cylindre : la structure reste axisymétrique.

Si Wolpert considère la gastrulation comme l'étape la plus importante de la vie (voir la citation du début de la section, Wolpert, 1968), c'est parce qu'elle met en jeu une intensité de mouvements cellulaires unique. La structure de l'embryon est complètement remodelée, à tel point que l'ébauche du futur corps adulte est déjà présente à la fin de la gastrulation.

La gastrulation est aussi la première véritable étape de l'embryogenèse qui sépare les plantes des animaux. Si les étapes précédentes sont analogues, les plantes ne « gastrulent » en aucun cas, puisque les mouvements cellulaires sont quasiment absents chez les végétaux. La diversité provient essentiellement de la croissance différentielle des cellules.

7.1.2 Etat de l'art

Plusieurs modèles mathématiques ont été proposés pour mieux comprendre certains aspects de la gastrulation. Ces modèles sont, soit fondés sur une approche chimique par équation de réaction-diffusion, soit sur un formalisme physique mettant en jeu les relations entre les forces et les déplacements.

Modèles de réaction-diffusion

Dans son célèbre papier de 1952, « The chemical basis of morphogenesis », Alan Turing évoque déjà la gastrulation comme cas d'application de sa théorie (Turing, 1952). Cette application lui permet d'étudier des conditions théoriques de brisures d'homogénéité sur une sphère creuse représentant la blastula. Turing considère l'évolution de deux morphogènes sur cette surface, régis par leurs équations de réaction-diffusion. Il conclut à la possibilité d'une brisure de symétrie de type axisymétrique, qui détermine ensuite l'axe privilégié de la gastrulation. Dans la suite logique de ses travaux, se trouvent ceux d'A. Spirov qui applique les équations de réaction-diffusion du Brusselator sur une sphère représentant un embryon d'oursin (Spirov, 1993). Le Brusselator est un système particulier de réaction-diffusion proposé par Prigogine (Prigogine et Lefever, 1968). C'est en fait Tyson qui l'a surnommé ainsi en raison de sa création à Bruxelles, en 1973 (Tyson, 1973). Il a été largement repris depuis. Dans le modèle de Spirov, deux morphogènes interagissent et la nouvelle forme de l'embryon est donnée directement par la concentration d'équilibre du premier morphogène. La surface définissant l'embryon est déplacée, selon sa normale, d'une quantité proportionnelle à la concentration de ce morphogène. Une accumulation basale du morphogène produit alors une invagination ressemblant à celle de l'oursin.

Nous pouvons aussi citer les modèles de P. Maini et co-auteurs qui se sont intéressés à la modélisation d'un aspect précis de la gastrulation du poulet : les mouvements de la ligne primitive (Painter *et al.* 2000 ; Page *et al.*, 2001). Cette ligne primitive se forme au début de la gastrulation et s'allonge le long de l'axe antéropostérieur de l'embryon avant de régresser. Le modèle considère une sous-population de cellules qui contient la future ligne primitive. Cette population répond à un attracteur chimique. La densité de cellules et la concentration d'attracteur forment un système de réaction-diffusion avec un terme de chimiotaxie, capable de reproduire les mouvements de la ligne.

Modèles « physiques »

En 1981, paraissent les travaux de G. Odell, G. Oster *et al.* qui présentent des simulations de la gastrulation et autres invaginations, en se basant essentiellement sur des considérations mécaniques (Odell *et al.*, 1981). Le nom de l'article est d'ailleurs évocateur : « The mechanical basis of morphogenesis », comme une réponse ou du moins une alternative à la théorie dominante de Turing. Ces travaux mettent l'accent sur les aspects mécaniques de la morphogenèse, largement délaissés par Turing. Ils utilisent, bien avant la mode actuelle, une modélisation multi-agents, en considérant chaque cellule d'un épithélium circulaire. Toutes ces cellules sont constituées d'unités viscoélastiques qui représentent les filaments du cytosquelette. Seul le filament apical est actif et l'ensemble évolue selon les lois de Newton. Une cellule déterminée se contracte et induit des vagues de contraction à la surface de l'épithélium, ce qui génère l'invagination. Ce modèle est remarquable, car il montre que ce formalisme mécanique peut générer tout le processus jusqu'à la fermeture du petit cylindre, résultat jamais obtenu par un modèle chimique.

Quatorze années plus tard, Oster co-écrit un nouveau papier à propos de la modélisation de la gastrulation avec notamment L. Davidson (Davidson *et al.*, 1995). L'application vise en particulier la gastrulation de l'oursin qui ne nécessite pas de fermeture du tube interne. L'embryon est considéré de symétrie sphérique et le modèle ne considère qu'un quart de sa géométrie prise au niveau du pôle végétatif. La modélisation utilise des équations de la mécanique des milieux continus. Trois tissus sont pris en compte, une couche de cellules et deux couches de la matrice extracellulaires, la lame basale interne et une couche de hyaline externe. Ce travail compare les différentes hypothèses biologiques candidates à l'explication de l'invagination de l'oursin et utilise des ordres de grandeurs réalistes pour les paramètres. Parmi ces hypothèses, la plus courante est que cette invagination résulte de différentes constriction apicales des cellules. La réduction du périmètre externe de certaines cellules et l'augmentation en conséquence de leur périmètre basal causeraient l'invagination. Selon chaque hypothèse, la structure est soumise à certaines forces et l'équilibre statique résultant présente un début d'invagination, dont l'amplitude est étudiée en fonction de certains paramètres. Chaque hypothèse nécessite une gamme précise de paramètres.

Plus récemment, la modélisation de la gastrulation a été traitée par un modèle multi-agents où les dynamiques épithéliales répondent à des considérations énergétiques (Drasdo, 2000 ; Drasdo et Forgacs, 2000).

7.2 Modélisation cellulaire de l'invagination

Notre motivation a été de construire un modèle cellulaire d'invagination qui pourrait, en quelque sorte, « réconcilier » les modèles préexistants, en prenant en compte, à pied d'égalité, les aspects chimiques et mécaniques. Nous mettons en jeu un scénario biologique selon lequel l'activation du gène Rho dans le noyau de certaines cellules déclenche la production d'une substance morphogénétique diffusible. La concentration de cette substance agit directement sur l'intensité des forces intracellulaires qui vont produire des déformations cellulaires et tissulaires.

Ce modèle d'invagination est méthodologiquement semblable à celui de la croissance radiale secondaire des conifères. On considère une coupe transversale d'embryon dont le pourtour est constitué d'une couche de cellules jointives (épithélium). À l'image du cambium dans le modèle de croissance radiale, cet épithélium sera modélisé à l'échelle cellulaire. Il est défini par l'ensemble de ses N cellules constitutives. À l'état initial, cette couche est modélisée comme un anneau délimité par deux cercles concentriques (ou des ellipses). Cet anneau représente la coupe transversale d'une sphère dans le cas de l'oursin et d'un cylindre dans le cas de la drosophile. Il est découpé en cellules de taille homogène.

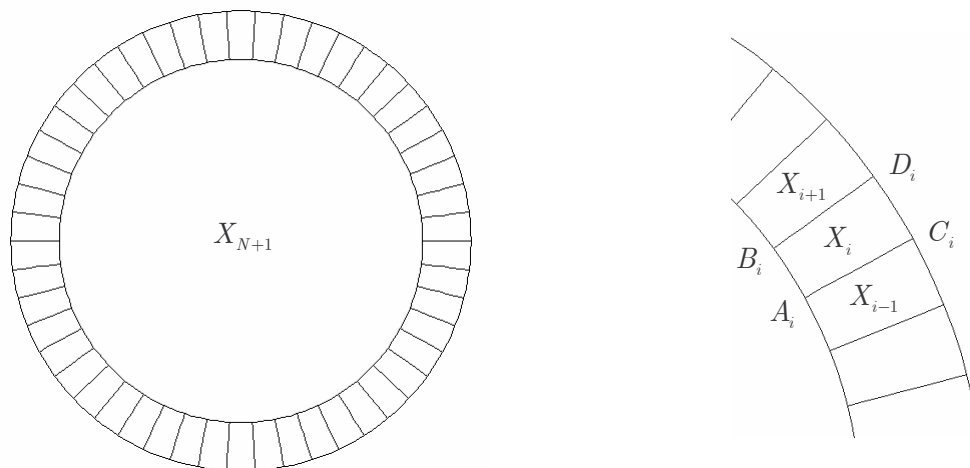


Figure 7.3. Exemple de géométrie initiale.

Dynamique cellulaire

Nous noterons Γ l'épithélium et X_i ses cellules constitutives : $\Gamma(t) = \{X_i(t), i = 1, \dots, N\}$. Nous définissons, comme pour le cambium, quatre points pour chaque cellule : A_i et B_i sont situés du côté basal de la cellule alors que C_i et D_i sont du côté apical. Selon les implémentations, la forme initiale des cellules sera soit un quadrilatère $ACDB$, soit une portion de couronne. Nous considérerons aussi le milieu interne X_{N+1} , qui est le centre de l'embryon. Il est initialement décrit par le polygone régulier $A_1A_2\dots A_{N-1}A_NA_1$ de N côtés, ou par un cercle. L'embryon est décrit par sa géométrie totale $\Omega(t) = \Gamma(t) \cup X_{N+1}(t)$.

Contrairement au modèle du cambium, les lois de comportement des cellules sont décrites de manière continue. Nous assignons en effet à chaque cellule une même loi de la mécanique des milieux continus : les cellules, tout comme le milieu interne, sont considérées comme étant des corps élastiques.

L'application du bilan de forces pour chaque domaine fournit $N + 1$ équations, qui régissent l'évolution du système :

$$\forall i \in [1, \dots, N + 1], \rho_i \vec{\gamma}_i = \nabla \cdot \sigma_i + \vec{F}_i \quad (7.1)$$

où ρ est la densité du milieu, $\vec{\gamma}$ est l'accélération en tous points, σ est le tenseur des contraintes et \vec{F} l'ensemble des forces volumiques appliquées. Toutes ces variables sont indicées par le numéro de la cellule. L'indice $N + 1$ fait référence au milieu interne.

L'accélération est donnée par $\vec{\gamma}_i = \frac{\partial^2 \vec{u}_i}{\partial t^2}$, $\vec{u}_i(x, t)$ étant le vecteur déplacement du point $x \in X_i$, au temps t . Nous noterons $\vec{u}(x, t)$ le vecteur déplacement relatif à tout l'embryon, dont la restriction au domaine i est égale à \vec{u}_i . Les N premières équations correspondent à l'évolution des N cellules, la dernière donne l'évolution du milieu interne.

Un milieu est caractérisé par sa loi de comportement qui relie le tenseur des contraintes σ au tenseur des déformations ε . Ce tenseur est défini à partir des dérivées

spatiales des déplacements. Dans l'hypothèse des petites déformations, il s'écrit :

$$\varepsilon = \frac{1}{2}(\nabla \vec{u} + \nabla \vec{u}^T).$$

Pour simplifier, le milieu intérieur et chaque cellule seront supposés linéaires et isotropes, ceci permettant d'écrire une relation simple entre les tenseurs :

$$\sigma_i = \lambda_i \nabla \cdot \vec{u}_i [I] + 2\mu_i \varepsilon_i \quad (7.2)$$

où $[I]$ est la matrice identité. λ_i et μ_i sont les coefficients de Lamé du milieu i . On utilisera plutôt deux autres coefficients : le module d'Young E_i et le coefficient de Poisson ν_i . Ces coefficients ont une interprétation physique directe : le module d'Young rend compte de l'élasticité des cellules et le coefficient de Poisson de leur taux de compression. Les E_i et les ν_i sont reliés aux λ_i et μ_i par les relations : $\lambda_i = \frac{E_i \nu_i}{(1 + \nu_i)(1 - 2\nu_i)}$ et $\mu_i = \frac{E_i}{2(1 + \nu_i)}$.

Comme on affecte une loi de comportement homogène à chaque cellule épithéliale, on choisit : $\forall i \in [1, \dots, N]$, $E_i = E$, $\nu_i = \nu$ et $\rho_i = \rho$, E , ν et ρ étant les valeurs de références.

On affecte des conditions de non-glissement sur les parois cellulaires, pour conserver la structure épithéliale, et aux interfaces entre les cellules et le cœur de l'embryon : $\forall i \in [1, \dots, N]$, $\forall x \in [A_i C_i]$, $\vec{u}_{i-1}(x, \cdot) = \vec{u}_i(x, \cdot)$ et $\forall x \in [A_i B_i]$, $\vec{u}_i(x, \cdot) = \vec{u}_{N+1}(x, \cdot)$ (conditions périodiques).

Nous considérons aussi qu'à l'instant initial l'embryon est au repos : $\vec{u}(\cdot, 0) = \vec{0}$.

Expression des forces

Pour $i = 1, \dots, N$, $\vec{F}_i(t)$ est la force à laquelle est soumise la cellule X_i au temps t .

$$\chi : \mathbb{R}^2 \times Q \rightarrow \{0, 1\}$$

On utilise la fonction χ , définie par l'équation (3.12) comme :

$$(M, \Omega) \mapsto \begin{cases} 1, & \text{si } M \in \Omega. \\ 0, & \text{sinon} \end{cases}$$

Q étant l'ensemble des domaines connexes du plan, éventuellement réduits à un point.

Chaque cellule est soumise à des forces ponctuelles de constriction apicale et d'extension basale. Les forces de constriction apicale s'écrivent :

$$\vec{F}_{i,C}(x,t) = f(\alpha_i(t)) \left(\frac{\vec{C_i D_i}(t)}{\|\vec{C_i D_i}(t)\|} \right) \chi(x, C_i(t)), \text{ qui s'applique exclusivement au point } C_i.$$

$$\vec{F}_{i,D}(x,t) = -f(\alpha_i(t)) \left(\frac{\vec{C_i D_i}(t)}{\|\vec{C_i D_i}(t)\|} \right) \chi(x, D_i(t)), \text{ qui s'applique exclusivement au point } D_i.$$

et les forces d'extension basale s'écrivent :

$$\vec{F}_{i,A}(x,t) = -f(\alpha_i(t)) \left(\frac{\vec{A_i B_i}(t)}{\|\vec{A_i B_i}(t)\|} \right) \chi(x, A_i(t)), \text{ qui s'applique exclusivement au point } A_i.$$

$$\vec{F}_{i,B}(x,t) = f(\alpha_i(t)) \left(\frac{\vec{A_i B_i}(t)}{\|\vec{A_i B_i}(t)\|} \right) \chi(x, B_i(t)), \text{ qui s'applique exclusivement au point } B_i.$$

L'intensité des forces est donnée par une fonction f , qui dépend de la variable α_i , elle-même relative à la partie chimique du modèle.

Le bilan des forces fournit :

$$\forall i \in [1, \dots, N], \vec{F}_i = \vec{F}_{i,A} + \vec{F}_{i,B} + \vec{F}_{i,C} + \vec{F}_{i,D} \quad (7.3)$$

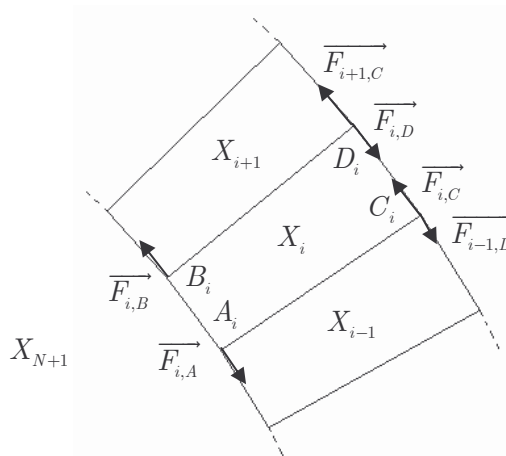


Figure 7.4. Représentation de quelques forces ponctuelles.

Les 4 sommets des cellules sont ainsi affectés par une force, sauf pour une série de sommets S (points fixes), pour lesquels on interdit tout déplacement : $\forall x \in S, \vec{u}(x, \cdot) = \vec{0}$.

Les côtés externes ne sont affectés d'aucune force (conditions dites libres) :

$$\forall i \in [1, \dots, N], \forall x \in [C_i D_i], \sigma_i(x, \cdot) \vec{n}(x, \cdot) = \vec{0}.$$

Système de contrôle chimique

On considère que la variable α_i apparaissant dans l'expression des forces de constriction est directement corrélée à la concentration C d'un morphogène dans la cellule X_i . Les variables α_i sont définies par :

$$\alpha_i(t) = \int_{X_i(t)} C(x, t) dx \quad (7.4)$$

Comme vu précédemment, l'amplitude des forces de constriction et d'extension de la cellule X_i est donnée par $f(\alpha_i)$. La fonction f est en générale choisie linéaire : dans ce cas, les forces appliquées à chaque cellule X_i sont proportionnelles à la quantité de morphogène dans X_i . Nous avons aussi utilisé des fonctions f non-linéaires, pour exprimer, par exemple, que la norme des forces s'intensifie, si α_i franchit une valeur seuil.

Le scénario le plus simple pour l'évolution de la concentration C est de considérer que la substance est produite par des sources à partir d'instant donné. Les quantités produites diffusent alors librement dans l'embryon. L'évolution de la concentration du morphogène est alors régie par une équation de diffusion, avec un terme de production Ψ , défini sur tout le domaine Ω . La constante de diffusion est notée D_C .

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_C \Delta C + \Psi \quad (7.5)$$

Nous modélisons le morphogène comme étant un produit génique, sécrété par l'activation d'un gène dans le noyau des cellules productrices. Le noyau d'une cellule X_i est représenté par un cercle Γ_i , de faible rayon, situé au centre de masse de la cellule. On note de plus $\delta_i(t)$

la production du morphogène C par le noyau Γ_i au temps t . $\delta_{N+1}(t) = 0$, car le centre de l'embryon ne produit pas le morphogène. Le terme $\delta_i(t)$ est d'ailleurs souvent nul puisque seul un nombre restreint de cellules sera choisi comme source de morphogène. Le terme Ψ s'exprime par :

$$\Psi(x, t) = \sum_{i=1}^N \delta_i(t) \chi(x, \Gamma_i(t)) \quad (7.6)$$

Nous fixons des conditions de flux nul vers l'extérieur de l'embryon. Nous imposons ainsi, sur les frontières extérieures, les conditions aux bords suivantes (conditions de Neumann homogènes) :

$$\forall x \in \bigcup_{i=1}^N [C_i D_i], \quad D_C \nabla C(x, \cdot) \cdot \vec{n}(x, \cdot) = 0.$$

Formulation différentielle finale

Trouver $\vec{u}(x, t)$ et $C(x, t)$ tels que :

Sur $X_i(t)$, pour $i = 1, \dots, N$

$$\left\{ \begin{array}{l} \rho \frac{\partial^2 \vec{u}_i}{\partial t^2}(x, t) = \nabla \cdot \sigma_i(x, t) + \left(f(\alpha_i(t)) \chi(x, D_i(t)) - f(\alpha_i(t)) \chi(x, C_i(t)) \right) \left(\frac{\overrightarrow{D_i C_i}(t)}{\|\overrightarrow{D_i C_i}(t)\|} \right) \\ \quad + \left(f(\alpha_i(t)) \chi(x, B_i(t)) - f(\alpha_i(t)) \chi(x, A_i(t)) \right) \left(\frac{\overrightarrow{A_i B_i}(t)}{\|\overrightarrow{A_i B_i}(t)\|} \right) \\ \sigma_i = \lambda \nabla \cdot \vec{u}_i [I] + \mu (\nabla \vec{u}_i + \nabla \vec{u}_i^T) \\ \alpha_i(t) = \int_{X_i(t)} C_i(x, t) dx \end{array} \right.$$

Sur $X_{N+1}(t)$,

$$\left\{ \begin{array}{l} \rho_{N+1} \frac{\partial^2 \vec{u}_{N+1}}{\partial t^2} = \nabla \cdot \sigma_{N+1} \\ \sigma_{N+1} = \lambda_{N+1} \nabla \cdot \vec{u}_{N+1} [I] + \mu_{N+1} (\nabla \vec{u}_{N+1} + \nabla \vec{u}_{N+1}^T) \end{array} \right.$$

Sur $\Omega(t) = \bigcup_{i=1}^{N+1} X_i(t)$,

$$\left\{ \frac{\partial C}{\partial t}(x, t) = D_C \Delta C(x, t) + \sum_{i=1}^N \delta_i(t) \chi(x, \Gamma_i(t)) \right.$$

avec les conditions aux bords :

$$\left\{ \begin{array}{l} \forall x \in S, \vec{u}_i(x, \cdot) = \vec{0} \\ \forall i \in [1..N], \forall x \in [A_i C_i] \cup [B_i D_i], \vec{u}_{i-1}(x, \cdot) = \vec{u}_i(x, \cdot) \\ \forall i \in [1..N], \forall x \in [A_i B_i], \vec{u}_i(x, \cdot) = \vec{u}_{N+1}(x, \cdot) \\ \forall i \in [1..N], \forall x \in [C_i D_i], \sigma_i(x, \cdot) \vec{n}(x, \cdot) = \vec{0} \\ \forall i \in [1..N], \forall x \in [C_i D_i], D_C \nabla C(x, \cdot) \cdot \vec{n}(x, \cdot) = 0 \end{array} \right.$$

et les conditions initiales sur $\Omega(0)$:

$$\left\{ \begin{array}{l} C(\cdot, 0) = 0 \\ \vec{u}(\cdot, 0) = \vec{0} \end{array} \right.$$

7.3 Premiers résultats

Implémentation et hypothèses d'évolution

Ce modèle a été implémenté sous l'environnement Matlab[®] 6.5 - Femlab[®] 3.0. Deux implémentations ont été utilisées. La première consiste à définir le problème sous Matlab[®] (création de la géométrie, des constantes, des variables,...), puis à l'importer sous Femlab[®] pour calculer les déplacements. Selon cette implémentation, les cellules sont des quadrilatères et le milieu intérieur est un polygone. On définit alors, pour chaque pas de temps, la nouvelle géométrie sous Matlab[®] en calculant les nouvelles positions de tous les points de la géométrie de l'embryon. On relie les nouveaux points pour reconstruire des quadrilatères et un polygone central, et répéter ensuite le procédé. La deuxième implémentation utilise Matlab[®] uniquement pour définir le problème (variables, équations,...) de manière automatique. Le modèle initial, une fois posé, est entièrement exécuté sous Femlab[®]. Les cellules sont alors initialement des portions de couronne et leur forme peut ensuite être quelconque, selon le résultat des équations. En pratique, pour cette implémentation, le domaine interne de l'embryon est séparé en deux parties égales par une ligne centrale verticale où l'on impose un déplacement horizontal nul. Ceci permet de conserver la symétrie du problème par rapport à l'axe vertical, sinon elle serait brisée par cumul d'erreurs numériques. Pour renforcer ce respect de la symétrie, on rajoute une dernière condition de symétrie pour les déplacements des points définissant la (ou les deux) cellule(s) centrale(s) basse(s).

La première implémentation permet de tester un développement où, à chaque pas de temps, les déformations résiduelles sont annulées. Selon cette hypothèse, suite à l'action de la distribution de force, l'embryon adopte une structure stable, après un réarrangement supposé des structures filamenteuses d'actine. Dans ce cas, l'évolution est considérée comme une succession d'états d'équilibre mécanique. Selon la deuxième implémentation, le développement est entièrement élastique : les cellules résistent constamment aux déformations et tendent à retourner dans leur configuration initiale, dans le cas où les forces s'annulent ou s'affaiblissent.

Pour calculer les solutions du problème entre l'instant initial $t = 0$ et $t = 1$, avec un pas de temps $dt = 0.1$, la première implémentation demande 10 minutes de calcul environ et la seconde la moitié de temps.

Conditions de référence des simulations

- Sauf indication contraire, nous utilisons les références suivantes pour les valeurs des paramètres, exprimées dans le système international : $N = 50$, $E = 1000$, $\nu = \nu_{N+1} = 0.45$, $\frac{E}{20000} \leq E_{N+1} \leq \frac{E}{200}$, $\rho = \rho_{N+1} = 7000$, $D_C = 10^{-9}$.
- La fonction f est linéaire : $f(x) = kx$.
- Un nombre déterminé de noyaux de cellules produit le morphogène de manière constante et synchrone : pour ces cellules, la fonction de production $\delta_i(t)$ est prise constante en temps et en espace. On affecte aux autres une production nulle : $\delta_i(t) = 0$.
- La géométrie initiale de la zone interne de l'embryon est définie à partir d'un cercle de rayon égal à $150 \mu\text{m}$. Les cellules ont une longueur radiale de $40 \mu\text{m}$.
- On choisit entre 3 et 5 points fixes (les éléments de S), situés sur le périmètre basal des cellules centrales hautes.

Implémentation « non élastique »

La Figure 7.5 montre un exemple de résultat du modèle, implémenté de manière « non élastique », à six instants du développement. Pour cette figure et pour les suivantes, l'échelle de couleur représente la concentration du morphogène avec les faibles concentrations en bleu et les fortes concentrations en rouge. Pour se rendre compte de l'amplitude des invaginations, nous avons tracé sur chaque résultat, en pointillé, le cercle délimitant la forme externe initiale de l'embryon. Les simulations produisent une invagination particulièrement marquée qui ressemble à celle de la gastrulation de l'oursin.

Comme les milieux sont supposés se réorganiser constamment en forme stable, l'intérieur de l'embryon subit une réduction progressive de taille peu réaliste. S'il était prouvé biologiquement que, pendant ce processus, les cellules prolifèrent, on pourrait compenser cette perte de volume par une création de matière par prolifération.

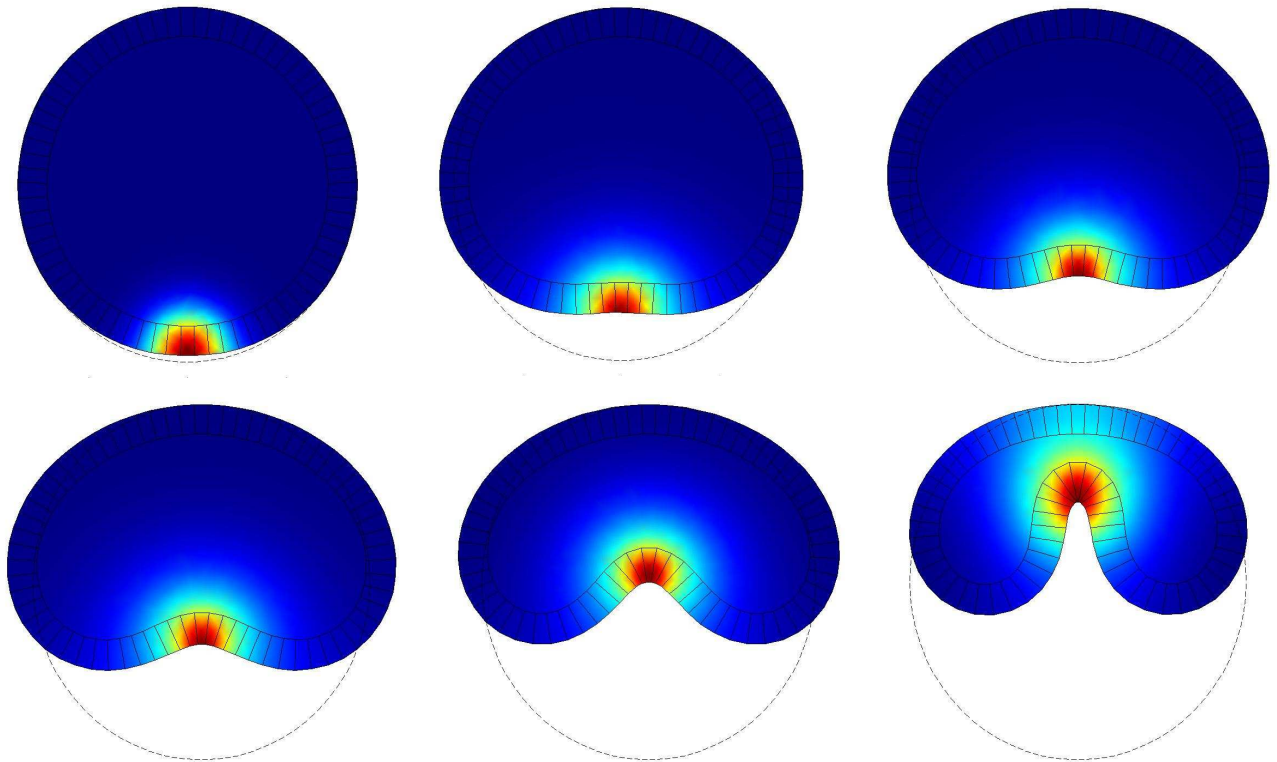


Figure 7.5. Simulation du modèle avec trois cellules productrices de morphogène. Observations aux instants $t = 0.5, 2, 2.2, 2.5, 2.7, 3.2, 4$ (de gauche à droite et de haut en bas).

Implémentation « élastique »

Les Figures 7.6 et 7.7 présentent deux résultats de simulations obtenus avec l'implémentation « élastique », chacun observé à six instants du développement. La première de ces deux figures montre l'évolution de la forme de l'embryon lorsqu'une seule cellule, située au centre de l'épithélium, en bas, produit le morphogène. La seconde figure est réalisée dans les mêmes conditions, mais avec quatre cellules productrices, situées de part et d'autre de la cellule centrale basse.

Nous constatons que les cellules productrices de morphogène reproduisent bien les changements de forme caractéristiques des « bottle cells » (Figure 7.1), par constriction apicale et extension basale. Elles induisent aussi des changements de forme, moins prononcés, chez leurs voisines. Avec une seule cellule productrice, l'invagination engendrée est déjà conséquente (Figure 7.6). La simulation de la Figure 7.7 permet de mettre en évidence une invagination plus marquée et le début de la formation d'un arrangement circulaire entre les cellules centrales basses, caractéristiques de la formation du sillon ventral de la drosophile.

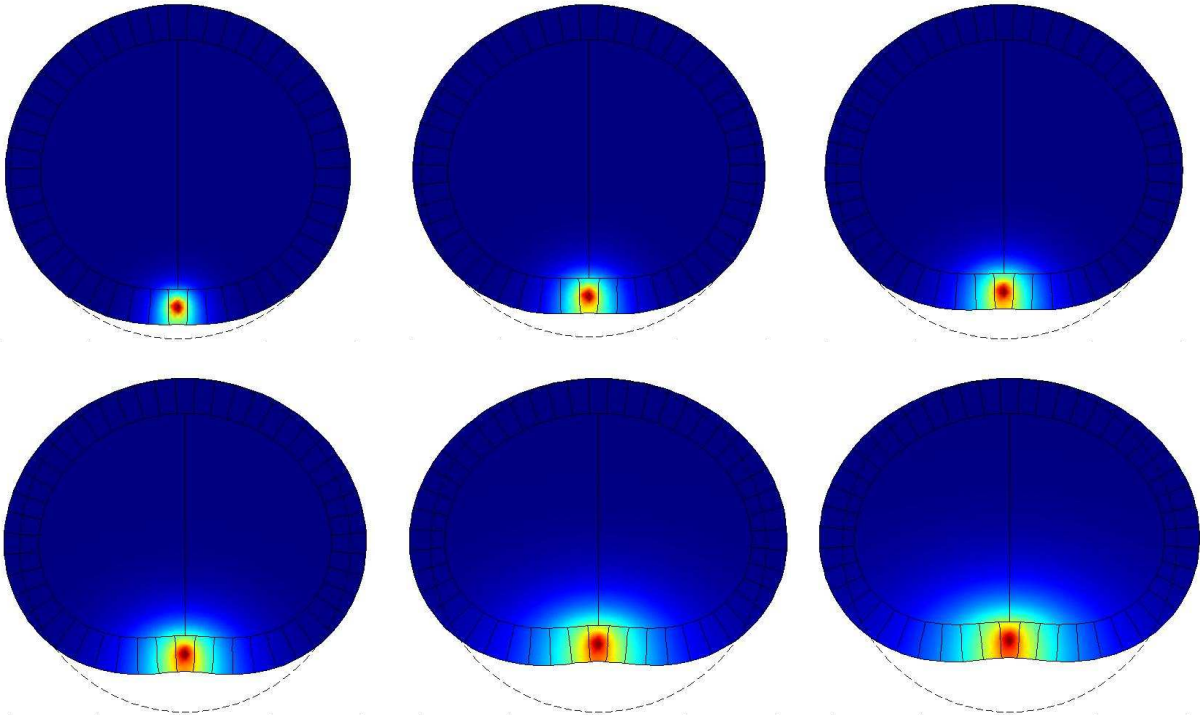


Figure 7.6. Simulation du modèle avec une seule cellule productrice de morphogène. Observations aux instants $t = 0.5, 1, 1.5, 2.5, 4.5, 6$ (de gauche à droite et de haut en bas).

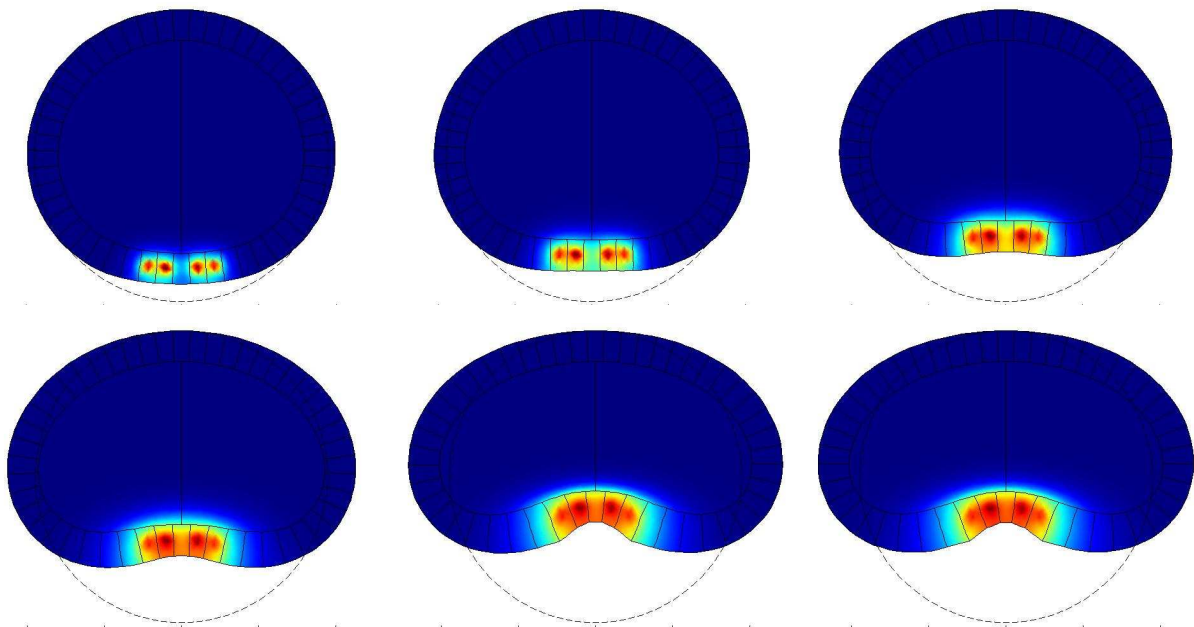


Figure 7.7. Simulation du modèle avec quatre cellules productrices. Observations aux instants $t = 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.4, 1.6$ (de gauche à droite et de haut en bas).

La Figure 7.8 montre d'autres résultats de simulation, réalisées dans de nouvelles conditions. La Figure 7.8a présente un résultat obtenu en partant de cinq cellules émettrices centrales, situées en bas de l'embryon. L'invagination obtenue est marquée et la courbure est très régulière. La Figure 7.8b est un résultat pour un épithélium de 70 cellules, dont 7 productrices. Enfin, la Figure 7.8c a été réalisée dans les mêmes conditions que la Figure 7.6,

mais avec la fonction d'activation non-linéaire $f(x) = 3e^{-5} \left(1 - \frac{1}{1 + \left(\frac{x}{10^{-10}} \right)^2} \right)$. Le graphe de

cette fonction est représenté sur la Figure 7.9. L'avantage de ce type de non-linéarité est de pouvoir utiliser des fonctions d'activation plus réalistes, qui permettent notamment d'implémenter un plafonnement de la valeur de l'intensité des forces.

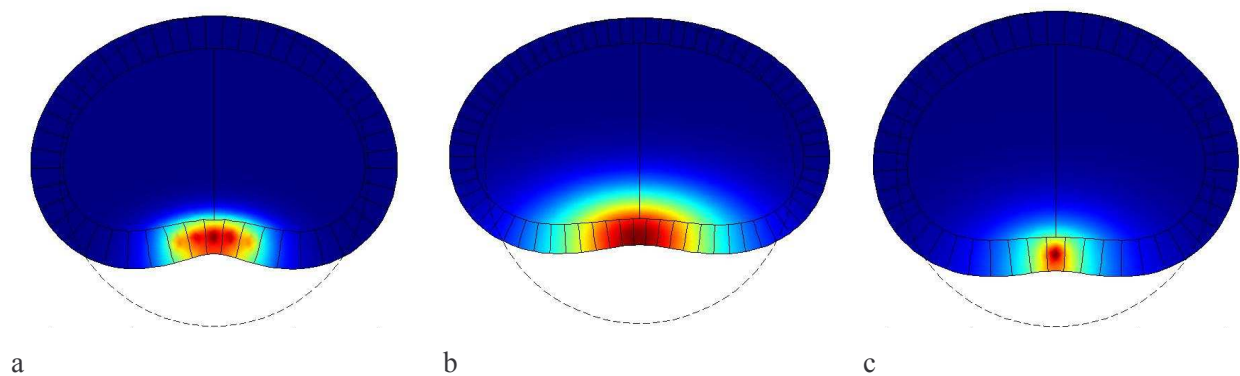


Figure 7.8. Autres résultats de simulation.

- (a) En prenant initialement cinq cellules productrices (observation à $t = 1$).
- (b) En prenant 70 cellules épithéliales, dont 7 cellules productrices (observation à $t = 3$).
- (c) Même condition que pour la Figure 7.6, mais avec une fonction d'activation f non-linéaire, observation à $t = 4$.

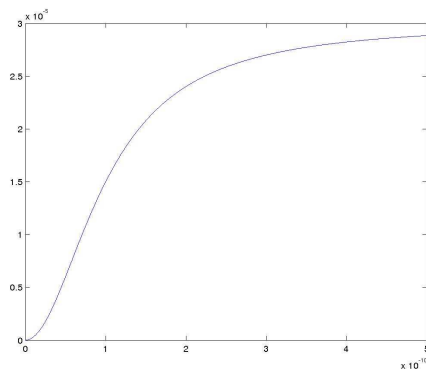


Figure 7.9. Graphe de la fonction f non-linéaire utilisée pour la simulation de la Figure 7.8c.

7.4 Conclusion et perspectives

Cette partie présente un modèle de morphogénèse essentiellement fondé sur la migration et la déformation cellulaire. Nous avons montré comment le couplage entre la diffusion d'un morphogène et la constriction apicale des cellules peut rendre compte de l'invagination épithéliale, primordiale dans la réalisation de la gastrulation. Selon les conditions des simulations, les résultats donnent à penser à l'invagination observée chez l'oursin ou chez la drosophile, comme le confirme la Figure 7.10, qui montre des exemples de formes embryonnaires réelles pendant la gastrulation de ces deux espèces.

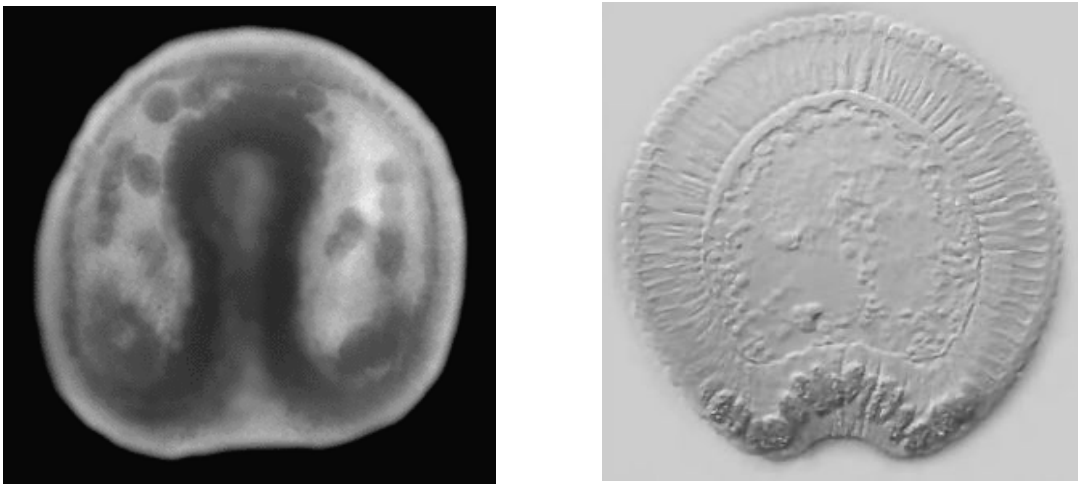


Figure 7.10. Observations expérimentales de l'invagination.

(a) Observation d'un embryon d'oursin (Delarue, 2005).

(b) Observation d'un embryon de drosophile (image extraite d'un film de la base de donnée Flybase, (Flybase, 2005)).

Le modèle, bien qu'extrêmement simplifié, voir naïf dans certaines de ses hypothèses, présente l'intérêt de rassembler de manière simple différents concepts biologiques et de modélisation. Nous parlions, dans l'introduction générale, des différents niveaux d'organisation en biologie : ce modèle intègre les niveaux du gène, du produit génique, de la cellule et du tissu. Le gène active un produit génique qui diffuse. Les cellules se contractent en fonction de la concentration de la substance, ce qui produit l'invagination du tissu. L'approche est simpliste, puisque les interactions inter-niveaux sont « unidirectionnelles », toujours dans le sens du niveau de petite échelle de taille vers le niveau de plus grande échelle de taille. Cependant, le cadre de la modélisation offre la possibilité de complexifier le modèle,

en intégrant par exemple les composants des réseaux métaboliques et génétique de l'actine ou de la tubuline, permettant de considérer la formation des macromolécules nécessaires à la contraction cellulaire, les polymères d'actine et les microtubules. D'un point de vue de la modélisation, le modèle permet aussi d'associer des composantes chimiques et biomécaniques, ce qui augmente le réalisme du modèle. Nous avons vu, dans l'état de l'art des modèles de la gastrulation, que les modèles préexistants sont toujours chimiques ou mécaniques. Les études expérimentales ont montré l'importance des deux aspects qu'il convient donc de rassembler, pour étudier la coopération de leurs effets.

Notre modèle permet d'étudier un aspect déterminant de la morphogenèse, celui de l'ordonnement et de la localisation des événements. Dans le cas de l'invagination, une question importante est de savoir quel ensemble de cellules va se déformer activement, et à quels instants. Nous avons montré dans les résultats que, selon notre modèle, plusieurs dispositions de cellules productrices peuvent amener à une invagination. Nous n'avons par contre pas encore étudié l'effet d'un déclenchement asynchrone de la production des cellules.

Les premiers résultats de ce modèle annoncent de nombreuses perspectives de travail. Les deux manières d'implémenter montrent qu'un des points importants pour améliorer ce modèle, est de proposer une loi biomécanique de comportement plus réaliste pour les cellules de l'embryon. Elles doivent en effet posséder une composante élastique, prenant en compte le retour possible à la forme précédente, mais une loi de comportement plus réaliste doit aussi inclure la forme de « bottle cell » comme nouvelle forme stable, établie par un réarrangement stable des structures d'actine et des microtubules dans la cellule. Pour le moment, nous avons traité deux cas extrêmes : le cas où le réseau d'actine se réarrange constamment, définissant chaque nouvelle forme comme une forme stable (première implémentation) et le cas où tous les comportements sont purement élastiques (deuxième implémentation). Une première tentative consisterait à inclure des termes de viscosité dans l'expression du tenseur des contraintes.

Une autre perspective est d'implémenter le modèle en trois dimensions, pour étudier le phénomène dans sa globalité et prendre en compte plus précisément la localisation du déclenchement des changements de formes cellulaires dans le contexte tridimensionnel. Il serait aussi souhaitable d'étudier l'utilité de ce modèle pour d'autres phénomènes analogues, comme la neurulation.

La suite logique de ce travail sur l'invagination est la modélisation de la fermeture du sillon ventral de la drosophile, illustrée par la troisième phase de la Figure 7.1. Un axe futur de nos recherches sera ainsi l'obtention naturelle de cette fermeture, à partir du formalisme présenté dans cette partie. Pour cela, la complexification de la loi de comportement évoquée précédemment est nécessaire pour permettre aux cellules qui commencent à former le sillon ventral de conserver leur forme. Il sera aussi indispensable de pouvoir détecter les contacts entre les cellules, même si elles ne sont pas voisines dans l'épithélium, pour pouvoir établir le raccord de la partie inférieure du sillon.

Nous souhaitons également proposer un modèle de ce phénomène pouvant prendre en compte la prolifération cellulaire. Les études expérimentales sur l'existence et le rôle de la prolifération cellulaire au moment de la formation du sillon ventral ont donné lieu à des conclusions divergentes, le débat n'étant pas clos. Dans le cas analogue du sillon neural dorsal, l'existence de la prolifération semble indéniable (Stern *et al.*, 1988). En ce qui concerne la formation du sillon ventral, Grosshans et Wieschaus soutiennent par exemple que les cellules les plus ventrales de l'embryon de drosophile prolifèrent, une fois l'invagination complètement formée (Grosshans et Wieschaus, 2000). Ces auteurs pensent que les processus de constriction et de division se suivent, sans être simultanés, car ils requièrent tous deux une réorganisation spécifique du cytosquelette des cellules concernées. Selon les observations, le périmètre de l'épithélium de l'embryon, envisagé dans une coupe transversale, semble augmenter pendant la gastrulation, ce qui plaide en faveur de la production de nouvelles cellules. L'intérêt d'un tel modèle serait alors de pouvoir discuter des conditions de compatibilité entre les aspects mécaniques, pris en compte dans l'état actuel de notre modèle, et la prolifération cellulaire. Selon un scénario probable, les cellules en bouteille seraient une espèce différenciée stable des cellules rectangulaires. La différenciation serait alors le résultat d'un changement d'attracteur dans la dynamique du réseau d'interaction génétique (Aracena, à paraître).

La fermeture du sillon ventral de la drosophile implique l'établissement de toute une population connexe de cellules en bouteille ou trapézoïdales. Si l'on considère, à partir d'une situation homogène, qu'une ou plusieurs cellules commence(nt) le processus de transformation en « bottle cell », la généralisation du caractère « bottle cell » aux cellules voisines peut s'effectuer selon plusieurs moyens. Le premier est le moyen mécanique, utilisé dans le modèle actuel. Il suppose qu'un produit génique, sécrété par les cellules actives, diffuse dans le tissu en entraînant une vague de constriction. On peut également penser que le type trapézoïdal en bouteille se généralise par un processus de différenciation par voisinage,

comme évoqué dans la partie 6. Nous pouvons aussi suggérer que les cellules différenciées en bottle cell se reproduisent activement par mitose, produisant de nouvelles cellules trapézoïdales par positionnement longitudinal du nouveau mur cellulaire. Ceci nécessiterait une localisation précise de la prolifération, compatible avec les résultats qui plaident pour une absence quasi-totale de prolifération au niveau global de l'embryon. Il est probable que l'extension du caractère « bottle cell » se réalise par une action organisée des différents mécanismes évoqués.

De plus, les cellules de l'épithélium assimilent les métabolites nécessaires à leur fonctionnement, en grande partie à travers leur côté extérieur, décrit par le côté $[C_i, D_i]$ dans notre modèle. Si l'on reprend le critère de division de René Thom, utilisé dans le modèle discret de prolifération cambiale, la réduction du côté extérieur par constriction apicale stimule la prolifération. En effet, selon ce critère, la mitose intervient lorsque le ratio entre le périmètre utile de la cellule $[C_i, D_i]$ et son aire devient inférieur à un seuil critique. Dans ce cas, la population des « bottle cells » peut être caractérisée par un cycle cellulaire court au contraire des autres cellules. Le critère de R. Thom pourrait alors expliquer naturellement que les cellules de type « bottle cell » prolifèrent rapidement, alors que les autres cellules épithéliales demeurent stables pendant la formation du sillon ventral. Le critère pourrait de plus, selon les paramètres, déclencher les mitoses seulement une fois l'invagination établie.

7.5 Bibliographie

1. Aracena, J., González M., Méndez M.A., and Cambiazo V. Regulatory network for cell shape changes during *Drosophila* ventral furrow formation. *J. Theor. Biol. In Press*.
2. Davidson, L.A., Koehl M.A.R., Keller R.E. and Oster G. F. (1995). How do sea urchins invaginate ? Using biomechanics to distinguish between mechanisms of primary invagination. *Development* 121, 2005-2018.
3. Drasdo, D. and Forgacs G. (2000). Modeling the interplay of generic and genetic in Cleavage, Blastulation and Gastrulation. *Dev. Dyn.* 219(2), 182-191.
4. Drasdo, D. (2000). Buckling Instabilities in One-Layered Growing Tissues. *Phys. Rev. Letters* 84, 4424-4427.
5. Grosshans, J. and Wieschaus E. (2000). A genetic link between morphogenesis and cell division during formation of the ventral furrow in *Drosophila*. *Cell* 101(5), 523-531.
6. Hardin, J. and Keller R. (1988). The behavior and function of bottle cells in gastrulation of *Xenopus laevis*. *Development* 103, 211-230.
7. Kimberly, E.L. and Hardin J. (1998). Bottle cells are required for the initiation of primary invagination in the sea urchin embryo. *Dev. Biol.* 204, 235-250.
8. Leptin, M. and Grunewald B. (1990). Cell shape changes during gastrulation in *Drosophila*. *Development* 110, 73-84.
9. Leptin, M. (1999). Gastrulation in *Drosophila* : the logic and cellular mechanisms. *The EMBO journal* 18(12), 3187-3192.
10. Lewis, W.H. (1947). Mechanics of invagination. *Anat. Rec.* 97, 139-156.

11. Nakajima, Y. and Burke R.D. (1996). The initial phase of gastrulation in sea urchin is accompanied by the formation of bottle cells. *Dev. Biol.* 179, 436-446.
12. Oda, H. and Tsukita S. (2001). Real-time imaging of cell-cell adherens junctions reveals that *Drosophila* mesoderm invagination begins with two phases of apical constriction of cells *J. Cell. Sci.* 114, 493-501.
13. Odell, G., Oster G., Alberch P. and Burnside B. (1981). The mechanical basis of morphogenesis I. Epithelial folding and invagination. *Dev. Biol.* 85, 446-462.
14. Page, K.M., Maini P.K., Monk N.A.M., Stern C.D. (2001). A Model of Primitive Streak Initiation in the Chick Embryo. *J. Theor. Biol.* 208, 419-438.
15. Painter, K.J, Maini P.K. and Othmer H.G. (2000). A Chemotactic Model for the Advance and Retreat of Primitive Streak in Avian Development. *Bull. Math. Biol.* 62, 501-52
16. Prigogine, I. and Lefever R. (1968). Symmetry Breaking Instabilities in Dissipative Systems. II, *J. Chem. Phys.* 48, 1695-1700.
17. Rhumbler, L. (1899). Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle ; III. *Arch. f Entw. Mech.* 9, 63.
18. Rhumbler, L. (1902). Zur Mechanik des Gastrulationsvorganges, insbesondere der Invagination. Eine entwicklungsmechanische Studie. (la mécanique du processus de la gastrulation, particulièrement pour l'invagination). *Wilhelm Roux' Arch. Entw. Org.* 14, 401-476.
19. Spirov, A.V. (1993). The change of initial symmetry in the pattern-form interaction model of sea urchin gastrulation. *J. Theor. Biol.* 161, 491-504.
20. Stern, C.D., Fraser S.E., Keynes R.J. and Primmitt D.R. (1988). A cell lineage analysis of segmentation in the chick embryo. *Development* 104 Suppl : 231-44 pp.

21. Turing, A.M. (1952). The chemical basis of morphogenesis. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B* 237, 37-72.
22. Tyson, J. (1973). Come Further Studies of Nonlinear Oscillators in Chemical Systems, *J. Chem. Phys.* 58, 3919-3930.
23. Wolpert, L. (1986). Quoted in *From Egg to Embryo : Determinative Events in Early Development*. Cambridge University Press, Cambridge, 1 pp.
24. Wolpert, L. (1991). *The Triumph of the Embryo*. Oxford : Oxford University Press. 211 pp.

Sites internets

25. Delarue M. (2005). <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/oursinMDC/p4gastrula.html>
26. Flybase. (2005). <http://flybase.bio.indiana.edu/>

8 CONCLUSION GENERALE

La morphogenèse biologique est le sujet central de ce travail de thèse. Les généralités développées dans l'introduction mettent en évidence le caractère fortement pluridisciplinaire de ce thème. Il a d'ailleurs, historiquement, toujours été au centre des préoccupations des biomathématiques et de la biologie théorique, depuis leurs fondements.

Nos études portent sur plusieurs phénomènes précis de morphogenèse. L'application principale est la croissance radiale secondaire des conifères, envisagée plus particulièrement pour l'espèce *Pinus radiata*. Cette application a très peu été explorée par la modélisation mathématique. La deuxième application choisie a été l'invagination épithéliale, qui est un composant important de la gastrulation. Nous nous sommes intéressés plus spécifiquement à l'invagination nécessaire à la mise en place du sillon ventral de la drosophile et à la formation de l'archentéron de l'oursin. Une dernière application a concerné la différenciation cellulaire par voisinage, envisagée de manière générale, puis appliquée au cas spécifique de la différenciation qui accompagne la croissance radiale secondaire.

Ces trois processus sont envisagés à l'échelle cellulaire. L'enjeu de nos modèles est d'étudier l'organisation de la collectivité de cellules, issue de la dynamique propre de chacune d'entre elles. Dans chaque application, les cellules évoluent dans un contexte tissulaire. A chaque fois, un tissu particulier est le principal acteur de la morphogenèse : il s'agit du vasculaire cambium pour la croissance radiale et de l'épithélium externe pour l'invagination. L'application de différenciation prend en compte des cellules appartenant à un tissu indifférencié ou à des tissus spécialisés.

D'une manière générale, les comportements cellulaires responsables des mouvements morphogénétiques, aussi divers soient-ils, se classent en plusieurs catégories :

- la prolifération cellulaire, qui inclut la division et la croissance (augmentation du volume cellulaire).
- la migration cellulaire, qui inclut la déformation (redistribution du volume cellulaire).
- la différenciation cellulaire.
- l'élimination cellulaire, qui inclut l'apoptose (mort programmée) et l'élimination d'un tissu.

Nos trois applications permettent de fournir un exemple pour chacun de ces quatre comportements principaux. La croissance radiale est principalement réalisée par prolifération cellulaire. La dynamique intense de prolifération produit aussi de fort taux d'élimination

cellulaire. L'invagination est essentiellement une conséquence de la migration et de la déformation, alors que l'étude de différenciation par voisinage met en évidence l'importance de la différenciation.

Les comportements cellulaires sont intégrés dans une dynamique tissulaire cohérente au moyen de différents systèmes de contrôle de nature mécanique, chimique ou génétique. Les types de contrôle sont largement interdépendants et interviennent ainsi sur tous les comportements cellulaires évoqués précédemment. Les aspects mécaniques agissent surtout de manière locale (forces de contact entre les cellules, élasticité, taux de compression,...). Ils interviennent globalement si, par exemple, la dynamique est dépendante du champ de gravité, comme dans le cas du transport de l'auxine. Le cas de l'auxine nous donne un exemple où un niveau de contrôle mécanique affecte le contrôle chimique qui, quant à lui, intervient directement au niveau cellulaire. Les contrôles chimiques existent au niveau global ou local, selon les substances (hormones, enzymes, métabolites cellulaires,...). Le niveau génétique est localisé dans le noyau des cellules, mais les substances issues de l'activation des gènes intègrent ensuite le système chimique et peuvent donc agir à plus grande échelle. Nous pouvons donc assimiler le contrôle génique au contrôle plus général chimique.

Un modèle a été développé pour chaque application. Tous ces modèles sont identiques méthodologiquement. Pour prendre en considération le comportement de chaque cellule, le tissu responsable de la morphogenèse est défini par l'ensemble de ses cellules constitutives. Chaque cellule, au sein d'un même tissu, est régie par une même loi de comportement, définie en fonction de l'application. Le tissu responsable de la morphogenèse est ainsi toujours modélisé par un système multi-agents, sa dynamique étant la résultante de tous les comportements cellulaires. La croissance radiale et l'invagination utilisent explicitement un système multi-agents. L'application à la différenciation utilise un automate cellulaire que nous pouvons considérer comme étant un cas particulier de système multi-agents où les cellules conservent des positions fixes. Les lois de comportements cellulaires sont décrites, selon les modèles, par des formalismes différents. Pour la croissance radiale, elles sont définies par un système dynamique discret ; pour la gastrulation, on a utilisé des équations aux dérivées partielles et, pour la différenciation, des règles de voisinage appartenant également à la catégorie des systèmes dynamiques discrets.

Chaque modèle prend en compte un certain nombre de contrôles. Le système multi-agents inclut les composantes locales du contrôle mécanique : les cellules sont jointives, ce qui permet la prise en compte des forces de contact (condition de non-glissement sur les parois cellulaires, remise à jour de l'orientation des murs cellulaires,...) et les mécaniques cellulaires font partie des lois de comportement des cellules (module d'élasticité, maintien de la forme). Seul l'automate de différenciation n'inclut aucune composante mécanique. Tous nos modèles font intervenir un système chimique de contrôle global. Ce système est modélisé, dans nos deux premières applications par un système d'équations aux dérivées partielles. La substance chimique, solution des équations, contrôle le développement par action directe sur les cellules (l'auxine fixe directement les taux de croissance cellulaire) ou intervient sur le contrôle mécanique (le produit génique utilisé pour l'invagination donne l'intensité des forces intracellulaires). L'automate de différenciation, lorsqu'il est appliqué au cas de la croissance radiale, comporte également une composante chimique, qui régule directement le nombre de division par file cambiale. Cet automate utilise aussi, dans tout les cas, un niveau local dans le contrôle chimique : les relations de voisinage représentent des signalisations inter-cellulaires. Enfin, nous pouvons aussi considérer que le contrôle de l'invagination possède également un aspect génétique local : la substance qui contrôle globalement les forces de l'embryon est produite par le noyau de certaines cellules.

Un des intérêts de ce type de modélisation est donc de donner la possibilité de considérer l'action commune de la chimie, de la mécanique et de la génétique (quoique peu présente) pour la morphogenèse. Les modèles présentés en introduction générale ou dans les introductions spécifiques de chaque application montrent très clairement l'importance de ces différents aspects. Cependant, très rares sont les modèles proposant une combinaison pluridisciplinaire. Dans nos approches, une des façons de lier de manière cohérente les aspects chimiques et les aspects physiques est de donner aux morphogènes utilisés une signification fonctionnelle précise. L'auxine est ainsi directement corrélée au taux de croissance des cellules cambiales et le produit génique de l'invagination détermine l'intensité des forces intracellulaires.

Apports principaux de chaque modèle

La partie précédente explique comment une même méthode de modélisation rend compte de trois processus morphogénétiques particuliers. Chaque modèle a aussi un intérêt en soi : nous rappelons maintenant les principaux résultats, par application.

La croissance radiale secondaire des conifères

Comme rappelé précédemment, ce domaine est encore peu exploré par la modélisation mathématique. Ainsi, notre modèle de prolifération cellulaire est une nouveauté. Les agencements cellulaires végétaux ont déjà été étudiés, pour, par exemple, rechercher des répétitions de motifs, mais notre modèle est le premier qui cherche à prévoir qualitativement la dynamique de la croissance cellulaire. Ce modèle met en jeu les principales composantes de la prolifération cambiale : les cellules évoluent selon des lois liées à la croissance, au maintien de la forme, à la division cellulaire et à l'élimination cellulaire. La loi de division cellulaire prend en compte les deux types de division cambiale : le type périclinal, qui génère la production des cellules de xylème et le type anticlinal qui entraîne l'augmentation du nombre de cellules cambiales. Le modèle s'avère être bien justifié par les observations microscopiques expérimentales qui ont été comparées avec les dispositions cellulaires théoriques. Cette confrontation a permis de justifier l'expression des lois de comportements cellulaires.

L'aspect de cette application le plus visité par les modélisateurs est, sans nul doute, celui du transport de l'auxine. La dynamique de l'auxine a été depuis longtemps modélisée sous la forme d'une équation de diffusion-transport unidimensionnelle (Mitchison, 1980a ; Goldsmith *et al.*, 1981). Plus récemment, elle a été considérée en deux dimensions, en couplant l'équation de diffusion-transport avec une équation d'orientation des directions de transport (Kramer, 2002). La construction de notre système chimique, qui contrôle l'opérateur de prolifération cellulaire, a nécessité une nouvelle généralisation de la dynamique de l'auxine, pour pouvoir inclure les redistributions d'auxine par gravitropisme. Deux généralisations sont proposées. La première met en jeu un domaine cartésien tridimensionnel représentant le cambium et une équation d'orientation de type équation de fluide soumis à la gravité. La deuxième considère le problème sur une surface dans l'espace à trois dimensions, au regard de la faible épaisseur du cambium. L'équation d'orientation associée est une

généralisation de l'équation bidimensionnelle préexistante, qui inclut un terme de dépendance gravitaire pour la direction du transport. Ces modèles sont capables de prédire des hétérogénéités dans la répartition de l'auxine pour des arbres de géométrie non cylindrique. Ces hétérogénéités, interprétées en tant que différentiels de taux de croissance, sont cohérentes avec les configurations observées d'anneaux de coupes transversales. Elles respectent également les rares relevés de concentration d'auxine effectués pour des arbres inclinés.

Le dernier aspect abordé a été celui de la croissance radiale tridimensionnelle. Une tentative préexistante dans ce domaine a consisté à tester l'application d'une loi de croissance horizontale proportionnelle à la quantité d'auxine dans le cas d'arbres possédant une symétrie de révolution (Kramer, 2001). Nous proposons un cadre plus général pour la croissance radiale tridimensionnelle, grâce à la généralisation du modèle de transport de l'auxine, qui fournit des résultats de concentration pour des géométries d'arbres plus complexes. Nous avons testé une loi de croissance orientée selon la normale au cambium et dont l'intensité est une fonction affine de la concentration d'auxine. Ceci permet de simuler la croissance d'arbres présentant des déformations, pour pouvoir ensuite comparer les configurations théoriques avec nos données de croissance tridimensionnelle expérimentale. Il s'agit ainsi d'une première approche cherchant à expliquer, à volume de croissance donné, la répartition des taux de croissance en trois dimensions. La comparaison avec les données montre que cette loi fournit une première approximation des formes réelles.

Ces modèles, liés à la croissance radiale, produisent aussi comme résultats un certain nombre de suggestions d'expériences précises à réaliser, pour améliorer la compréhension de la croissance radiale et du contrôle hormonal et augmenter la précision de nos modèles.

L'automate de différenciation

Cette étude apporte un complément à la modélisation de la différenciation cellulaire par interactions de type N-Switch (Cinquin et Demongeot, 2005). La modélisation de ces interactions par règles de voisinage représentant les signalisations intercellulaires, au sein d'un automate cellulaire, apporte une composante spatiale au problème. Trois espèces sont prise en compte : une espèce de cellule souche et deux espèces de cellules spécialisées. Les simulations reproduisent les caractéristiques d'un système 3-Switch, en mettant en évidence

des cas où une population cellulaire colonise tout l'espace et des cas où l'espace est partagé entre deux espèces qui cohabitent. L'extension spatiale permet d'observer, de plus, la localisation des zones différenciées. Nous pouvons alors obtenir plusieurs configurations de découpage de l'espace.

Cet automate a aussi été adapté à la différenciation cambiale. Dans ce cas, les cellules du cambium sont les cellules souches qui peuvent se différencier selon deux possibilités : en cellules de xylème ou en cellules de phloème. Les résultats proposent que les relations de voisinage entre les cellules peuvent contrôler la différenciation cambiale, en coopération avec l'auxine. L'automate reproduit effectivement une localisation précise et ordonnée des voies de différenciation vers le xylème et vers le phloème, de part et d'autre du cambium central, qui se déplace vers l'extérieur par croissance radiale.

L'invagination épithéliale

L'intérêt de ce modèle réside surtout dans sa capacité à prendre en compte de nombreux concepts biologiques dont l'influence sur l'invagination a été prouvée. Notre modélisation demande plusieurs améliorations, dans sa construction et sa validation. Elle constitue, par contre, la première tentative intégrant autant d'échelles de taille, en allant du gène au tissu. Elle est aussi la seule à utiliser un contrôle chimique et un contrôle mécanique. L'implémentation de ce couplage est réalisée de manière assez souple. Nous espérons à l'avenir adapter ce formalisme à d'autres mouvements de morphogenèse tissulaire qui s'opèrent par action de forces générées par l'actine.

Perspectives générales

Ces modèles, pris individuellement, peuvent chacun être améliorés pour augmenter leur réalisme. Plusieurs perspectives ont déjà été énoncées dans les parties correspondantes de chaque application.

Comme précisé précédemment, ces différents modèles illustrent chacun une partie des dynamiques morphogénétiques principales des cellules. Ils constituent ainsi une avancée vers un modèle très général de morphogenèse tissulaire, où toutes ces composantes coexisteraient. Nos choix de modélisation dans le système hybride de la croissance radiale ne laissent que très peu de place à la différenciation cellulaire, alors que son rôle dans l'établissement de la croissance est important. De plus, il existe des processus morphogénétiques qui impliquent clairement toutes les composantes de l'activité cellulaire, telle que la formation des glandes salivaires de la drosophile (Myat et Andrew, 2000). Si l'on prend l'exemple de l'évolution embryonnaire entre l'œuf et la fin de la gastrulation, nous constatons que la division cellulaire est extrêmement présente au début pendant la période de clivage et qu'elle laisse progressivement le rôle principal à la migration et à la déformation cellulaire pour l'établissement de la gastrulation.

Ces trois constats montrent que le modèle idéal devrait pouvoir intégrer tous les comportements avec des coefficients d'activation pour chacun. Ceci permettrait d'obtenir une gamme de formes directement dépendante de l'ordonnement et de l'intensité des différents comportements au cours du temps, à la manière dont la distribution spatiale et temporelle de la substance morphogénétique engendre plusieurs formes d'invagination (partie 7). Une telle intégration doit s'appuyer sur les exemples de lois cellulaires proposés dans nos applications, pour la prolifération, la migration, l'élimination et la différenciation. Ceci nécessiterait cependant un outil commun de description des lois cellulaires ; le formalisme par équations différentielles partielles semblant le mieux approprié.

Nos travaux appellent d'ailleurs plusieurs études théoriques intéressantes d'équations aux dérivées partielles. Si le premier modèle de transport de l'auxine utilise des équations bien connues, le deuxième possède la caractéristique d'utiliser un domaine superficiel, et, de plus, met en jeu des équations fortement non-linéaires. Il serait bon d'avoir des résultats théoriques pour ces équations, notamment les conditions d'existence et d'unicité des

solutions. Une étude théorique aiderait également à caractériser plus précisément une meilleure loi de comportement pour la dynamique des cellules pour l'invagination. D'autre part, pour le modèle de croissance radiale, si l'on considère deux situations initiales incluses l'une dans l'autre et si la concavité interne est plus marquée que la concavité externe, nos simulations montrent que les solutions calculées peuvent se croiser au cours de la croissance. Si l'on considère le cas d'une situation interne montrant une concavité d'arbre déformé (destinée à se récupérer) et une situation externe parfaitement circulaire, propre à un arbre cylindrique, nos simulations prévoient que la situation concave peut rattraper, puis dépasser, la croissance concentrique par croissance différentielle. Le même phénomène semble aussi devoir s'observer entre deux situations concaves, si l'une est amenée à se récupérer et l'autre à s'aggraver. Ce constat place l'opérateur discret de prolifération dans la classe restreinte des opérateurs à croisement d'ondes. Il serait alors intéressant de donner une description entièrement continue de notre modèle, pour étudier les propriétés mathématiques des équations différentielles résultantes.

Une description globale continue de nos modèles, à partir des comportements multi-agents étudiés dans cette thèse, devrait être possible, comme dans tout système complexe. En effet, la caractéristique principale d'un système complexe est la multiplicité des éléments (ici les cellules) en interaction. La première description de ces systèmes est toujours microscopique, prenant en compte les évolutions individuelles de chacun des éléments. C'est le cas ici au niveau de nos modèles multi-agents. Ensuite, pour rendre compte des propriétés émergentes observées, au niveau supérieur macroscopique de la population d'éléments en interaction, on pratique des simulations de toutes les évolutions individuelles et on essaie de définir des variables thermodynamiques résultant d'une moyenne spatiotemporelle (densité de cellules, moyenne énergétique,...), sur lesquels on pourra définir des équations d'évolution macroscopiques, qui sont en général des E.D.P.

Dans notre cas, la densité de cellules n_i de chaque espèce considérée, définie dans l'espace et dans le temps, détermine l'évolution la forme. La division peut être prise en compte par des termes logistiques dépendant des densités, du type : $r(x, t)n_i(x, t)(1 - n_i(x, t))$ où r est le taux de production des cellules. Pour transcrire les conditions imposées par la géométrie des cellules, on pourra utiliser la concavité de la géométrie continue. En effet, les cellules épithéliales, dont le côté utile est situé dans une zone concave, ont un accès restreint à l'apport nutritif extérieur. Selon le critère de Thom, ceci

entraîne une augmentation de la prolifération cellulaire. On peut donc penser à exprimer r en fonction de la concavité, selon une loi favorisant la division dans les zones concaves. De plus, la différenciation pourra être prise en compte par des termes d'échanges entre deux types cellulaires. Les aspects de croissance cellulaire pourraient être modélisés par des termes de type diffusif, orientés dans les directions de croissance. En l'absence de division, la croissance produit effectivement une diminution de la densité cellulaire et un épaississement de la zone colonisée par l'espèce en croissance, le nombre total de cellules étant conservé, ce qui est le cas par diffusion. La matrice de diffusion donnerait alors la valeur des taux de croissance dans les différentes directions. Dans le cas de la croissance radiale des conifères, ces taux devront être positivement corrélés à la concentration de l'auxine. On pourra enfin représenter la migration cellulaire par un terme de « transport » de la densité.

Nous pourrions alors observer si l'équation thermodynamique moyennée respecte les comportements cellulaires décrits par les systèmes multi-agents. Une formulation continue validée permettrait ainsi d'exprimer explicitement un terme pour chaque dynamique cellulaire introduite au début de cette thèse. L'équation d'évolution de chaque densité cellulaire n_i prendrait alors la forme :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n_i}{\partial t} = \alpha_1 Dv + \alpha_2 C + \alpha_3 Df + \alpha_4 E + \alpha_5 M \\ \sum_k \alpha_k = 1 \end{array} \right.$$

en notant :

- Dv le terme de division
- C le terme de croissance
- Df le terme de différenciation
- E le terme d'élimination
- M le terme de migration

L'évolution de la densité serait alors déterminée par une combinaison convexe des termes liés aux différentes activités cellulaires.

L'importance relative des différentes composantes pourrait alors être étudiée et comparée, selon les valeurs des α_k . D'une manière générale, on pourra alors se demander à partir d'une situation donnée, quelle forme est obtenue, en fonction de l'importance relative des différentes dynamiques.

Collaborations

Cette conclusion est l'occasion de citer les différentes collaborations établies, essentielles au bon déroulement de cette thèse.

Le travail sur la partie de la croissance des conifères a été réalisé avec l'aide du groupe forestier du Centre de Modélisation Mathématique (C.M.M.) de l'Université du Chili de Santiago du Chili. Jaime San Martín dirige ce groupe auquel appartiennent Fernando Padilla, qui est ingénieur en science forestière au C.M.M., et Salomé Martinez, chercheur du Département d'Ingénierie Mathématique de l'Université du Chili.

Le modèle de prolifération cellulaire a en partie été élaboré lors d'un premier séjour au C.M.M. (entre septembre 2001 et septembre 2002), avec la participation de Fernando Padilla, Jaime San Martín et Fabrice Chassat (postdoctorant au C.M.M.). Il a été amélioré et finalisé au T.I.M.C.

Le modèle de répartition d'auxine a été développé au T.I.M.C., puis finalisé lors d'un second séjour au C.M.M. (avril 2005), en collaboration avec Salomé Martinez, Fernando Padilla et Jaime San Martín. Les travaux sur la croissance radiale tridimensionnelle ont aussi été terminés pendant ce séjour.

Les observations microscopiques des coupes transversales expérimentales ont été réalisées avec l'aide de Françoise Giroud de l'équipe R.F.M.Q. (Reconnaissance de Formes et Microscopie Quantitative) du laboratoire T.I.M.C.

Le travail sur les systèmes de Liénard a été réalisé avec Nicolas Glade, aujourd'hui postdoctorant au C.M.M. De nombreuses concertations avec lui ont aussi permis des avancées significatives sur le modèle discret de prolifération cellulaire.

La partie située en annexe présente une étude réalisée pendant un séjour au Centre d'Ingénierie Biochimique et Biotechnologique (C.I.B.Y.B) de l'Université du Chili de Santiago du Chili, entre janvier 2004 et août 2004. Ce travail s'est déroulé en interaction avec Juan Asenjo, le directeur du centre et avec des étudiants de la filière biotechnologie de l'Université : Carolina Basulto, Barbara Ribbeck, et Carlos Oviedo.

Publications relatives au travail de thèse

La partie des travaux présentés sur le sujet de la croissance radiale de conifère a fait l'objet de trois articles (un publié, un autre à paraître et un dernier en révision positive) :

1. Forest, L., San Martin J., Padilla F., Chassat F., Giroud F. and Demongeot J. (2004). Morphogenetic processes : application to cambial growth dynamics. *Acta Biotheor.* 52(4), 415-438.
2. Forest, L. and Demongeot, J. Cellular modelling of secondary radial growth in conifer trees : application to *Pinus radiata* (D. Don). *Bull. Math. Biol.* *Accepted.*
3. Forest, L., Padilla F., Martinez S., Demongeot J., San Martin J. Modelling of auxin transport affected by gravity and differential radial growth. *J. Theor. Biol.* *Accepted.*

Deux autres articles sont acceptés, sur le thème des systèmes de Liénard et de la décomposition potentielle – Hamiltonnienne :

4. Demongeot, J., Glade N. and Forest L. Liénard systems and potential-Hamiltonian decomposition. I. Methodology, *C. R. Acad. Sc.* *Accepted.*
5. Glade, N., Forest L., Demongeot, J. Liénard systems and potential-Hamiltonian decomposition. II. Applications in biology, *C. R. Acad. Sc.* *Accepted.*

Bibliographie de la conclusion

1. Cinquin, O. and Demongeot J. (2005). High-dimensional switches and the modeling of cellular differentiation, *J. Theor. Biol.* 233(3), 391-411.
2. Goldsmith, M.H.M, Goldsmith T.H. and Martin M.H. (1981). Mathematical analysis of the chemosmotic polar diffusion of auxin through plant tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78(2), 976-980.
3. Kramer, E.M. (2001). A Mathematical Model of Auxin-mediated Radial Growth in Trees. *J. Theor. Biol.* 208, 387-397.
4. Kramer, E.M. (2002). A Mathematical Model of Pattern Formation in the Vascular Cambium of Trees. *J. Theor. Biol.* 216(2), 147-158.
5. Mitchison, G.J. (1980a). The dynamics of auxin transport. *Proc. R. Soc. Lond. B* 209, 489-511.
6. Myat, MM. and Andrew D.J. (2000). Organ shape in the *Drosophila* salivary gland is controlled by regulated sequential internalization of the primordia. *Development* 127, 679-691.

A MODELES INTEGRANT LES RESEAUX METABOLIQUE ET GENETIQUE

Table des matières

A.1	Contexte biologique	268
A.1.1	Le système de préférence en carbone	268
A.1.2	Le réseau métabolique d' <i>E. coli</i>	269
A.1.2.1	Voies métaboliques d' <i>E. coli</i>	269
A.1.2.2	Configuration du réseau métabolique selon les sources de carbone	270
A.1.3	Le réseau génétique d' <i>E. coli</i>	272
A.1.3.1	Données expérimentales	273
A.1.3.2	Mécanismes de régulations	274
A.1.3.2.1	Mécanismes globaux	274
A.1.3.2.2	Mécanismes locaux de régulations	277
A.1.4	Nomenclature des enzymes et des composés biochimiques	278
A.2	Modélisation discrète des réseaux métabolique et génétique	279
A.2.1	Construction d'un modèle discret pour modéliser le comportement d' <i>E. coli</i>	279
A.2.1.1	Composition du réseau	280
A.2.1.2	Règles de régulation et fonction discrètes associées	281
A.2.2	Comportement biologique associé	286
A.2.3	Analyse mathématique des modèles discrets par « systèmes dynamiques symboliques »	289
A.2.3.1	Problématique	289

A.2.3.2	Formulation de la méthode	293
A.2.3.2.1	« Système dynamique symbolique »	293
A.2.3.2.2	Définition de la fonction de transition généralisée \bar{f}	296
A.2.3.3	Applications.....	297
A.2.3.3.1	Efficacité	297
A.2.3.3.2	Résultats pour <i>E. coli</i>	298
A.2.3.3.3	Application au modèle de <i>S. cerevisiae</i>	303
A.2.3.3.4	Conclusion.....	304
A.2.4	Application à l'analyse des réseaux dans le cas d' <i>E. coli</i>	305
A.2.4.1	Comportement du réseau en présence de glucose.....	305
A.2.4.2	Comportement du réseau, lorsque seul l'acétate est présent.....	308
A.2.4.3	Comportement en glycérol en l'absence de glucose	309
A.2.4.4	Réduction du réseau.....	309
A.3	Vers un modèle continu quantitatif pour <i>E. Coli</i>.....	312
A.3.1	Premier modèle, comme généralisation du modèle discret	312
A.3.1.1	Construction du modèle	312
A.3.1.2	Résultats.....	315
A.3.2	Un deuxième modèle « pré-quantitatif ».....	317
A.3.2.1	Prise en compte de l'existence des sources de carbone et non de leur concentration	318
A.3.2.2	Autres changements.....	320
A.3.2.3	Nouveaux points fixes atteints.....	323
A.3.3	Connexions avec un modèle de production/consommation des sources de carbone	324
A.3.3.1	Formulation	325
A.3.3.2	Résultats.....	325
A.4	Conclusion et perspectives.....	327
A.5	Bibliographie	330

Tables des illustrations

Figure A.1. Glycolyse et cycle des acides tricarboxyliques chez <i>Escherichia coli</i>	270
Figure A.2. Activation des voies métaboliques.....	271
Figure A.3. Exemple de réseau d'interaction génétique (P. Ramirez, 2003).	273
Figure A.4. Niveau de transcription des gènes et flux métaboliques	274
Figure A.5. Modèle d'interaction du système PTS montrant l'influence de Mlc et EIICBGlc.....	275
Figure A.6. Modèle des interactions de FruR (Saier et Ramseier, 1996).....	276
Figure A.7. Représentation qualitative des types de trajectoires.....	292
Figure A.8. Sous-réseau de régulation de <i>S. cerevisiae</i>	295
Figure A.9. Occurrence du symbole ∇ en fonction du nombre d'itérations.....	299
Figure A.10. Représentation des ensembles.....	300
Figure A.11. Occurrence du symbole ∇ en fonction du nombre d'itérations.....	301
Figure A.12. Occurrence du symbole ∇ en fonction du nombre d'itérations.....	302
Figure A.13. Graphe de $t \rightarrow Occ(\nabla, x(t))$	303
Figure A.14. Graphe de $t \rightarrow Occ(\nabla, x(t))$, pour chacun des cinq autres cas.....	304
Figure A.15. Détermination successive des flux d'entrée/sortie des sources de carbone en glucose. 307	
Figure A.16. Détermination successive des flux d'entrée/sortie des sources de carbone en acétate... 308	
Figure A.17. Réseau réduit pour la détermination de $\{AckA, EIICBGlc, GplK\}$	310
Figure A.18. Représentation de fonctions de type $\frac{1}{1 + e^{-dx}}$ avec $d = 2, 5, 20, 40, 100$	313
Figure A.19. Graphe de la fonction $f_{1,10000,0.01}(x) = \frac{1}{1 + e^{-10000(x+0.01)}}$	315
Figure A.20. Evolution des variables FruR (a) et F6P (b).....	315
Figure A.21. Régulation des gènes aceA et aceB (en rouge) par FruR (en bleu).....	316
Figure A.22. Représentation du graphe de la fonction : $\frac{x}{0.0001 + x}$	319
Figure A.23. Graphe de $\frac{1}{2}(f_{1,20,0.01}(x - 0.15) + f_{1,20,0.01}(x + y - 0.15))$	322
Figure A.24. Système de production – consommation.....	326

Liste des tables

Table 1. Correspondance entre les valeurs expérimentales des flux et les valeurs théoriques.....	287
Table 2. Correspondance entre les valeurs expérimentales d'expression des gènes et les valeurs théoriques du modèle.....	288
Table 3. Valeur théorique des états des régulateurs.	288
Table 4. Valeur des régulateurs fictifs et de leurs gènes régulés.....	310
Table 5. Quelques valeurs de l'état stable obtenu en présence de glucose.....	323
Table 6. Valeurs en glycérol avec absence de glucose.....	324

Les réseaux génétique et métabolique font l'objet de nombreuses études expérimentales, générant d'importantes quantités d'informations. La modélisation est nécessaire pour traiter ces informations. Un des thèmes novateurs du laboratoire CIBYB (Centro de Excelencia Academica en Ingenieria Bioquimica y Biotecnologia - Centre d'Excellence en Ingénierie Biochimique et en Biotechnologie) est de s'intéresser à ces deux réseaux conjointement. Les réseaux génétiques sont constitués d'un ensemble fini de gènes en interaction. Ils ont permis d'étudier les régulations génétiques responsables de l'émergence de différents phénotypes, de certains mouvements de morphogenèse, de différenciations cellulaires,... (Aracena, 2001 et à paraître). Les réseaux métaboliques se caractérisent par les concentrations d'un ensemble fini de métabolites reliés par leurs flux métaboliques (ou taux de réaction). Ils ont surtout été étudiés dans l'objectif de mesurer la répartition des flux selon les voies métaboliques, et pour éventuellement optimiser la production de certaines branches (Gonzalez *et al.*, 2003). Cette production peut être stationnaire ou périodique (Goldbeter et Lefever, 1972 ; Demongeot et Seydoux, 1979, 1981 ; Demongeot, 1981a ; Demongeot et Kellersohn, 1983) et les forces de contrôle du flux peuvent être précisément calculées dans les deux cas (Kacser et Burns, 1973 ; Baconnier *et al.*, 1993).

Ces deux types de réseau apparaissent comme clairement interdépendants. Il a été, de plus, constaté que l'étude d'une sous-partie d'un réseau global n'est en général pas suffisante et pouvait même amener à des conclusions erronées. C'est pourquoi les motivations de ces modélisations sont de vouloir traiter les réseaux les plus complets possibles. Pour cela, afin d'éviter une surcharge d'information, les études portent sur deux organismes bien documentés et relativement simples : *Escherichia coli* et *Saccharomyces cerevisiae*.

Ces microorganismes présentent aussi une faculté d'adaptation aux conditions extérieures très intéressantes, au vu de l'étude de leurs réseaux métabolique et génétique. Ils s'adaptent par exemple à la température, aux conditions en oxygène, aux nutriments disponibles, de manière optimale. Ils sont capables d'optimiser l'utilisation de leurs voies métaboliques et leurs expressions génétiques en fonction de ces conditions. Plusieurs phénotypes sont par exemple observés expérimentalement, en fonction de la composition extérieure en carbone. Les changements du milieu extérieur sont détectés par des mécanismes biochimiques internes aux microorganismes. Le réseau génétique est capable d'interpréter les signaux extra et intra-cellulaires en modifiant l'expression de certains gènes. Cette modification d'expression génique provoque des changements au niveau de l'activité de certaines enzymes du réseau métabolique. Ceci peut alors entraîner des changements dans

l'utilisation des différentes voies métaboliques, comme l'emprunt de la voie des pentoses dans la glycolyse, dans le cas du passage de conditions anaérobiques à des conditions aérobiques (Demongeot, 1981b).

Dans ce travail, nous étudions les interactions entre les réseaux métabolique et génétique et notamment leur adaptation selon la composition du milieu extérieur en carbone. Nous présenterons dans un premier temps plus précisément le contexte biologique de l'étude, avant de décrire une proposition de modélisation discrète, puis continue, des interactions de ces réseaux.

A.1 Contexte biologique

Cette section est consacrée aux fondamentaux biologiques nécessaires à la description des comportements des microorganismes étudiés. Elle est largement inspirée de la partie introductive du travail de mémoire de Patricio Ramirez, effectué au laboratoire CIBYB (Ramirez, 2003). On détaille, dans cette partie, le système de préférence en source de carbone, puis l'organisation et le fonctionnement des réseaux métabolique et génétique qui permettent aux organismes de « choisir leur alimentation ». Cette section se termine par une nomenclature des abréviations utilisées pour les noms des enzymes et des composés biochimiques.

A.1.1 Le système de préférence en carbone

Le métabolisme des organismes est étudié selon la composition en carbone du milieu extérieur. Dans le cas d'*E. coli*, le carbone est présent sous forme de glucose, de glycérol et d'acétate. Dans le cas de *S. cerevisiae*, trois formes sont aussi présentes, mais l'acétate laisse sa place à l'éthanol. Ces sources de carbone sont utilisées de manière différente par les organismes, c'est-à-dire que les voies métaboliques s'activent différemment, selon les sources de carbone présentes.

Les microorganismes d'une manière générale, tirent leur énergie de leur environnement. Leur stratégie consiste à former de l'ATP, qui est une molécule riche en énergie et du NADH, qui est énormément utilisé comme réducteur dans les réactions. Les microorganismes cherchent donc à optimiser leur production d'ATP et de NADH selon les

sources de carbone disponibles. Expérimentalement, la première observation est que *E. coli* et *S. cerevisiae* sont capables de choisir parmi les sources de carbone disponibles. Si le glucose est présent dans le milieu extérieur, ils l'utiliseront toujours plutôt que les autres. S'il est absent, ils préféreront le glycérol. Seulement dans le cas où le glucose et le glycérol sont absents, ils choisiront la troisième source.

Comme mentionné précédemment, ce système de préférence est dicté par les régulations entre les réseaux métabolique et génétique. Nous ne décrivons que ceux d'*E. coli*. Ceux de *S. cerevisiae* sont plus complexes, mais présentent un fonctionnement analogue.

A.1.2 Le réseau métabolique d'*E. coli*

A.1.2.1 Voies métaboliques d'*E. coli*

Une voie métabolique est un ensemble cohérent de réactions biochimiques interconnectées : c'est un sous-ensemble connexe du réseau métabolique. On peut la représenter par un graphe où les nœuds sont des composés biochimiques consommés et (ou) produits par les réactions qui sont représentées par des flèches reliant ces nœuds. Les flèches sont indexées par le nom de l'enzyme qui catalyse la réaction.

Les voies prises en compte chez *E. coli* sont les suivantes :

- La glycolyse : responsable de la dégradation successive du glucose en pyruvate. Elle a lieu dans le cytoplasme des cellules.
- La gluconéogenèse : voie de production du glucose. Ces deux premières voies sont réciproquement régulées. Lorsque l'une est active, l'autre est quasiment inactive.
- Le cycle de Krebs (ou cycle des acides tricarboxyliques), qui se connecte à la glycolyse par le Pyruvate. Cette voie est celle qui produit le plus d'ATP. Elle se déroule dans les mitochondries.
- La voie de consommation du glycérol.
- La voie de consommation et de production d'acétate.

La Figure A.1 représente ces voies. Les flèches d'une seule pointe signifient que l'enzyme catalyse la réaction de manière unidirectionnelle ; s'il y a deux pointes, elle est capable de catalyser la réaction dans les deux sens, cette dernière devenant un équilibre chimique.

Les composés biochimiques du réseau sont caractérisés par leurs concentrations. Les enzymes en index des flèches sur la Figure A.1 sont caractérisées par leur flux métabolique

(ou vitesse de réaction). Il s'agit du taux de réaction (ou vitesse) des réactions qu'elles catalysent. Lors des expériences, les concentrations en sources de carbone sont fixées et connues. On peut accéder aux valeurs des flux internes de réaction en les calculant à partir des flux externes mesurables et de la connaissance des réactions chimiques impliquées. Cette approche est connue sous le nom de « flux balance analysis » (Stephanopoulos, 1998). On constate, par exemple, que les flux de la glycolyse présentent plusieurs niveaux de valeur selon la source de carbone utilisée. Les valeurs de ces flux, lorsque l'organisme utilise du glucose, sont élevées, alors qu'elles sont les plus faibles lorsque seul l'acétate est présent. Si l'organisme utilise le glycérol, en l'absence de glucose, les niveaux de flux sont intermédiaires. Ces niveaux de flux reflètent le degré de difficulté qu'a l'organisme à utiliser chaque source.

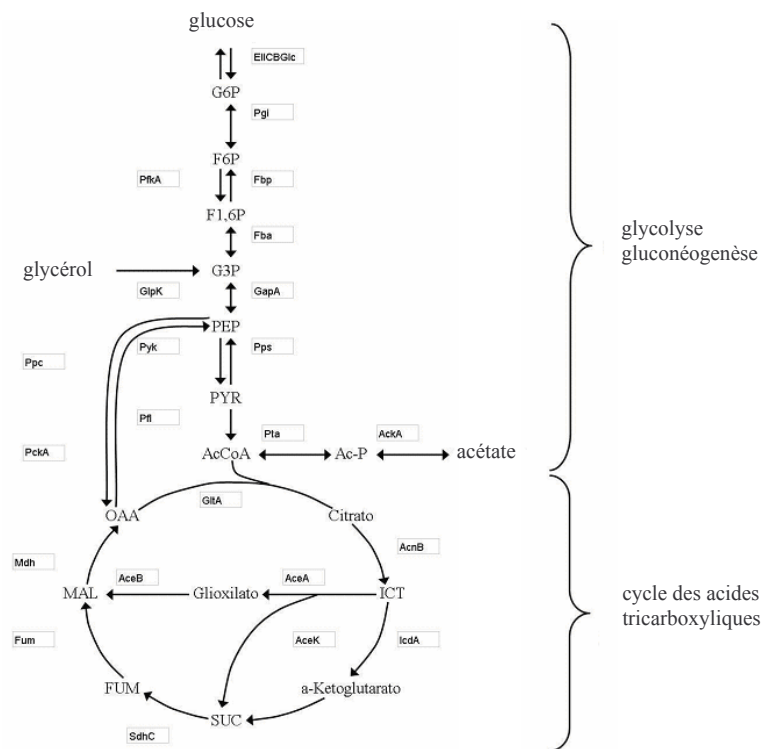


Figure A.1. Glycolyse et cycle des acides tricarboxyliques chez *Escherichia coli* (P. Ramirez, 2003).

A.1.2.2 Configuration du réseau métabolique selon les sources de carbone

La disposition des flux métaboliques dépend donc de la composition du milieu extérieur. Les différentes réactions possibles mentionnées sur la Figure A.1 s'opèrent ou non, selon la source de carbone utilisée. Il apparaît trois phénotypes d'activation des réactions,

celle en glucose, prise comme référence. Les données utilisées sont celles de (Holms, 1996). Un signe moins indique ainsi que le flux en glycérol s'opère dans le sens contraire à celui en glucose. Les symboles « a » et « b » sont affectés aux flux qui n'ont pas pu être estimés. Dans cette nouvelle configuration, le glycérol entre dans le réseau métabolique en se transformant en G3P par l'action de l'enzyme Glpk. G3P devient un point de bifurcation entre la voie de la gluconéogenèse qui, en inversant les premiers flux de la glycolyse, entraîne une production de glucose, et une voie commune, à la fin de la glycolyse, qui alimente le cycle de Krebs. On remarque que les flux de la gluconéogenèse sont très peu intenses. Cette fois-ci, dans le cycle, la voie du glyoxylate est active et ICT devient lui aussi un point de bifurcation.

L'utilisation de l'acétate (lorsque ni le glucose, ni le glycérol, ne sont présents) produit de nombreuses modifications des chemins métaboliques. La voie entre l'acétate et l'AcCoa est inversée, puisque, cette fois-ci, le réseau fonctionne en consommant l'acétate alors qu'il est produit dans les autres cas. La voie entre AcCoa et PEP est inactive, et c'est la voie entre OAA et PEP qui alimente la gluconéogenèse, qui démarre depuis PEP, alors qu'elle démarrait depuis G3P en glycérol. Les flux de la gluconéogenèse sont encore un peu plus faibles qu'en régime de consommation de glycérol. Les flux du cycle des acides tricarboxyliques répondent à une tendance inverse de celle généralement observée : ces flux ont tendance à être plus faible en glucose et plus fort en acétate, alors qu'ils demeurent intermédiaires en glycérol.

A.1.3 Le réseau génétique d'*E. coli*

Escherichia coli régule la quantité de ses enzymes actives, en fonction des substrats, pour utiliser au mieux ses ressources métaboliques. Cette régulation permet l'obtention de différentes configurations d'utilisation des voies métaboliques, par activation ou inhibition des enzymes responsables de la catalyse des différentes réactions. L'activité d'une enzyme peut être régulée de deux manières : la première est un contrôle de la production de l'enzyme à partir de l'ADN, par une action sur l'ARNm principalement (on parle de régulation de l'expression de l'enzyme), la seconde intervient une fois l'enzyme produite, en augmentant ou diminuant son activité, lorsque certains métabolites s'unissent à elle, on parle de régulation michaelienne compétitive ou de régulation allostérique, selon le mode d'union choisi (compétition sur le site catalytique ou sur un site régulateur différent du site catalytique, provoquant un changement de conformation de ce dernier). La première forme de régulation est réalisée par des composés qui s'unissent au génome, durant la transcription du gène ou

durant la maturation de l'ARNm, pour activer ou inhiber l'expression du gène. La deuxième forme peut reposer sur des composés qui activent ou inhibent l'activité d'une enzyme ou sur des enzymes qui activent ou inhibent d'autres enzymes ou signaux. Ces procédés forment le réseau de régulation génétique.

Le réseau d'interactions génétiques est donc composé des interactions entre un groupe de gènes, des produits géniques (protéines, qui sont souvent des enzymes) et des métabolites. Les protéines produites par la transcription des gènes, seules ou après union avec un métabolite, peuvent avoir un effet de répression ou d'activation sur des gènes (y compris sur celui de leur propre production).

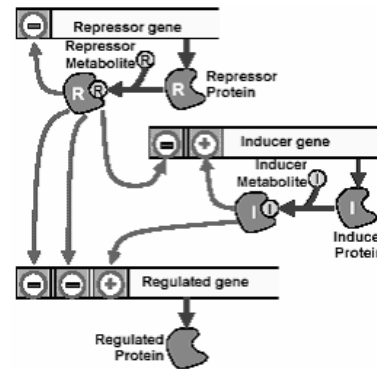


Figure A.3. Exemple de réseau d'interaction génétique (P. Ramirez, 2003).

A.1.3.1 Données expérimentales

La régulation de la production de l'ARNm est le principal niveau de contrôle enzymatique. La technologie des « Bioarrays » permet de comparer la quantité d'ARNm produit pour chaque protéine. Oh et Liao ont réalisé l'expérience pour *E. coli* selon les sources de carbone, avec, pour référence, la situation en glucose (Oh et Liao, 2000).

La Figure A.4a synthétise l'information disponible en glycérol. Les valeurs relatives aux enzymes (notées avec une majuscule) et aux gènes (notés avec une minuscule et en italique) sont référencées par rapport à la situation en glucose. Généralement, on considère qu'un gène est significativement plus exprimé par rapport à la référence, si son niveau de transcription est supérieur à 2. Il s'exprime moins, si cette valeur est inférieure à 0.5. En glycérol, la valeur de transcription des gènes diffère peu de celles de la référence en glucose. Seuls 5 gènes sont sur-exprimés et 4 sous-exprimés. Ceci est dû à une utilisation des voies métaboliques semblable en glycérol et en glucose. En acétate, comme le montre la Figure A.4b, l'expression de transcription des gènes est nettement différente de la référence en glucose. Les gènes relatifs à l'expression des enzymes du cycle tricarboxylique sont sur-exprimés en régime de consommation d'acétate. Ceux correspondant à la partie haute du schéma (gluconéogenèse) sont en général sous-exprimés.

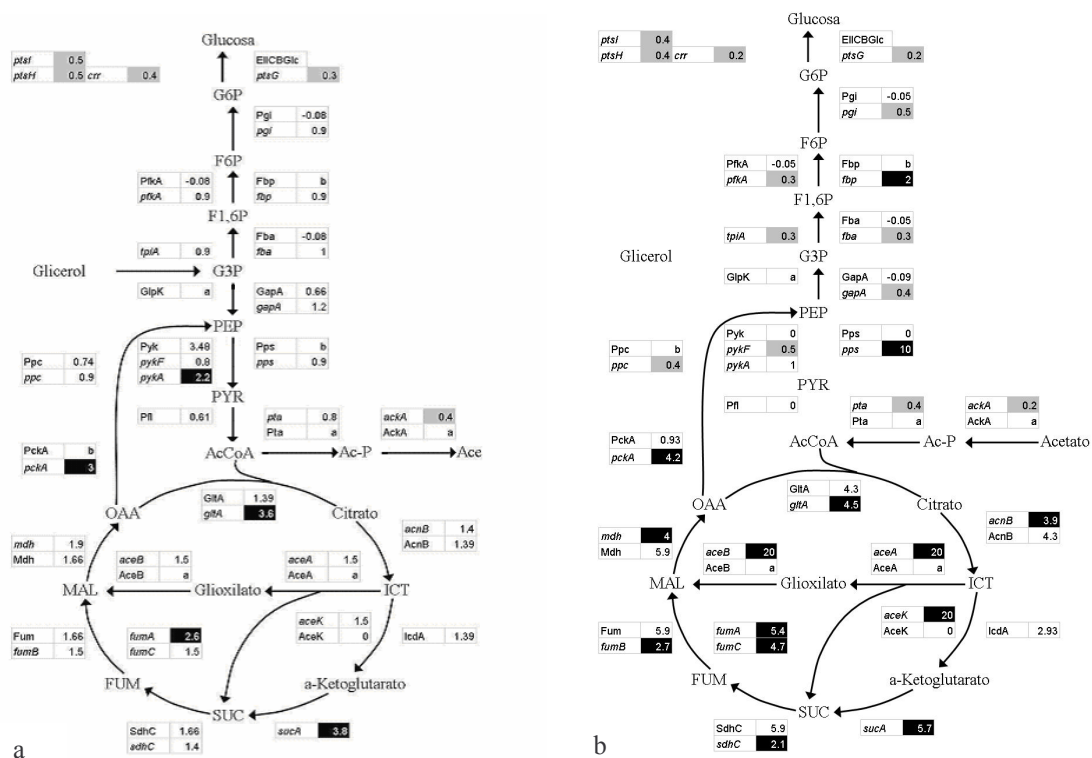


Figure A.4. Niveau de transcription des gènes et flux métaboliques en glycérol (à gauche) et en acétate (à droite), relativement aux valeurs en glucose. Les données sont celles de (Oh et Liao, 2000).

A.1.3.2 Mécanismes de régulations

Plusieurs mécanismes de régulation chez *E. coli* ont été largement étudiés dans la littérature. Nous mentionnons, dans cette partie, les mécanismes référencés.

A.1.3.2.1 Mécanismes globaux

Nous détaillons d'abord les régulations globales, qui impliquent un ensemble de gènes et d'enzymes.

Le système PTS

Il détecte la présence de glucose extracellulaire. Il initie en même temps la glycolyse, en transportant le glucose extracellulaire à l'intérieur de la cellule et en le transformant en G6P. Ce système comporte 4 enzymes : deux cytoplasmiques EI et Hpr et deux de transport spécifique pour le glucose : EIICBGlc (récepteur membranaire) et EIIAGlc. Ces enzymes sont phosphorylables et permettent d'extraire des groupes phosphates, depuis PEP, pour les transférer au glucose. L'expression de ces enzymes est contrôlée par le répresseur global Mlc.

Ce système régule :

- les gènes *sucA* et *sdhC* qui codent pour les enzymes SucA et SdhC. Ils sont réprimés fortement en présence de glucose. Cette répression dépend de EIICBGlc, mais on ne connaît pas exactement l'intermédiaire qui la régule.

- Glpk, l'enzyme chargée de l'entrée du glycérol dans la voie métabolique est réprimée de manière allostérique en présence de glucose. EIIAGlc est responsable de cette répression dans son état déphosphorylé.

- le gène *gapA* est fortement induit en présence de glucose et dépend de EIICBGlc, sans que l'on connaisse tous les intermédiaires.

- CyaA, adénylate cyclique, est stimulée par l'EIIAGlc phosphorylée. CyaA catalyse la production d'AMP cyclique (cAMP). Ceci implique que, lorsqu'il n'y a pas de glucose dans le milieu extérieur, l'activité de Cya augmente, ainsi que la concentration de cAMP.

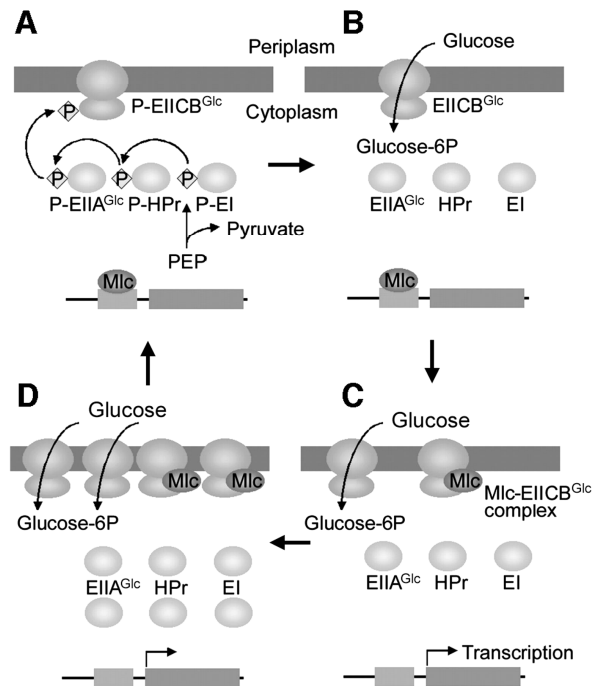


Figure A.5. Modèle d'interaction du système PTS montrant l'influence de Mlc et EIICBGlc (Nam *et al.*, 2001).

Régulation dépendant du cAMP

Le cAMP est un petit catabolite, qui agit comme un signal global d'absence de glucose extracellulaire. Les niveaux de cAMP sont bas en présence de glucose et haut dans le cas contraire. Ce système se compose de trois éléments : l'enzyme CyaA, la cAMP et la protéine réceptrice de cAMP (Crp). CyaA est une enzyme qui catalyse la production de cAMP ; elle est régulée par EIIAGlc et G3P. EIIAGlc phosphorylée s'unit à CyaA et stimule son activité. G3P empêche cette union (Eppler *et al.*, 2002). Les niveaux de cAMP sont différents selon les sources de carbone utilisées, puisque les niveaux de ses régulateurs varient. En glucose, le niveau est le plus bas, car la concentration de EIIAGlc est basse et la concentration haute de G3P inhibe CyaA. En glycérol, le niveau est intermédiaire, car les niveaux de EIIAGlc et de

G3P sont hauts. En acétate, le niveau est le plus haut, car la concentration de EIAGlc phosphorylée est haute et la concentration de G3P basse.

La protéine Crp détecte la concentration de cAMP et intervient sur les gènes (inhibition et activation). Quand les niveaux de cAMP sont bas, Crp est libre et inactive. Quand les niveaux de cAMP augmentent, il s'unit à Crp et l'active. Crp s'associe alors au génome sur les sites d'union correspondants, et le complexe Crp.cAMP inhibe ou active la transcription des protéines de ces sites.

Par exemple, dans le réseau métabolique étudié, Crp.cAMP régule les protéines AcnB (Cunningham *et al.*, 1997), FumA, FumC (Park et Gunsalus RP, 1995) et Mdh (Park *et al.*, 1995). L'expression des gènes *acnB*, *fumC* et *mdh* est ainsi stimulée, quand les niveaux de cAMP sont hauts. L'expression de *fumA* est stimulée par Crp.cAMP, quand on utilise du glycérol et de l'acétate.

Régulation dépendant de FruR (Répresseur de Fructose)

Cette protéine réprime ou active la transcription de certains gènes, en s'unissant à l'ADN. Son activité est réprimée par les composés F1,6P et F6P, qui causent sa dissociation de l'ADN (Saier et Ramseier, 1996). Plus la concentration de ces composés est élevée, plus l'activité de FruR est faible. FruR active l'expression des protéines utilisées pour métaboliser leur substrat en l'absence de glucose. L'activité de FruR est faible en glucose, intermédiaire en glycérol et élevée en acétate.

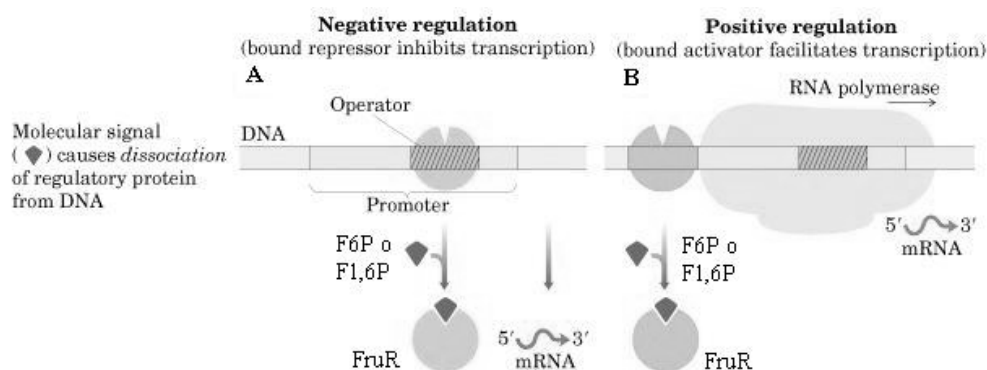


Figure A.6. Modèle des interactions de FruR (Saier et Ramseier, 1996).

Plusieurs gènes sont régulés par FruR : *aceA*, *aceB*, *fbp*, *pckA* et *pps* sont stimulés par FruR et *pfkA* et *pykF* sont inhibés par FruR (Saier et Ramseier, 1996 ; Cozzone, 1998 ; Negre

et al., 1996 et 1998 ; Bledig *et al.*, 1996). Ces régulations, sauf celle de *pps*, sont effectives seulement en acétate, puisque, seulement dans ce cas, les niveaux de F6P et F1,6P sont suffisamment faibles pour ne pas inhiber FruR. *pps* peut, quant à lui, être activé à niveau intermédiaire de FruR.

A.1.3.2.2 Mécanismes locaux de régulations

IcdA régulée par AceK

IcdA est une enzyme qui est chargée de transformer ICT en α -Kétoglutarate. En acétate, cette enzyme entre en compétition avec AceA pour utiliser l'ICT. Ceci divise le flux de carbone entre le TCA et le cycle du Glyoxylate. La répartition de ce flux est régulée par AceK, qui phosphoryle réversiblement IcdA (Cozzone, 1998). La phosphorylation d'IcdA inhibe son activité et dévie le flux de carbone vers le cycle du Glyoxylate.

AceK régulée par les concentrations de G3P et de ICT

L'action de AceK est régulée allostériquement par G3P et ICT. Ces derniers indiquent lorsqu'il est nécessaire de diriger ICT sur le cycle du Glyoxylate. Par exemple, lorsque le niveau de G3P est bas, AceK s'active et la phosphorylation d'IcdA augmente. Ceci provoque une augmentation des flux du cycle du Glyoxylate et du niveau des métabolites intermédiaires.

Glpk régulée par F1,6P

L'activité de Glpk est inhibée par F1,6P. Une haute concentration de F1,6P indique qu'il n'est pas nécessaire d'utiliser le glycérol, car le glucose est disponible.

A.1.4 Nomenclature des enzymes et des composés biochimiques

Composés biochimiques

- | | |
|--------------------------------------|--|
| 1. G6P : glucose-6-phosphate | 9. ICT : isocitrate |
| 2. F6P : fructose-6-phosphate | 10. α -Ketoglurato : α - kétoglutarate |
| 3. F1,6P : fructose-1,6-bisphosphate | 11. SUC : succinate |
| 4. G3P : glycéraldéhyde-3-phosphate | 12. FUM : fumarate |
| 5. PEP : phosphoénolpyruvate | 13. MAL : malate |
| 6. PYR : pyruvate | 14. OAA : oxaloacétate |
| 7. AcCoA : acétyl-coenzyme A | 15. Ac-P : acétylphosphate |
| 8. Citrato : citrate | |

Enzymes

- | | |
|---|---|
| 16. Pgi : glucose phosphate isomérase | 26. Pfl et PflD : pyruvate formate-lyase 1 et 2 |
| 17. PfkA et PfkB : phosphofruktokinase 1 et 2 | 27. Pta : phosphate acétyl transférase |
| 18. Fbp : fructose bi-phosphatase | 28. AckA : acétate kinase |
| 19. FbA : fructose bi-phosphate aldolase. | 29. Glta : citrate synthase |
| 20. GapA : glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase A. | 30. AcnA et AcnB : enzyme aconitase 1 et 2 |
| 21. GlpK : glycérol kinase. | 31. IcdA : isocitrate deshydrogénase |
| 22. Pps : phosphoénolpyruvate synthétase | 32. SdhC : succinate deshydrogénase |
| 23. Pyk : pyruvate kinase | 33. FumA, FumB y FumC : fumarase |
| 24. Ppc : phosphoénolpyruvate carboxylase | 34. Mdh : malate deshydrogénase |
| 25. PckA : phosphoénolpyruvate carboxykinase | 35. AceA : isocitrate lyase |
| | 36. AceB : malate synthétase |
| | 37. SucA : 2-oxoglutarate deshydrogénase |

A.2 Modélisation discrète des réseaux métabolique et génétique

Les interactions décrites précédemment ont été mises sous la forme mathématique d'un système dynamique discret par P. Ramirez (Ramirez, 2003). L'approche discrète permet une approximation des phénomènes continus étudiés. La réalisation d'un modèle continu nécessite une quantité d'information très importante, puisqu'elle requiert l'utilisation de constantes de temps, de valeur de concentrations,... La formulation discrète vise à décrire qualitativement le comportement des organismes. La première étape requiert une définition des niveaux de valeur possibles pour chaque variable. Ces niveaux sont représentés par des entiers. Typiquement, un gène s'exprime selon deux valeurs, suivant qu'il est fortement ou faiblement exprimé. Il est d'usage de lui affecter la valeur 1, lorsqu'il est très exprimé, et la valeur -1, sinon. Les équations d'évolution des variables doivent être écrites de manière à respecter les lois de régulation entre les composants et à refléter les comportements qualitatifs. Finalement, on doit aussi retranscrire les valeurs continues expérimentales en valeurs discrètes correspondantes, pour pouvoir comparer l'évolution du système avec les valeurs expérimentales. Comme précédemment, nous allons restreindre la description du modèle discret au cas d'*E. coli*.

A.2.1 Construction d'un modèle discret pour modéliser le comportement d'*E. coli*

Un modèle discret a été développé par P. Ramirez pour *E. coli*. Il s'agit d'un système dynamique discret qui se caractérise par la donnée :

- d'un graphe fini $G(V, E)$ qui représente le graphe de connexion entre les éléments du réseau. $V = [1, \dots, n]$ est l'ensemble des nœuds qui représentent les éléments du réseau. $E \subseteq V \times V$ est l'ensemble des arcs orientés qui représentent les interactions entre les éléments du graphe et prennent donc en compte les régulations biologiques.
- d'un ensemble fini d'état Ω comportant les différents niveaux d'activation possible de tous les composants.

- d'une fonction de transition globale ($f = (f_1, \dots, f_n) : \Omega \rightarrow \Omega$) qui définit l'évolution du système au cours du temps.

Si l'on note $\Gamma_G^-(i) = \{j \in V / (j, i) \in V\}$, l'ensemble des arcs qui pointent vers le nœud i , on a : $\forall i \in [1, \dots, n], f(x)_i = f_i(x_j, j \in \Gamma_G^-(i))$. Ceci signifie que la fonction de transition locale f_i met à jour le $i^{\text{ème}}$ composant du réseau à partir des données d'entrée $\Gamma_G^-(i)$. La fonction globale f s'exécute par une mise à jour en parallèle des résultats des fonctions locales f_i .

A.2.1.1 Composition du réseau

Les équations du système mettent en jeu plusieurs types de variables que l'on catalogue ici.

Représentation du milieu extérieur.

- 3 sources de carbones, affectées aux variables : $x_{glucose}$, $x_{glycérol}$ et $x_{acétate}$. Ces variables valent 0, si la source concernée est absente du substrat. Lorsqu'elles sont présentes, elles prennent respectivement les valeurs 3, 2 et 1. Cette distinction permet de hiérarchiser les sources de carbone.

Réseau de régulation génétique :

- 28 gènes, dont les variables associées (x_{pgi} , x_{fba} , x_{fbp} , ...) valent 1, si le gène est fortement exprimé, et -1, s'il n'est que faiblement exprimé.
- 9 régulateurs d'expression génique (x_{FruR} , x_{cAMP} , ...), évoluant entre -1 et 3, selon leur concentration.

Réseau métabolique :

- 20 flux métaboliques, représentés par les enzymes qui catalysent les réactions correspondantes (x_{Pgi} , x_{Fba} , ...). Ces flux varient entre -3 et 3. Le zéro indique une absence de flux, les autres valeurs rendent compte de l'intensité du flux et de sa direction. Le flux est positif s'il pointe dans le même sens que la référence en glucose, et négatif sinon.

- 4 composés biochimiques ($x_{F6P}, x_{F1,6P}, \dots$), qui peuvent atteindre les états $\{0, 1, 2, 3\}$, selon leur concentration. Seulement 4 de ces composés sont pris en compte, ceux qui interagissent avec le réseau génétique.

Tous ces composants du réseau interagissent de manière complexe. Les gènes expriment les enzymes catalysant les flux métaboliques. Ces flux métaboliques produisent ou dégradent les composés biochimiques. Certains composés biochimiques affectent l'expression des régulateurs géniques. Enfin, les régulateurs géniques régulent le degré d'expression des gènes. Les études expérimentales existantes permettent de déterminer la nature de la plupart des interactions entre les éléments de ce réseau. Par contre, les régulations de certains gènes ne sont pas encore suffisamment documentées. Pour pallier ce manque d'information, le modèle utilise 3 régulateurs fictifs.

Régulateurs fictifs :

- Joker1 et Joker2 régulent les gènes qui s'activent ou s'inhibent en présence de glucose et de glycérol.
- RepresorSdhC représente un intermédiaire inconnu, qui réprime SdhC et SucA en présence de glucose. Son activation dépend de EIICBGlc.

Joker1 régule 8 gènes : *ackA*, *fba*, *fumb*, *gltA*, *pgi*, *ppc*, *pta* et *tpia*.

Joker2 régule 2 gènes : *gapA*, *pykA*.

RepSdhC régule 2 gènes : *sdhC*, *sucA*.

A.2.1.2 Règles de régulation et fonction discrètes associées

Les diverses recherches ont permis de définir qualitativement la presque totalité des interactions entre les composants du réseau (Ramirez, 2003). Nous décrivons ici seulement certaines de ces relations. Ces relations d'interdépendance sont traduites ensuite en équations discrètes. D'une manière générale, les équations discrètes se construisent à partir des fonctions maximum (*Max*), minimum (*Min*), *sign0*, *sign1* et *MaxFlux* (et des fonctions élémentaires telles que la somme et la multiplication). Les fonctions *sign0* et *sign1* sont des fonctions de type activation. Ces fonctions permettent d'activer la valeur d'un composant à

0,1 ou -1 , selon le passage d'un seuil par la quantité qui régule. Elles permettent notamment de rendre compte de l'évolution de l'état des gènes. Elles sont définies par :

$$\text{sign}0 = \begin{cases} 1, & \text{si } x \geq 0 \\ 0, & \text{sinon} \end{cases} \quad \text{sign}1 = \begin{cases} 1, & \text{si } x \geq 0 \\ -1, & \text{sinon} \end{cases}$$

La fonction *MaxFlux* renvoie la variable ayant la plus grande valeur absolue. Elle est généralement utilisée pour des calculs de flux, tout comme les fonctions *Max* et *Min*.

$$\text{MaxFlux}(x_1, x_2) = \begin{cases} x_1 & \text{si } |x_1| > |x_2| \\ x_2 & \text{si } |x_2| > |x_1| \\ x_1 & \text{si } x_1 = x_2 \\ |x_1| & \text{si } x_1 = -x_2 \end{cases}$$

Exemple de traduction des règles de régulation en équations discrètes

Nous choisissons quelques exemples pour illustrer la construction du système d'équations :

- G3P ($x_{G3P} \in \{0,1,2,3\}$) est un des composés biochimiques de la glycolyse. Sa concentration, représentée ici par une valeur prise entre 0 et 3, dépend des flux métaboliques qui l'alimentent ou le consomment. Les flux métaboliques sont classés selon 4 niveaux d'intensité : flux nul (0), flux faible (1), flux intermédiaire (2) et flux important (3). La concentration de G3P sera donnée par le maximum des valeurs de flux le concernant, c'est-à-dire ceux de GapA, GlpK et Fba. Ceci se traduit par la mise en équation suivante pour x_{G3P} :

$$x_{G3P}(t+1) = \text{Max}(x_{Fba}(t), x_{GlpK}(t), -x_{GapA}(t), 0).$$

- acnB ($x_{acnB} \in \{-1,1\}$) est un des gènes du réseau. Il est régulé par cAMP.Crp, son expression augmentant lorsque les niveaux de cAMP.Crp sont maximaux. Le niveau maximum atteint par cAMP.Crp est de 2. Il en résulte l'équation d'activation suivante :

$$x_{acnB}(t+1) = \text{sign}1(x_{cAMP.Crp}(t) - 1.1).$$

- Ppc ($x_{Ppc} \in \{-1, 1\}$) est une enzyme qui catalyse une réaction de consommation de PEP, lequel peut être produit par Pps et GapA. Elle possède un flux unidirectionnel. Le flux en Ppc dépend de ceux en Pps et GapA, qui alimentent le composé PEP, dégradé par Ppc. De plus, le flux est activé seulement si le gène *ppc* est actif, d'où l'équation :

$$x_{Ppc}(t + 1) = \text{Max}(x_{GapA}(t), x_{Pps}(t), 0) \text{sign}0(x_{ppc}(t)).$$

La dynamique complète du modèle est finalement donnée par 67 équations discrètes :

$$\begin{aligned}
x_{aceA}(t+1) &= \text{sign1}(x_{FruR}(t) - 1.1) \\
x_{AceA}(t+1) &= \text{sign0}(x_{AcnB}(t)x_{aceA}(t) - 0.1) \\
x_{aceB}(t+1) &= \text{sign1}(x_{FruR}(t) - 1.1) \\
x_{AceB}(t+1) &= \text{sign0}(x_{AceA}(t)x_{aceB}(t) - 0.1) \\
x_{aceK}(t+1) &= \text{sign1}(x_{FruR}(t) - 1.1) \\
x_{AceK}(t+1) &= \text{sign1}(\text{sign0}(x_{aceK}(t))\text{sign0}((-x_{ICT}(t)x_{G3P}(t)) - 0.1)) \\
x_{acétate}(t+1) &= x_{acétate}(t) \\
x_{ackA}(t+1) &= \text{sign1}(x_{Joker1}(t) - 1.1) \\
x_{AckA}(t+1) &= \text{MaxFlux}(\text{Max}(x_{Pta}(t), 0), \text{Min}(-x_{acétate}(t), 0)) \\
x_{acnB}(t+1) &= \text{sign1}(x_{cAMP.Crp}(t) - 1.1) \\
x_{AcnB}(t+1) &= x_{GluA}(t) \\
x_{cAMP}(t+1) &= x_{Cya}(t) \\
x_{cAMP.Crp}(t+1) &= x_{cAMP}(t)x_{Crp}(t) \\
x_{Crp}(t+1) &= 1 \\
x_{crr}(t+1) &= -x_{Mlc}(t)\text{sign0}(x_{cAMP.Crp}(t) + 0.5) \\
x_{Cya}(t+1) &= (1 - x_{EIIAGlc}(t))(1 + \text{sign0}(1 - x_{G3P}(t))) \\
x_{EIIAGlc}(t+1) &= \text{sign0}(x_{EIIcBGlc}(t) - 0.1) \\
x_{EIIcBGlc}(t+1) &= x_{glucose}(t) \\
x_{F1,6P}(t+1) &= \text{Max}(x_{PfkA}(t), -x_{Fba}(t)) \\
x_{F6P}(t+1) &= \text{Max}(x_{Pgi}(t), -x_{PfkA}(t)) \\
x_{fba}(t+1) &= \text{sign1}(x_{Joker1}(t) - 0.1) \\
x_{Fba}(t+1) &= \text{MaxFlux}(\text{Max}(x_{PfkA}(t), 0), \text{Min}(-x_{GlpK}(t), x_{GapA}(t), 0)) \\
x_{fbp}(t+1) &= \text{sign1}(x_{FruR}(t) - 1.1) \\
x_{FruR}(t+1) &= 2 - \text{Max}(\text{MaxFlux}(x_{F6P}(t) - 1, x_{F1,6P}(t) - 1), 0) \\
x_{fuma}(t+1) &= \text{sign1}(x_{cAMP.Crp}(t) - 0.1) \\
x_{fumb}(t+1) &= -\text{sign1}(x_{Joker1}(t) - 0.1) \\
x_{fumc}(t+1) &= \text{sign1}(x_{cAMP.Crp}(t) - 1.1) \\
x_{Fum}(t+1) &= x_{SdhC}(t) \\
x_{G3P}(t+1) &= \text{Max}(x_{Fba}(t), x_{GlpK}(t), -x_{GapA}(t), 0) \\
x_{gapA}(t+1) &= \text{sign1}(\text{sign0}(x_{EIIcBGlc}(t) - 0.1) + x_{Joker2}(t) - 0.1) \\
x_{GapA}(t+1) &= \text{MaxFlux}(\text{Max}(x_{GlpK}(t), x_{Fba}(t), 0), \text{Min}(-x_{PckA}(t), -x_{Pps}(t), 0)) \\
x_{GlpK}(t+1) &= \text{Max}(x_{glycérol}(t), 0)\text{sign0}(2 - x_{F1,6P}(t))\text{sign0}(2 - x_{EIIcBGlc}(t)) \\
x_{glta}(t+1) &= -\text{sign1}(x_{Joker1}(t) - 1.1)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
x_{GltA}(t+1) &= \text{Max}(-x_{Pta}(t), x_{Pfl}(t), 0) \\
x_{glucose}(t+1) &= x_{glucose}(t) \\
x_{glycérol}(t+1) &= x_{glycérol}(t) \\
x_{IcdA}(t+1) &= x_{AcnB}(t) \text{sign}0(-x_{AceK}(t)) \\
x_{ICT}(t+1) &= x_{AcnB}(t) \\
x_{Joker1}(t+1) &= \text{sign}0(x_{glucose}(t) - 0.1) + \text{sign}0(x_{glucose}(t) + x_{glycérol}(t) - 0.1) \\
x_{Joker2}(t+1) &= \text{sign}0(x_{glycérol}(t) - x_{glucose}(t) - 0.1) \\
x_{mdh}(t+1) &= \text{sign}1(x_{cAMP.Crp}(t) - 1.1) \\
x_{Mdh}(t+1) &= \text{Max}(x_{AceB}(t), x_{Fum}(t)) \text{sign}0(x_{mdh}(t)) \\
x_{Mlc}(t+1) &= -\text{sign}1(x_{EIICBGlc}(t) - 0.1) \\
x_{pckA}(t+1) &= \text{sign}1(x_{FruR}(t) - 0.1) \\
x_{PckA}(t+1) &= \text{MaxFlux}(x_{Mdh}(t), x_{Ppc}(t), 0) \text{sign}0(x_{pckA}(t)) \\
x_{pfkA}(t+1) &= -\text{sign}1(x_{FruR}(t) - 1.1) \\
x_{PfkA}(t+1) &= \text{MaxFlux}(\text{Max}(x_{Pgi}(t), 0), \text{Min}(x_{Fba}(t), 0)) \\
x_{Pfl}(t+1) &= x_{Pyk}(t) \\
x_{Pgi}(t+1) &= \text{sign}1(x_{Joker1}(t) - 0.1) \\
x_{Pgi}(t+1) &= \text{MaxFlux}(x_{EIICBGlc}(t), \text{Min}(x_{PfkA}(t), 0)) \\
x_{ppc}(t+1) &= \text{sign}1(x_{Joker1}(t) - 0.1) \\
x_{Ppc}(t+1) &= \text{Max}(x_{GapA}(t), x_{Pps}(t), 0) \text{sign}0(x_{ppc}(t)) \\
x_{pps}(t+1) &= \text{sign}1(x_{FruR}(t) - 1.1) \\
x_{Pps}(t+1) &= x_{Pyk}(t) \text{sign}0(x_{pps}(t)) \\
x_{pta}(t+1) &= \text{sign}1(x_{Joker1}(t) - 0.1) \\
x_{Pta}(t+1) &= \text{MaxFlux}(x_{Pfl}(t), \text{Min}(x_{AckA}(t), 0)) \\
x_{ptsG}(t+1) &= -x_{Mlc}(t) \text{sign}0(x_{cAMP.Crp}(t) + 0.5) \\
x_{ptsH}(t+1) &= -x_{Mlc}(t) \text{sign}0(x_{cAMP.Crp}(t) + 0.5) \\
x_{ptsI}(t+1) &= -x_{Mlc}(t) \text{sign}0(x_{cAMP.Crp}(t) + 0.5) \\
x_{pykA}(t+1) &= \text{sign}1(x_{Joker2}(t) - 0.1) \\
x_{Pyk}(t+1) &= \text{Max}(x_{GapA}(t), x_{PckA}(t), 0) \text{sign}0(x_{pykF}(t) + x_{pykA}(t)) \\
x_{pykF}(t+1) &= -\text{sign}1(x_{FruR}(t) - 1.1) \\
x_{RepSdhC}(t+1) &= \text{sign}0(x_{EIICBGlc}(t) - 0.1) + \text{sign}0(x_{EIICBGlc}(t) + x_{glycérol}(t) - 0.1) \\
x_{sdhC}(t+1) &= -\text{sign}1(x_{RepSdhC}(t) - 0.1) \\
x_{SdhC}(t+1) &= x_{AceA}(t) \text{sign}0(x_{sdhC}(t)) \\
x_{sucA}(t+1) &= -\text{sign}1(x_{RepSdhC}(t) - 1.1) \\
x_{tpia}(t+1) &= \text{sign}1(x_{Joker1}(t) - 0.1)
\end{aligned}$$

Note : l'équation d'évolution de FruR a été légèrement modifiée, puisque la version originale de P. Ramirez était $x_{FruR}(t+1) = 2 - MaxFlux(MaxFlux(x_{F6P}(t) - 1, x_{F1,6P}(t) - 1), 0)$. Cette équation n'était pas cohérente avec le domaine de variation de FruR, car elle permettait d'atteindre la valeur 3, alors que FruR prend au maximum la valeur 2. La première fonction *MaxFlux* doit être remplacée par la fonction *Max*.

A.2.2 Comportement biologique associé

Le système décrit doit pouvoir représenter les comportements observés en glucose, en glycérol et en acétate, dans les conditions expérimentales, lorsqu'un régime permanent s'établit. Le système dynamique doit donc se stabiliser sur les valeurs théoriques correspondant aux valeurs réelles. Nous détaillons comment les valeurs expérimentales des composants pour chaque phénotype (déjà présentes dans les Figures A.2 et A.4) sont représentées par les nombres entiers du modèle. Nous illustrons cette correspondance pour certaines variables prises en exemple.

Etats mesurés des flux et correspondance avec les entiers du modèle

Les valeurs expérimentales utilisées sont celles de Holms (Holms, 1996). Ce tableau mentionne la correspondance entre les valeurs expérimentales et l'état discret associé à certaines variables de flux.

La correspondance assigne les valeurs -3 ou 3 aux flux actifs en glucose, -2 ou 2 à ceux en glycérol et -1 ou 1 à ceux en acétate. Dans tous les cas, 0 représente une absence de flux. Cette classification s'établit ainsi, car les flux de la glycolyse présentent expérimentalement cette hiérarchie en intensité des flux (fort en glucose, intermédiaire en glycérol et faible en acétate). Par contre, cette tendance n'est pas respectée dans le cycle des acides tricarboxyliques. Ceci est moins important, puisque aucun des composés biochimiques de ce cycle n'influe ensuite sur le réseau génétique. Les composés de la glycolyse le font à travers l'action de F1,6P, F6P et G3P sur les régulateurs. Nous nous intéressons donc simplement à la direction des flux pour le cycle.

Nom de l'enzyme	Variable associée	glucose		glycérol		acétate	
		Valeur de flux	Etat associé	Valeur de flux	Etat Associé	Valeur de flux	Etat associé
AceA	x_{AceA}	1	0	a	0	a	1
AcnB	x_{AcnB}	1	3	1.39	2	4.30	1
Fba	x_{Fba}	1	3	-0.08	-2	-0.05	-1
GapA	x_{GapA}	1	3	0.66	2	-0.09	-1
PckA	x_{PckA}	1	0	b	2	0.93	1
PfkA	x_{PfkA}	1	3	-0.08	-2	-0.05	-1
Pfl	x_{Pfl}	1	3	0.61	2	0.00	0
Pgi	x_{Pgi}	1	3	-0.08	-2	-0.05	-1
Ppc	x_{Ppc}	1	3	0.74	2	b	0

Table 1. Correspondance entre les valeurs expérimentales des flux et les valeurs théoriques du modèle, d'après (Ramirez, 2003). « a » et « b » désignent des flux dont les valeurs n'ont pas pu être mesurées.

Etats mesurés des gènes et correspondance avec les entiers du modèle

Les valeurs expérimentales sont toujours celles de (Oh et Liao, 2000). La correspondance avec le système discret utilisé se réalise par rapport aux seuils de sur-expression et de sous-expression relatifs aux gènes. Par exemple, la valeur de transcription de *sdhC* en glucose est la référence 1. En glycérol, elle vaut 1.4 et, en acétate, 2.1. Comme la valeur en acétate franchit le seuil de sur-expression égale à 2, on lui affecte la valeur d'activation 1. On affecte la valeur -1 dans les autres cas, où le seuil de sur-expression n'est pas franchi.

Nom du gène	Variable associée	glucose		glycérol		acétate	
		Raison de transcription	Etat correspondant	Raison de transcription	Etat correspondant	Raison de transcription	Etat correspondant
<i>aceA</i>	x_{aceA}	1	-1	1.50	-1	20.00	1
<i>crr</i>	x_{crr}	1	1	0.40	-1	0.20	-1
<i>fba</i>	x_{fba}	1	1	1.00	1	0.30	-1
<i>fbp</i>	x_{fbp}	1	-1	0.90	-1	2.00	1
<i>gapA</i>	x_{gapA}	1	1	1.20	1	0.40	-1
<i>pgi</i>	x_{pgi}	1	1	0.90	1	0.50	-1
<i>ppc</i>	x_{ppc}	1	1	0.90	1	0.40	-1
<i>pta</i>	x_{pta}	1	1	0.80	1	0.40	-1
<i>ptsI</i>	x_{ptsI}	1	1	0.50	-1	0.40	-1
<i>pykF</i>	x_{pykF}	1	1	0.80	1	0.50	-1
<i>sdhC</i>	x_{sdhC}	1	-1	1.40	-1	2.10	1

Table 2. Correspondance entre les valeurs expérimentales d'expression des gènes et les valeurs théoriques du modèle.

Etats des régulateurs et composés biochimiques

Nom du Regulateur	Variables	glucose	glycérol	acétate
acétate	$x_{acétate}$	0	0	1
AceK	x_{AceK}	-1	-1	-1
cAMP	x_{cAMP}	0	1	2
cAMP.Crp	$x_{cAMP.Crp}$	0	1	2
Crp	x_{Crp}	1	1	1
Cya	x_{Cya}	0	1	2
EIIAGlc	$x_{EIIAGlc}$	1	0	0
EIICBGlc	$x_{EIICBGlc}$	3	0	0
F1,6P	$x_{F1,6P}$	3	2	1
F6P	x_{F6P}	3	2	1
FruR	x_{FruR}	0	1	2
G3P	x_{G3P}	3	2	1
glucose	$x_{glucose}$	3	0	0
glycérol	$x_{glycérol}$	0	2	0
ICT	x_{ICT}	3	2	1
Mlc	x_{Mlc}	-1	1	1

Table 3. Valeur théorique des états des régulateurs.

La modélisation est satisfaisante si, pour toutes les conditions initiales possibles, l'état du système se stabilise sur les valeurs expérimentales données par les Tables de correspondances ci-dessus, selon la composition en glucose, glycérol et acétate. Aucun comportement périodique n'a été observé expérimentalement.

A.2.3 Analyse mathématique des modèles discrets par « systèmes dynamiques symboliques »

A.2.3.1 Problématique

Les modèles discrets développés pour *E. coli* (Ramirez, 2003) et *S. cerevisiae* (Oviedo, 2004) comportent un grand nombre d'équations reflétant les interactions entre les composants du réseau de fonctionnement global des ces organismes. Ces composants peuvent être des gènes, des enzymes, des composés biochimiques ou des régulateurs, tous interconnectés entre eux. L'évolution du système est modélisée par un système dynamique discret à N variables. L'état du système au temps t est décrit par l'état des N variables.

On appellera x le vecteur d'état : $x \in \Omega \subset \mathbb{Z}^N$. Ω est le domaine de définition de x . Chaque composante x_i de x correspond à la $i^{\text{ème}}$ variable du système et prend des valeurs entières dans son domaine de variation Ω_i .

$$\Omega = \prod_{i=1}^N \Omega_i = \Omega_1 \times \Omega_2 \times \dots \times \Omega_i \times \dots \times \Omega_N \text{ avec } \Omega_1 = \{-1, 1\}, \Omega_2 = \{0, 1, 2, 3\}, \dots$$

Le détail de l'expression du domaine de variation pour certaines des variables se trouve dans la Table 5. L'évolution du système, entre deux pas de temps, est donnée par la fonction de transition globale du système : f ($f : \Omega \rightarrow \Omega$). Le système dynamique est décrit par :

$$\begin{cases} x_0 \in \Omega \\ x(t+1) = f(x(t)) \end{cases}$$

où x_0 est l'état initial.

La dynamique de chaque composante est ainsi donnée par $\forall i \in [1, \dots, N]$, $x_i(t+1) = f_i(x(t))$.

Dans le cas du modèle d'*E. coli*, f est définie par les 67 équations écrites précédemment (partie A.2.1.2).

A partir de la donnée d'un état initial et de la fonction de transition globale f , la trajectoire du vecteur d'état x dans l'espace d'état est donnée par les itérations successives de f :

$$\{x_0, f(x_0), f^{(2)}(x_0), \dots, f^{(p)}(x_0), \dots\}.$$

Le système d'équations régissant l'évolution du système doit rendre compte du phénomène naturel, c'est-à-dire refléter, dans chaque circonstance, le bon phénotype stable, selon la composition fixée dans le milieu extérieur. Ainsi, si l'on fixe une entrée en glucose, on doit observer le même phénotype, quels que soient les états du glycérol et de l'acétate et quelque soit la valeur choisie initialement pour x_0 . Expérimentalement, dans le cas d'*E. coli*, dans toutes les configurations possibles du substrat, on observe toujours une stabilisation des variables. On aurait pu, par exemple, observer des oscillations. Si le substrat possède du glucose, il se stabilise dans la configuration métabolique de la Figure A.2a. Cette valeur de stabilité observée est traduite parmi les valeurs du modèle par l'état x_{Glu}^* . Si le substrat ne possède pas de glucose, mais possède du glycérol, la valeur de stabilité sera notée x_{Gly}^* . Enfin, dans le cas où le substrat possède uniquement de l'acétate, il s'agira de x_{Ace}^* . Un dernier cas est à envisager : lorsqu'il n'y a pas de source de carbone, on notera x_{Abs}^* la stabilisation correspondante. Les valeurs de certaines composantes de x_{Glu}^* , x_{Gly}^* , x_{Ace}^* sont décrites dans les Tables 1, 2 et 3. Pour x_{Abs}^* , on n'a pas de valeur expérimentale, mais on sait qu'elle doit correspondre à une situation où tous les flux métaboliques sont nuls. Le modèle, pour refléter la réalité des expériences, doit donc, à partir d'une situation donnée en glucose, glycérol et acétate et de n'importe quelle situation initiale pour les autres valeurs, construire une trajectoire d'état qui se stabilise à la valeur concernée : x_{Glu}^* , x_{Gly}^* , x_{Ace}^* ou x_{Abs}^* . En d'autres termes, le système doit converger, dans chaque condition, vers le bon point fixe. Un point fixe x^* de la fonction f est défini par $x^* = f(x^*)$, l'ensemble des points fixes de f étant les solutions de l'équation $x = f(x)$.

Parmi les variables de l'état x , la 7^{ème} coordonnée représente l'acétate, la 35^{ème} le glucose et la 36^{ème} le glycérol avec $\Omega_{35} = \{0, 3\}$, $\Omega_{36} = \{0, 2\}$, $\Omega_7 = \{0, 1\}$. Chacune de ces sources prend la valeur nulle, lorsqu'elle n'est pas présente dans le substrat, et prend la valeur entière positive, dans le cas contraire.

En termes mathématiques, le modèle est satisfaisant si :

$$\exists p \in \mathbb{N},$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_0(35) = 3\}, f^{(p)}(x_0) = f^{(p+1)}(x_0) = x_{Glu}^*$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_0(35) = 0, x_0(36) = 2\}, f^{(p)}(x_0) = f^{(p+1)}(x_0) = x_{Gly}^*$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_0(35) = 0, x_0(36) = 0, x_0(7) = 1\}, f^{(p)}(x_0) = f^{(p+1)}(x_0) = x_{Ace}^*$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_0(35) = 0, x_0(36) = 0, x_0(7) = 0\}, f^{(p)}(x_0) = f^{(p+1)}(x_0) = x_{Abs}^*$$

Une condition nécessaire pour satisfaire ces propriétés est que l'équation $f(x) = x$ admette 4 solutions sur Ω , qui soient exactement x_{Glu}^* , x_{Gly}^* , x_{Ace}^* et x_{Abs}^* .

Exemple de dépendance de la situation initiale

Considérons le système dynamique discret suivant, bâti à l'aide des fonctions élémentaires utilisées par P. Ramirez :

$$\begin{cases} x_1(t+1) = \text{sign}0(x_3(t))x_2(t) \\ x_2(t+1) = -x_1(t) \\ x_3(t+1) = \text{Max}(x_3(t), 0) \end{cases}$$

Cherchons la solution de l'équation $x = f(x)$.

$$f(x) = x \Leftrightarrow \begin{cases} x_1 = \text{sign}(x_3)x_2 \\ x_2 = -x_1 \\ x_3 = \text{Max}(x_3, 0) \end{cases} \Leftrightarrow \begin{cases} x_1(1 + \text{sign}(x_3)) = 0 \\ x_2 = -x_1 \\ x_3 = \text{Max}(x_3, 0) \end{cases} \Leftrightarrow \begin{cases} x_1 = 0 \\ x_2 = 0 \\ x_3 = \text{Max}(x_3, 0) \end{cases}$$

On en conclut que les points fixes sont les points de la forme $(0, 0, c)$, avec $c \geq 0$. Pour cette dynamique simple, il est possible d'analyser directement les trajectoires à partir d'un point

quelconque $\begin{pmatrix} a \\ b \\ c \end{pmatrix}$.

$$\text{Si } c \geq 0, \begin{pmatrix} a \\ b \\ c \end{pmatrix} \xrightarrow{f} \begin{pmatrix} b \\ -a \\ c \end{pmatrix} \xrightarrow{f} \begin{pmatrix} -a \\ -b \\ c \end{pmatrix} \xrightarrow{f} \begin{pmatrix} -b \\ a \\ c \end{pmatrix} \xrightarrow{f} \begin{pmatrix} a \\ b \\ c \end{pmatrix}.$$

On a un cycle de longueur 4, sauf dans le cas où $a = b = 0$, où on est directement sur un point fixe.

Si $c < 0$, $\begin{pmatrix} a \\ b \\ c \end{pmatrix} \xrightarrow{f} \begin{pmatrix} 0 \\ -a \\ 0 \end{pmatrix} \xrightarrow{f} \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$. On converge dans ce cas vers le point fixe $\begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$.

Cette dynamique simple présente donc plusieurs comportements possibles, selon la zone où se trouve la situation initiale. Cette dynamique est construite avec des fonctions du type de celles utilisées pour *E. coli*, et, avec seulement 3 équations, on peut déjà faire apparaître des comportements non désirés. Il est donc nécessaire d'analyser la dynamique entièrement, pour savoir si le modèle est satisfaisant en termes de convergence. La dynamique de cet exemple est satisfaisante, si on la restreint par exemple à $\{x/x_1 > 0, x_2 > 0, x_3 < 0\}$, car, sur cet ensemble, tous les points convergent vers le même point fixe.

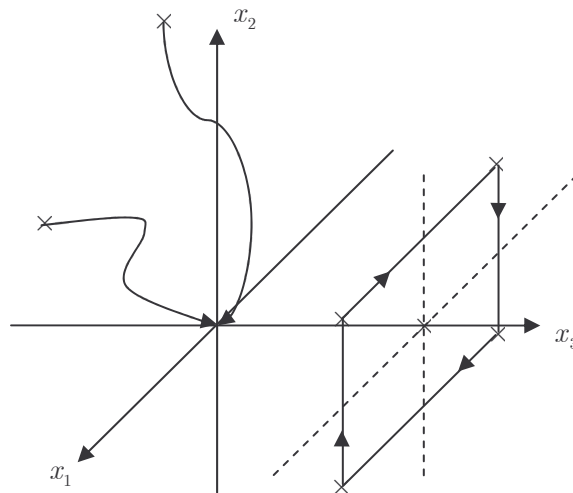


Figure A.7. Représentation qualitative des types de trajectoires, selon le choix de la situation initiale.

La dynamique des systèmes représentant *E. coli* et *S. cerevisiae* a été jusqu'alors étudiée seulement par simulation. Pour chaque condition en composition du substrat, les simulations ont montré que l'on obtenait bien la convergence vers le point fixe voulu à partir de 100.000 valeurs initiales choisies au hasard. Ces simulations permettent d'avoir une idée sur la validité du modèle, mais sont largement insuffisantes, puisque l'ensemble total des choix de la situation initiale est de l'ordre de 10^{30} ($\simeq 1,0632 \cdot 10^{30}$), ce qui veut dire que les simulations ont vérifié la convergence pour moins d'un cas sur 10^{25} . Nous proposons une

méthode d'analyse de ces systèmes par « systèmes dynamiques discrets intelligents » permettant d'explorer les comportements, à partir de n'importe quel choix de situation initiale.

A.2.3.2 Formulation de la méthode

Nous détaillons à présent la méthode utilisée pour prouver les convergences de toutes les situations initiales vers les bons points fixes.

A.2.3.2.1 « Système dynamique symbolique »

Chaque coordonnée x_i du vecteur d'état peut varier entre deux bornes entières. On associe ainsi, à chaque $x_i(t)$, les valeurs $x_i^-(t)$ et $x_i^+(t)$ définies comme étant les « meilleures bornes d'encadrement » de $x_i(t)$ au temps t , $\forall i \in [1, \dots, N]$, $\Omega_i = [x_i^-, x_i^+] \cap \mathbb{Z}$. Notre méthode vise à étudier la dynamique des bornes d'encadrements, en même temps que la dynamique de x . Pour cela, on définit $\forall t \geq 0$, $\Omega_i(t) = [x_i^-(t), x_i^+(t)]$ avec $\forall t \geq 0$, $x(t) \in \Omega(t) = \prod_{i=1}^N \Omega_i(t)$, ainsi que deux nouvelles fonctions de transitions f^- et f^+ .

La dynamique complète est alors définie par :

$$\begin{cases} x(t+1) = f(x(t), x^-(t), x^+(t)) \\ x^-(t+1) = f^-(x(t), x^-(t), x^+(t)) \\ x^+(t+1) = f^+(x(t), x^-(t), x^+(t)) \end{cases}$$

ce que l'on peut aussi écrire : $Z(t+1) = \bar{f}(Z(t))$ avec $Z = (x, x^-, x^+)$.

La fonction \bar{f} relative à la dynamique de Z est une généralisation de la fonction f mentionnée auparavant. A chaque pas de temps, on doit respecter la propriété d'encadrement : $\forall t \geq 0$, $\forall i \in [1, \dots, N]$, $x_i^-(t) \leq x_i(t) \leq x_i^+(t)$. On rajoute donc, paradoxalement, $2N$ variables pour « simplifier » le problème.

L'idée de ce procédé est de pouvoir traiter plusieurs calculs en même temps, en partant de la situation initiale la plus générale possible. On note avec le symbole « universel » ∇ une

valeur quelconque de Ω_i , inconnue. Si le vecteur initial x_0 est défini tel que $x_{0i} = \nabla$, toutes les autres coordonnées étant fixées, cela signifie que l'on va étudier, en un seul calcul, le comportement de tous les points initiaux de l'ensemble :

$$\{y \in \Omega / \forall k \in [1, \dots, N] \setminus \{i\}, y_k = x_{0k}, x_{0i}^- \leq y_i \leq x_{0i}^+\}.$$

L'utilisation du caractère ∇ fait que l'on parle de « système dynamique symbolique ». Cette démarche permet de créer un système dynamique intelligent, capable de gérer des valeurs inconnues et d'extraire, à partir de l'information $(x(t), x^-(t), x^+(t))$ au temps t , l'information $(x(t+1), x^-(t+1), x^+(t+1))$ la plus précise possible au temps $t+1$, c'est à dire celle qui minimise $\|x^+(t+1) - x^-(t+1)\|$. Cette norme mesure le degré d'inconnu du système. La condition requise pour montrer la convergence vers un point fixe à partir d'un ensemble de conditions initiales X_0 est : $\exists p \in \mathbb{N}, \|x^+(p) - x^-(p)\| = 0$. En d'autres termes, il faut construire suffisamment bien les fonctions f^- et f^+ pour que les suites x^- et x^+ soient adjacentes. Cette formalisation sert par exemple, à utiliser la propriété $Max(x_i(t), 0) = 0$, si l'on sait que $x_i^+(t) \leq 0$, c'est-à-dire si $x_i(t)$ est négatif.

Un exemple adapté, pour illustrer cette méthode, est issu des équations du modèle de *S. cerevisiae*. Pour ce système, la formulation mathématique utilisée par C. Oviedo est différente. Elle est réalisée avec des fonctions de transition entièrement discrètes (c'est-à-dire que, pour chaque jeu de valeurs discrètes en entrée, la fonction renvoie un entier donné), alors que les fonctions utilisées pour *E. coli* sont des discrétisations de fonctions continues. Dans ce modèle, on peut isoler un petit sous-système de 7 éléments qui fonctionne indépendamment du reste du réseau : il n'est affecté par aucune régulation extérieure. Ce sous-réseau d'interaction est représenté par la Figure A.8, avec les notations de C. Oviedo. Le composé *glu* représente le glucose. Dans la représentation de ce sous-réseau, les nœuds sont les composants et les flèches indiquent les régulations existant entre les composants. Par exemple, *hkk1* est régulé par *gluab* et *glk1*. Les nœuds sont annotés par les bornes de variation des valeurs des composants. Ce réseau répond à deux situations extérieures : présence de glucose (codée par $glu = 6$) ou absence de glucose (codée par $glu = 0$). On a écrit, sur la figure de gauche, les équations d'évolution de quatre des 7 composants. On peut appliquer, « à la main », la méthode du « système dynamique symbolique ».

- Dans le cas où $glu = 0$ à $t = 0$, d'après l'équation discrète de *gluab*, on sait que $gluab(1)$ (valeur de la variable à $t = 1$) vaut 0, car $glu(0) = 0$. Ensuite, puisque *hkk1*

est doublement régulé et puisqu'on ne connaît la valeur que d'un des deux régulateurs, on ne peut *a priori* pas déterminer $hkk1(2)$. Par contre, l'examen de l'équation de $hkk1$ montre que $hkk1$ vaut -1 ou 0 , mais ne peut pas être égal à 1 , puisque $gluab(1)$ ne vaut pas 1 . On ne peut extraire pas la valeur exacte de $hkk1(2)$, mais on restreint son domaine de variation. $hxx2$ est régulé par $hkk1$ et, grâce à la restriction précédente, on déduit que $hxx2(3) = 0$. Ceci détermine la valeur de $pyk2(4)$, puisqu'il est régulé seulement par $hxx2$. On a ensuite accès à $pgi(5)$, régulé par les valeurs de $pyk2$ et $hxx2$, toutes deux connues, de même pour $glk1(6)$. Ainsi, à la 7^{ème} itération de la méthode, puisqu'on connaît $gluab(6)$ et $glk1(6)$, on détermine $hkk1(7)$. On calcule ainsi en une fois la convergence vers le point fixe.

- Dans le cas où $glu(0) = 6$, $gluab(1) = 1$ et la détermination ne pose aucun problème, car $gluab(1) = 1$ impose directement que $hkk1(2) = 1$, sans nécessiter d'information supplémentaire sur $glk1$.

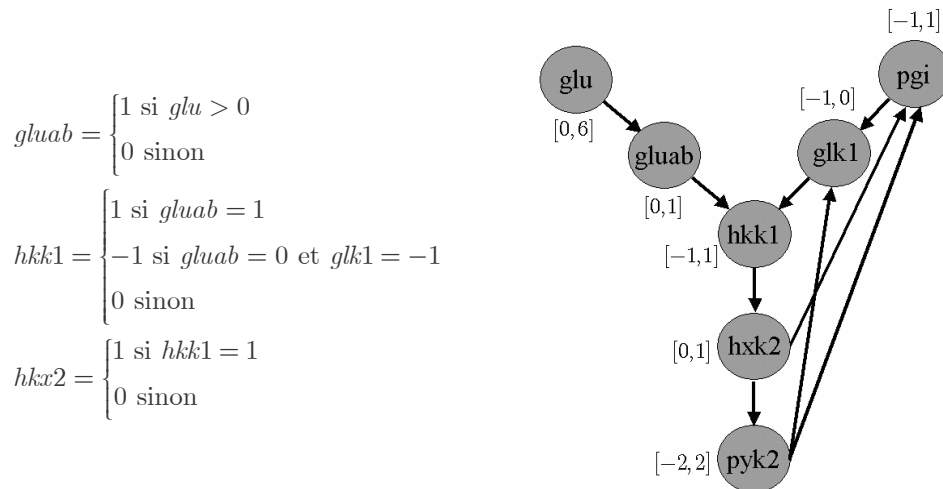


Figure A.8. Sous-réseau de régulation de *S. cerevisiae*.

Nous évoquons ensuite, sur un exemple, comment cette méthode est implémentée pour fonctionner de manière automatique, pour de grands réseaux.

A.2.3.2.2 Définition de la fonction de transition généralisée \bar{f}

Dans le modèle pour *E. coli*, l'équation d'évolution de la variable x_{22} représentant Fba est donnée par :

$$x_{22}(t+1) = f_{22}(x_{47}(t), x_{32}(t), x_{31}(t)) = \text{MaxFlux}(\text{Max}(x_{47}(t), 0), \text{Min}(-x_{32}(t), x_{31}(t), 0)).$$

Nous décrivons ici explicitement l'expression de la fonction généralisée \bar{f}_{22} .

La 22^{ème} composante de la fonction \bar{f} est telle que :

$$z_{22}(t+1) = (x_{22}(t+1), x_{22}^-(t+1), x_{22}^+(t+1)) = \bar{f}_{22}(z_{47}(t), z_{32}(t), z_{31}(t))$$

$$[x, y, z] = \bar{f}_{22}(x_1, y_1, z_1, x_2, y_2, z_2, x_3, y_3, z_3), \text{ avec les restrictions : } y_1 \leq z_1, y_2 \leq z_2, y_3 \leq z_3.$$

si $(x_1 \neq \nabla, x_2 \neq \nabla, x_3 \neq \nabla)$

$$(x, y, z) = (f_{22}(x_1, x_2, x_3), f_{22}(x_1, x_2, x_3), f_{22}(x_1, x_2, x_3))$$

si $(x_1 \neq \nabla, y_2 \geq -x_1, z_3 \leq x_1)$

$$(x, y, z) = (x_1, x_1, x_1)$$

si $(z_1 \leq 0)$

si $(z_2 \leq 0)$

si $(z_3 \geq 0)$

$$(x, y, z) = (0, 0, 0)$$

sinon

si $(x_3 \neq \nabla)$

$$(x, y, z) = (x_3, x_3, x_3)$$

sinon

$$(x, y, z) = (\nabla, y_3, z_3)$$

sinon

si $(x_2 \neq \nabla, x_3 \neq \nabla)$

$$(x, y, z) = (\text{Min}(-x_2, x_3, 0), \text{Min}(-x_2, x_3, 0), \text{Min}(-x_2, x_3, 0))$$

si $(x_2 \neq \nabla, -x_2 \leq y_3)$

$$(x, y, z) = (x_2, x_2, x_2)$$

sinon

$$(x, y, z) = (\nabla, \text{Min}(-z_2, y_3, 0), 0)$$

sinon

$$(x, y, z) = (\nabla, \text{Min}(-z_2, y_2, 0), \text{Max}(z_1, 0))$$

Chaque composante de la fonction \bar{f} est ainsi détaillée, à partir de la description généralisée des fonctions de base $(\text{Min}, \text{Max}, +, \dots)$, pour pouvoir traiter tous les cas et extraire l'information la plus précise.

A.2.3.3 Applications

A.2.3.3.1 Efficacité

La question est de savoir si une telle méthode est efficace pour l'analyse des dynamiques. Deux caractéristiques de cette construction sont déterminantes. Nous voulons minimiser le nombre de calculs à effectuer pour montrer la convergence, c'est-à-dire que nous voulons pouvoir montrer la convergence en traitant le maximum de situations initiales par calcul.

- On dira qu'une partition de Ω , telle que $\forall i \in [1, \dots, N], \Omega_i = \bigoplus_{j=1}^{n_i} D_{ij}$, est raisonnable si

$\prod_{i=1}^N n_i$ calculs sont réalisables dans un temps raisonnable avec un ordinateur. On peut, par

exemple, se fixer $\prod_{i=1}^N n_i < 100.000$.

- On dira que la fonction \bar{f} est suffisamment détaillée pour la partition de Ω , si

$$\exists p \in \mathbb{N}, \forall (j_1, \dots, j_i, \dots, j_N) \in \prod_{i=1}^N [1, \dots, n_i], \forall x \in \bar{f}^{(p)} \left(\prod_{i=1}^N D_{ij_i}, \prod_{i=1}^N \text{Min}(D_{ij_i}), \prod_{i=1}^N \text{Max}(D_{ij_i}) \right),$$

$$\text{Occ}(\nabla, x) = 0.$$

où $\bar{f}^{(p)}$ désigne la $p^{\text{ème}}$ itérée de \bar{f} , et où $Occ(\nabla, x)$ est le nombre d'occurrence du symbole ∇ dans le vecteur x : $Occ(\nabla, x) = Card\{i / x_i = \nabla\}$.

Cela signifie qu'une fonction est suffisamment détaillée, lorsqu'elle permet, en un nombre fini d'itérations, d'atteindre un vecteur dont toutes les coordonnées sont connues. De la même manière, le nombre d'itération p nécessaire doit être raisonnable.

La question est donc de savoir si, pour le problème donné, il existe une partition raisonnable de Ω et une fonction \bar{f} suffisamment détaillée, permettant de montrer les convergences voulues pour toutes les situations initiales possibles. On peut aussi s'interroger sur la partition et la fonction optimale, permettant la convergence la plus rapide.

Cette démarche est intéressante, dès que pour une dynamique donnée, le choix $\forall i \in [1, \dots, N]$, $n_i = |\Omega_i|$ ne convient pas : c'est-à-dire lorsqu'il est impossible de tout calculer. Dans le cas du modèle d'*E. coli*, on a $\prod_{i=1}^N |\Omega_i| = Card(\Omega) \sim 10^{30} \dots$

A.2.3.3.2 Résultats pour *E. coli*

Comportement en présence de glucose

On doit étudier les trajectoires issues de tous les points de l'ensemble $X_0 = \{x_0 \in \Omega / x_{35}(0) = 3\}$, la seule donnée initiale $x_{35}(0) = 3$ (qui signifie que le glucose est présent) devant suffire à imposer la convergence du système. De plus, il doit converger précisément vers x_{glu}^* . On montre, dans ce cas, avec $(n_i)_{i \in [1..N]} = (1, \dots, 1)$ impliquant

$\prod_{i=1}^N n_i = 1$, que toutes les situations initiales possibles convergent vers x_{glu}^* . Dans ce cas, on

n'a pas besoin de partitionner X_0 et la convergence s'obtient en un seul calcul.

Plus précisément, $\forall q \geq 10$, $\forall Z \in \{Z \in \Omega / Z_{35} = 3\}^3$, $\bar{f}^{(q)}(Z) = (x_{Glu}^*, x_{Glu}^*, x_{Glu}^*)$, c'est-à-dire qu'avec la fonction \bar{f} utilisée, 10 itérations suffisent pour démontrer la convergence. La Figure A.9 représente le graphe de la fonction $t \rightarrow Occ(\nabla, x(t))$, c'est-à-dire l'évolution du nombre de composantes non déterminées au cours des itérations de la fonction \bar{f} . On peut voir, sur ce graphe, qu'à la 10^{ème} itération, il reste deux occurrences de

∇ : les deux valeurs inconnues restantes sont $x_{glycérol}$ et $x_{acétate}$. Dans ce modèle, les valeurs en sources de carbone restent constantes, leur équation étant de la forme $x_j(t+1) = x_j(t)$. Cela signifie que, sans savoir si le glycérol et l'acétate sont présents, la seule donnée de la présence de glucose permet de montrer la convergence vers le point fixe en glucose. Ceci représente bien le comportement d'*E. coli* qui, lorsque le glucose est présent, se comporte de la même manière, indépendamment de la composition en glycérol et acétate.

Vu que $Occ(\nabla, x(10)) = 2$, cela signifie que la fonction n'est pas suffisamment détaillée pour la partition $(n_i)_{i \in [1..N]} = (1, \dots, 1)$. Il suffit de prendre :

$$\begin{cases} n_7 = 2, \Omega^7 = \{0\} \cup \{1\} \\ n_{36} = 2, \Omega^{36} = \{0\} \cup \{2\} \end{cases} \quad \left(\prod n_i = n_7 n_{36} = 4 \right), \text{ pour obtenir } Occ(\nabla, x(10)) = 0.$$

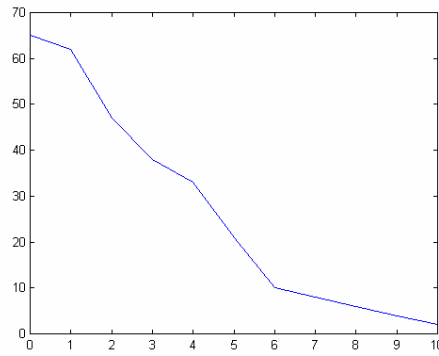


Figure A.9. Occurrence du symbole ∇ en fonction du nombre d'itérations.
(Graphe de la fonction $t \rightarrow Occ(\nabla, x(t))$).

Comportement en présence de glycérol et absence de glucose

On montre d'abord que :

$$\exists p > 0, \forall q \geq p, \forall Z \in \{Z \in \Omega / Z_{35} = \{0\}, Z_{36} = \{2\}\}^3,$$

$$\bar{f}^{(q)}(Z) \subset \Omega_{gly}^3 \subset \{Z \in \Omega / Z_{35} = \{0\}, Z_{36} = \{2\}\}^3$$

avec $\Omega_{gly}^3 = \bar{f}^{(p)}(\Omega, \prod Min(\Omega_i), \prod Max(\Omega_i))$ stable par \bar{f} . On choisit $p = 7$. Ceci permet

d'avoir une première restriction sur certaines bornes. Montrons que tous les vecteurs de Ω_{gly}^3

convergent vers $(x_{Gly}^*, x_{Gly}^*, x_{Gly}^*)$.

Propriété. On définit la norme $\|x\|$ sur \mathbb{Z}^N : $\forall x \in \mathbb{Z}^N$, $\|x\| = \text{Max} \{|x_i| / i \in [1, \dots, N]\}$ et les ensembles $\Omega_{\leq 2} = \{x \in \Omega_{gly} / \|x\| \leq 2\}$ et $\Omega_{>2} = \{x \in \Omega_{gly} / \|x\| > 2\}$, tels que $\Omega_{gly} = \Omega_{\leq 2} \oplus \Omega_{>2}$.

Nous montrons, avec $(n_i)_{i \in [1..N]} = (1, \dots, 1)$, que :

$$\exists p \in \mathbb{N}, \forall Z \in \Omega_{\leq 2}^3, \bar{f}^{(p)}(Z) = (x_{gly}^*, x_{gly}^*, x_{gly}^*)$$

De plus, $\Omega_{\leq 2}$ est stable par \bar{f} : $\bar{f}(\Omega_{\leq 2}) \subseteq \Omega_{\leq 2}$, ceci car les fonctions de transition sont composées de fonctions du type *Max*, *Min*, *sign0*, *sign1* et donc, si, à un moment t donné, toutes les variables sont de valeur absolue inférieure ou égale à 2, alors, à $t + 1$, elles seront toujours de valeur absolue inférieure ou égale à 2.

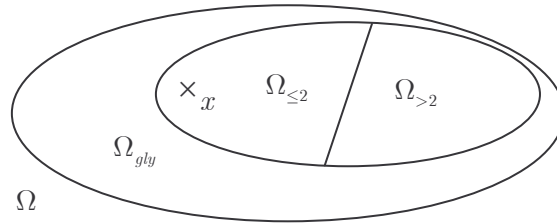


Figure A.10. Représentation des ensembles.

Reste à démontrer la convergence à partir des conditions initiales égales à des vecteurs $\Omega_{>2}$.

- soit directement
- soit en démontrant que $\exists p \in \mathbb{N}, \forall Z \in \Omega_{>2}^3, \bar{f}^{(p)}(Z) \in \Omega_{\leq 2}^3$ (c'est-à-dire qu'au bout d'un certain temps, les trajectoires atteignent l'ensemble $\Omega_{\leq 2}$).

Pour démontrer cela, nous avons pris tous les n_i égaux à 1 sauf :

$$\begin{aligned}
n_{61} &= 2, \quad \Omega_{>2}^{61} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, \quad n_{54} = 2, \quad \Omega_{>2}^{54} = \{0, 1, 2\} \times \{3\} \\
n_{53} &= 2, \quad \Omega_{>2}^{53} = \{-1\} \times \{1\}, \quad n_{52} = 2, \quad \Omega_{>2}^{52} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, \\
n_{50} &= 2, \quad \Omega_{>2}^{50} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\}, \quad n_{47} = 2, \quad \Omega_{>2}^{47} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\} \\
n_{45} &= 2, \quad \Omega_{>2}^{45} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, \quad n_{44} = 2, \quad \Omega_{>2}^{44} = \{-1\} \times \{1\}, \\
n_{31} &= 2, \quad \Omega_{>2}^{31} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\}, \quad n_{22} = 2, \quad \Omega_{>2}^{22} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\} \\
n_{20} &= 2, \quad \Omega_{>2}^{20} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, \quad n_{19} = 2, \quad \Omega_{>2}^{19} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}
\end{aligned}$$

ce qui implique : $\prod_{i=1}^N n_i = n_{19}n_{20}n_{22}n_{31}n_{44}n_{45}n_{47}n_{50}n_{52}n_{53}n_{54}n_{61} - 1 = 2^{12} - 1 = 4095$ calculs.

(ce qui est très rapide avec n'importe quel ordinateur).

Avec cette partition, on obtient $Occ(\nabla, x(t)) = 1$ et $x(t) = x_{Cly}^*$, pour $t \geq 18$.

La valeur inconnue restante est celle de l'acétate, ce qui montre qu'il ne joue aucun rôle ici. La démonstration de la convergence à partir de $\Omega_{>2}$, se démontre en 4095 calculs, pour un total de 56570 itérations de \bar{f} . On démontre également que l'on atteint $\Omega_{\leq 2}$ à partir de $\Omega_{>2}$ avec 4095 calculs, pour un total de 31074 itérations de \bar{f} .

Comportement lorsque seul l'acétate est présent dans le milieu extérieur

Dans ce cas, on montre, avec $\prod_{i=1}^N n_i = 1$, que :

$$\exists p \in \mathbb{N}, \forall q \geq p, \forall Z \in \{Z \in \Omega / Z_{35} = \{0\}, Z_{36} = \{0\}, Z_7 = \{1\}\}^3, \bar{f}^{(q)}(Z) = (x_{Ace}^*, x_{Ace}^*, x_{Ace}^*)$$

Avec la fonction \bar{f} utilisée, la plus petite valeur pour un tel p (nombre d'itérations minimales pour atteindre le point fixe) est de 35.

A l'itération numéro 28, il n'y a déjà plus d'occurrence de ∇ , c'est-à-dire que toutes les variables ont une valeur connue. Le système a alors besoin de 7 itérations supplémentaires pour atteindre le point fixe.

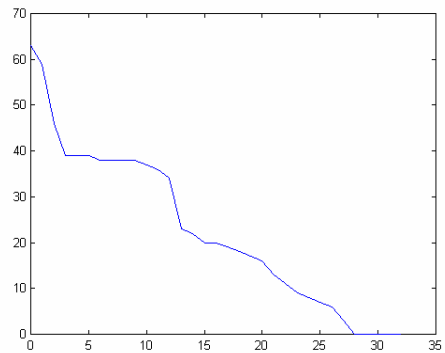


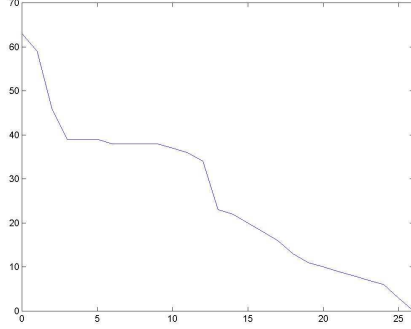
Figure A.11. Occurrence du symbole ∇ en fonction du nombre d'itérations.

(Graphe de la fonction $t \rightarrow Occ(\nabla, x(t))$).

Comportement lorsqu'il n'y a pas de source de carbone

On démontre également la convergence vers le point fixe x_{Abs}^* .

$$\forall q \geq 26, \forall Z \in \{Z \in \Omega / Z_{35} = \{0\}, Z_{36} = \{0\}, Z_7 = \{0\}\}^3, \bar{f}^{(q)}(Z) = (x_{Abs}^*, x_{Abs}^*, x_{Abs}^*).$$



Les graphes d'évolution en présence d'acétate et en absence de carbone sont très ressemblants.

Figure A.12. Occurrence du symbole ∇ en fonction du nombre d'itérations.

Conclusion globale pour *E. coli*

La fonction \bar{f} avec la partition :

$$\begin{aligned} n_{61} &= 2, \Omega^{61} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, n_{54} = 2, \Omega^{54} = \{0, 1, 2\} \times \{3\} \\ n_{53} &= 2, \Omega^{53} = \{-1\} \times \{1\}, n_{52} = 2, \Omega^{52} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, \\ n_{50} &= 2, \Omega^{50} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\}, n_{47} = 2, \Omega^{47} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\} \\ n_{45} &= 2, \Omega^{45} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, n_{44} = 2, \Omega^{44} = \{-1\} \times \{1\}, \\ n_{36} &= 2, \Omega^{36} = \{0, 3\}, n_{35} = 2, \Omega^{35} = \{0, 2\} \\ n_{31} &= 2, \Omega^{31} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\}, n_{22} = 2, \Omega^{22} = \{-2, -1, 0\} \times \{-3\} \\ n_{20} &= 2, \Omega^{20} = \{0, 1, 2\} \times \{3\}, n_{19} = 2, \Omega^{19} = \{0, 1, 2\} \times \{3\} \\ n_7 &= 2, \Omega^7 = \{0, 1\} \end{aligned}$$

est suffisamment détaillée.

Nous avons ainsi démontré ce que nous nous étions proposé :

$$\exists p \in \mathbb{N},$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_{35}(0) = 3\}, f^{(p)}(x_0) = f^{(p+1)}(x(0)) = x_{Glu}^*$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_{35}(0) = 0, x_{36}(0) = 2\}, f^{(p)}(x(0)) = f^{(p+1)}(x(0)) = x_{Gly}^*$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_{35}(0) = 0, x_{36}(0) = 0, x_7(0) = 1\}, f^{(p)}(x(0)) = f^{(p+1)}(x(0)) = x_{Ace}^*$$

$$\forall x_0 \in \{\Omega / x_{35}(0) = 0, x_{36}(0) = 0, x_7(0) = 0\}, f^{(p)}(x(0)) = f^{(p+1)}(x(0)) = x_{Abs}^*$$

avec $p = 35$.

Ceci montre que le modèle est satisfaisant.

A.2.3.3.3 Application au modèle de *S. cerevisiae*

Le modèle élaboré pour *S. cerevisiae* par C. Oviedo présente les mêmes caractéristiques que celui d'*E. coli*. L'étude de cette dynamique a aussi été réalisée auparavant en partant de quelques vecteurs initiaux aléatoirement choisis. L'étude complète de cette dynamique, grâce à notre méthode, a permis de démontrer les convergences pour tout choix de situation initiale, selon la composition en carbone et selon l'espèce concernée.

Cas où glucose = 0, glycérol = 4, éthanol = 2, espèce P⁺

La situation initiale comporte 59 valeurs inconnues, seules les valeurs en sources de carbone étant fixées. On montre, en 17 itérations, que la méthode détermine les valeurs de tous les composés du réseau. On atteint également, en 17 itérations, le point fixe voulu.

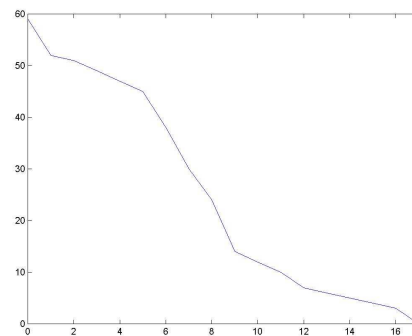


Figure A.13. Graphe de $t \rightarrow Occ(\nabla, x(t))$.

Les 5 autres cas

Dans chaque cas, on démontre la convergence voulue en un seul calcul. La démonstration la plus longue nécessite 21 itérations (Figure A.14).

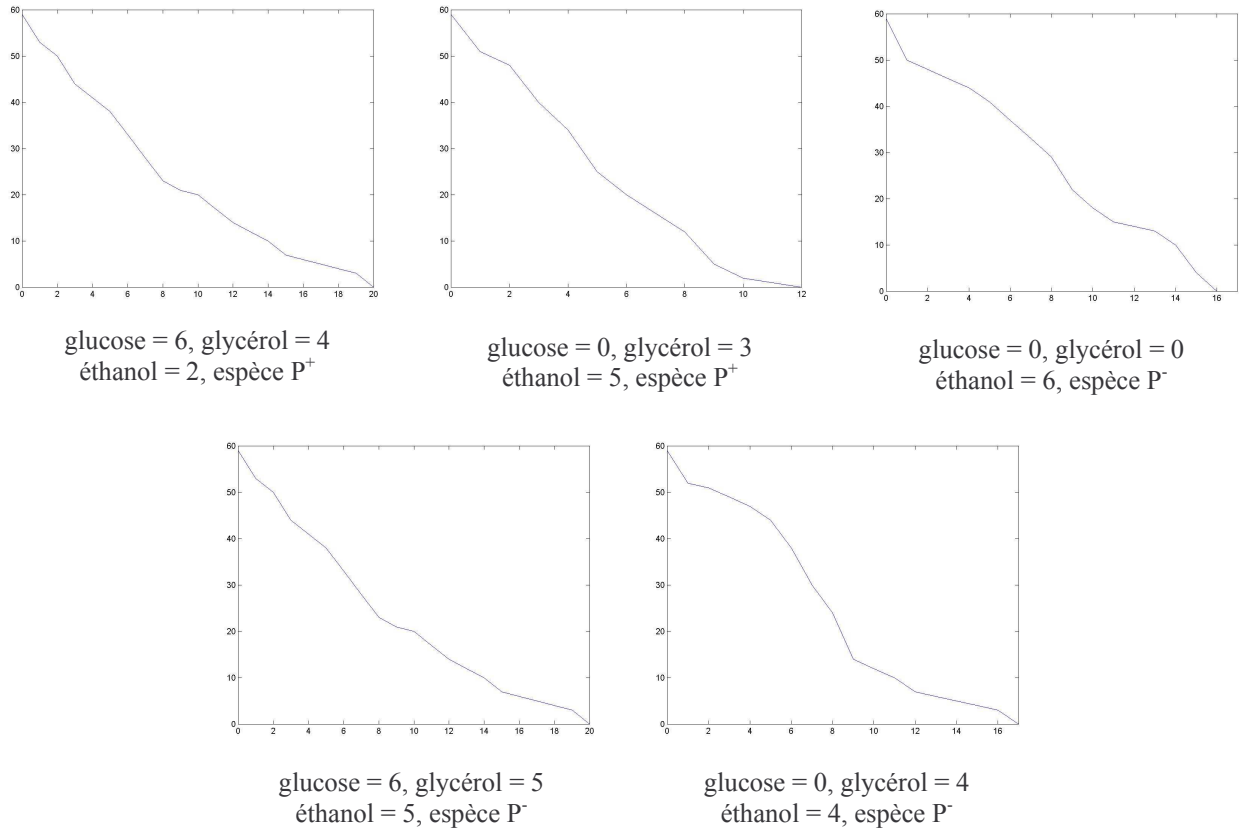


Figure A.14. Graphe de $t \rightarrow Occ(\nabla, x(t))$, pour chacun des cinq autres cas.

A.2.3.3.4 Conclusion

Cette approche par « système dynamique symbolique » permet de démontrer que les deux modèles discrets, qui couplent les réseaux métabolique et génétique, atteignent toujours les points fixes reflétant les différents phénotypes observés, quelle que soit la situation initiale. Ainsi, les perturbations éventuelles d'une partie du réseau seront toujours rectifiées pour retrouver un point fixe, ce qui caractérise le comportement stable d'organismes tels que *E. coli* et *S. cerevisiae*. Un aspect théorique important serait de s'intéresser aux caractéristiques théoriques des réseaux compatibles avec la méthode proposée. On se doute par exemple que la méthode marche d'autant mieux que le nombre d'états discrets possibles par variable est élevé.

A.2.4 Application à l'analyse des réseaux dans le cas d'*E. coli*

Cette méthode permet aussi d'analyser les régulations et les composants décisifs du réseau. Le but premier de l'étude de ce réseau est de comprendre comment l'organisme s'adapte à la composition du milieu extérieur rencontré, c'est-à-dire comment il choisit de consommer telle source plutôt que telle autre. Le travail de P. Ramirez s'est voulu exhaustif, en considérant tous les éléments du réseau cités dans la littérature : 3 sources de carbone, 20 enzymes, 28 gènes, 13 régulateurs. La régulation de certains gènes est toujours peu documentée. Pour remédier à ce manque d'information, 3 régulateurs fictifs ont été créés : Joker1, Joker2 et RepSdhC. Joker1 et Joker2 ont été introduits dans le mémoire de P. Ramirez. Ils régulent les gènes dont l'expression est inhibée ou activée en présence de glucose et (ou) de glycérol. RepresorSdhC représente un intermédiaire inconnu qui réprime SdhC et SucA en présence de glucose, son activation dépend donc de EIICBGlc (Takeda *et al.*, 1999). Joker1 régule 8 gènes, Joker2 et RepSdhC en régulent 2 chacun. L'analyse du réseau permet aussi d'évaluer l'importance de la régulation fictive dans l'évolution du système.

Si l'on s'intéresse spécifiquement au système de préférence en source de carbone d'*E. coli*, les données importantes sont celles de la valeur des flux d'entrée et de sortie de chaque source dans le réseau métabolique. Pour le glucose, il s'agit de EIIBGIC, pour le glycérol de GlpK et, pour l'acétate, d'Acka. On s'intéressera ainsi, pour chaque composition du milieu extérieur, à la trajectoire du vecteur d'état à partir des états initiaux, en vue de déterminer la valeur fixe de ces trois variables de flux, en examinant notamment les composants importants de cette détermination.

A.2.4.1 Comportement du réseau en présence de glucose

Dans ce cas, on applique la dynamique symbolique à partir d'un état initial x_0 tel que $x_{glucose}(0) = x_{35}(0)$ vaut 3, $x_{acétate}(0) = x_7(0)$ vaut 0 ou 1 et $x_{glycérol}(0) = x_{36}(0)$ vaut 0 ou 2. Les autres coordonnées initiales sont inconnues. C'est-à-dire que, $x_{35}(0) = 3$ et $\forall i \in [1, \dots, N] \setminus \{35\}$, $x_i(0) = \nabla$. La dynamique symbolique présentée précédemment permet d'étudier, pour chaque situation initiale caractérisée par une présence de glucose, le chemin commun que ces points initiaux empruntent pour atteindre le point fixe.

Première itération

A partir du x initial défini précédemment, en une itération, on atteint un état $x(1) = f(x(0))$ tel que $x_{18}(1) = 3$, $x_{39}(1) = 2$, $x_{40}(1) = 0$ (et toujours $x_{35}(1) = 3$). Ces coordonnées représentent respectivement EIICBGlc, Joker1 et Joker2. En effet, $f_{18}(x) = x_{glucose} = x_{35} = 3$. Ceci rend bien compte du fait que la présence de glucose active EIICBGlc à son niveau maximum. De plus, $f_{39}(x) = \text{sign0}(x_{35} - 0.1) + \text{sign0}(x_{35} + x_{36} - 0.1)$. Comme $x_{36}^- \geq 0$, puisque cette variable représente la concentration en glycérol, on en déduit ainsi, bien que ne connaissant pas la valeur exacte de toutes les variables, que $x_{39}(1) = 0$. De même, puisque $f_{40}(x) = \text{sign0}(x_{glycérol} - x_{glucose} - 0.1)$ et $x_{36}^+ \leq 2$, on peut conclure que $x_{40}(1) = 0$. $x(1)$ contient ainsi l'information la plus précise sur l'état du système après une itération. La présence du glucose active donc, dans un premier temps, les régulateurs Joker1 et Joker2, ainsi que la protéine de détection de glucose EIICBGlc.

Une propriété importante de ce système en glucose est que, lorsqu'une des coordonnées atteint une valeur connue, celle-ci ne varie plus au cours des itérations. On peut donc, à partir d'un vecteur initial où seule sa 35ème coordonnée est connue, atteindre, en une itération, un vecteur où 4 de ses coordonnées sont connues définitivement.

Itération 2

On obtient $x(2) = f(x(1))$, avec une détermination de nouvelles valeurs : 0 correspondant à EIIAGlc, Glpk et Pgi. $f_{17}(x) = \text{sign0}(x_{18} - 0.1)$. EIIAGlc s'active donc en présence de EIICBGlc. De plus, $f_{32}(x) = \text{Max}(x_{36}, 0) \text{sign0}(2 - x_{19}) \text{sign0}(2 - x_{18})$ et, comme le troisième terme du produit est nul par inhibition de EIICBGlc, ceci annule la valeur de x_{GplK} . Cette mise en équations propose donc que l'inhibition de EIICBGlc est suffisamment importante pour empêcher l'utilisation du glycérol, quelque soit la valeur des autres termes d'interaction. Dans le but de comprendre le comportement du système de préférence, cette deuxième itération est très instructive, puisqu'elle permet déjà de savoir pourquoi le glycérol n'est pas utilisé en présence de glucose. La fonction $f_{50}(x) = \text{MaxFlux}(x_{18}, \text{Min}(x_{PfkA}, 0))$ renvoie 3 ici, puisque $x_{18}(1) = 3$ et qu'il s'agit de la valeur maximale que peut renvoyer la fonction MaxFlux . Ceci détermine que la valeur de

x_{Pgi} est 3 à l'itération 2. Cette valeur marque le début de la glycolyse : le flux s'oriente de manière importante (niveau 3) dans le sens de la consommation de glucose.

Itération 3

La valeur de Pgi, fixée à 3, détermine à 3 la valeur de F6P pour poursuivre la glycolyse, puisque : $x_{F6P} = \text{Max}(x_{Pgi}, -x_{PfkA})$. De même, le flux suivant de la glycolyse, celui de la PfkA, est activé à 3, $x_{PfkA} = \text{MaxFlux}(\text{Max}(x_{Pgi}, 0), \text{Min}(x_{Fba}, 0))$.

Itérations suivantes

De cette manière, la présence de glucose détermine successivement, de proche en proche, la valeur des composants jusqu'à atteindre le point fixe en glucose. Le schéma de la Figure A.15 résume les déterminations successives des valeurs de flux au cours des itérations.

Dans le cas du régime en glucose, 9 itérations sont suffisantes pour déterminer cette partie du système de préférence, c'est-à-dire qu'en présence de glucose, le glycérol et l'acétate ne sont pas utilisés (ceci est caractérisé par $x_{GplK} = 0$ et $x_{AckA} = 3$). Evidemment, le glucose est consommé ($x_{EIICBGlc} = 3$). Le régime d'équilibre qui s'établit est un flux de production d'acétate, depuis le glucose jusqu'au AcCOA, et une absence de flux en glycérol. Ce système en glucose ne nécessite l'intervention que de 9 enzymes et d'1 régulateur.

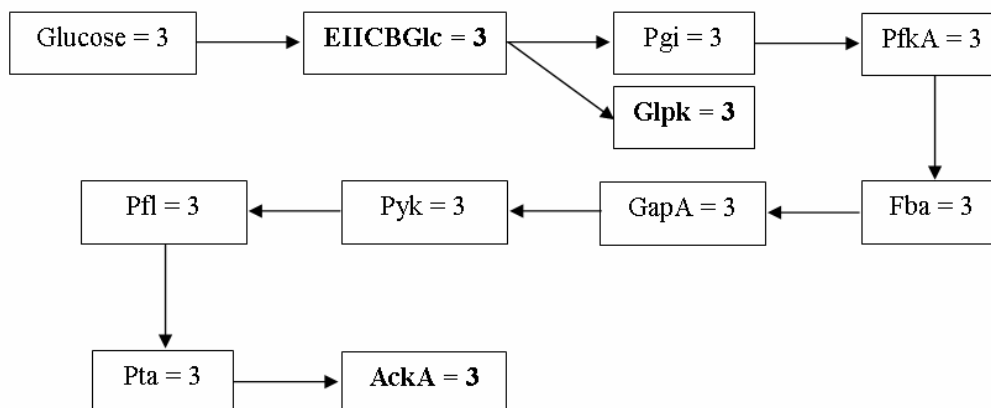


Figure A.15. Détermination successive des flux d'entrée/sortie des sources de carbone en glucose. Une flèche qui pointe vers un composant B, à partir d'un composant A, signifie que la donnée de A est nécessaire à la détermination de la valeur de B.

A.2.4.3 Comportement en glycérol en l'absence de glucose

Comme étudié précédemment, les chemins pour atteindre le point fixe en glycérol sont nombreux et, pour cette raison, on ne les détaillera pas ici. On pourrait écrire le chemin commun à partir d'un point de norme inférieure ou égale à 2.

A.2.4.4 Réduction du réseau

Dans le cas général, sans faire d'hypothèses sur la composition du milieu extérieur, on peut analyser les relations entre les composants du réseau. On détermine, pour cela, l'ensemble des composants déterminant le sous-ensemble {Acka, EIICBGlc, GplK}. On peut construire un graphe, où les noeuds sont les composants et les flèches qui partent d'un noeud i vers un autre noeud j indiquent que le composant i est régulé par le composant j . On obtient ainsi un sous-réseau isolé de 45 noeuds et 66 interactions. Le graphe initial possédait 67 noeuds et 104 interactions. Le sous-réseau est isolé, car l'ensemble de tous les régulateurs de chaque noeud se trouve dans le sous-réseau. Il n'y a pas de régulations extérieures. Ceci montre que 22 éléments du réseau d'origine n'interviennent pas pour la détermination du système de préférence. Ce sous-graphe est suffisant pour déterminer l'utilisation des sources de carbone.

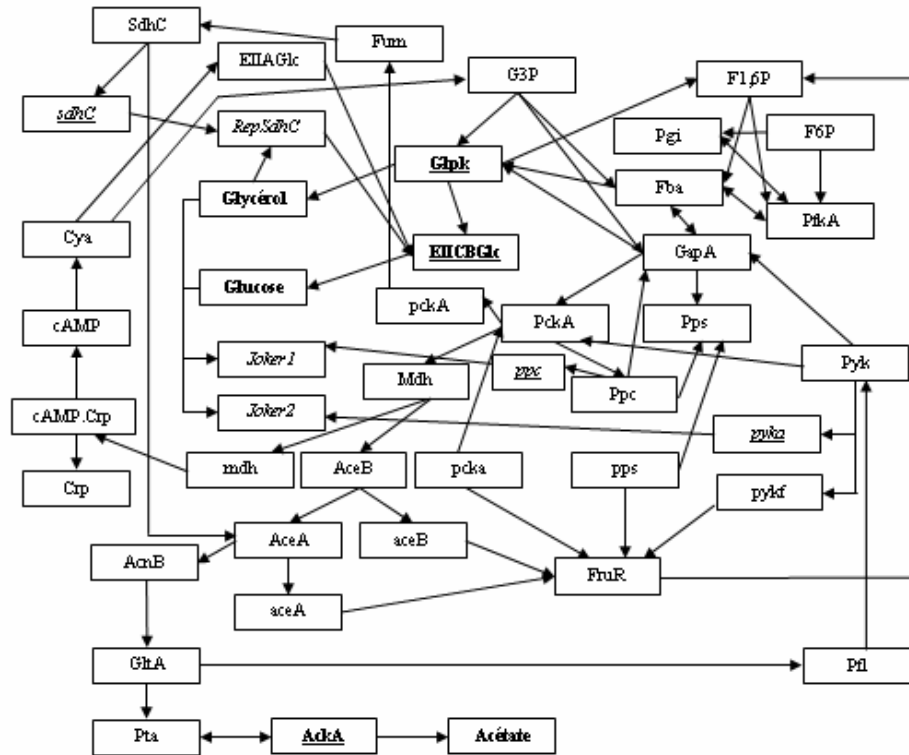


Figure A.17. Réseau réduit pour la détermination de {AckA, EIICBGlc, GplK}. Les sources de carbone apparaissent en gras, les régulateurs fictifs en italique. Les gènes directement régulés par les régulateurs fictifs sont en italique souligné et les commandes d'entrée des sources dans les voies métaboliques sont en gras souligné.

Cette analyse permet aussi d'évaluer l'importance de la régulation fictive au sein du réseau. L'approche employée par P. Ramirez, consistant à considérer tous les gènes de la littérature, faisait croire à une importance élevée de la régulation fictive, puisqu'au total, elle concernait 12 gènes. On remarque ici que, dans le sous-réseau, chacun des trois régulateurs fictifs ne régule qu'un gène. Joker1 régule ppc, Joker2 régule pyka et RepSdhC régule sdhC.

La Table 4 décrit les valeurs atteintes par les composés, selon les cas :

	Joker1	Joker2	RepSdhC	ppc	pyka	Sdhc
glucose	2	0	2	1	-1	-1
glycérol	1	1	1	1	1	-1
acétate	0	0	0	-1	-1	1

Table 4. Valeur des régulateurs fictifs et de leurs gènes régulés, selon la composition du milieu extérieur.

L'importance de la régulation fictive dans la détermination du choix de substrat apparaît finalement peu importante, puisque seuls trois gènes sont concernés. Ceci montre qu'il faudrait rechercher les acteurs de la régulation de ces gènes, pour pouvoir construire un modèle sans régulation fictive. Parmi ces gènes, on sait, grâce à l'étude de Takeda, que *sdhC* est réprimé par l'activation de *EIICBGlc* (Takeda *et al.*, 1999). *RepresorSdhC* représente simplement l'intermédiaire de cette répression. On remarque, de plus, que *RepresorSdhC* est modélisé selon trois états possibles, alors que son résultat est booléen (activation ou inhibition du gène). Il en est de même pour *Joker1*. Cette modélisation en trois états était nécessaire, car, parmi les autres gènes affectés par ces régulateurs, d'autres réagissaient différemment selon les niveaux du répresseur. Le modèle, une fois réduit, montre que, pour une détermination du choix de substrat, les régulateurs fictifs doivent simplement présenter deux états (actif ou inactif), ce qui restreint encore leur importance.

A.3 Vers un modèle continu quantitatif pour *E. Coli*

Nous détaillons, dans cette partie, comment approcher un modèle continu quantitatif, intégrant les interactions métaboliques et génétiques, pour *E. coli*, à partir de l'approche discrète.

A.3.1 Premier modèle, comme généralisation du modèle discret

A.3.1.1 Construction du modèle

Le modèle de P. Ramirez est écrit selon un formalisme discret permettant de représenter les principales caractéristiques du fonctionnement d'*E. coli*, selon les sources de carbone utilisées. Un des intérêts de la modélisation du fonctionnement d'un organisme est non seulement de comprendre les états d'équilibre qu'il atteint, mais aussi de pouvoir décrire plus précisément les phases de transition entre les états discrets, à l'aide d'un modèle continu. Dans cette première approche, nous utilisons une transformation formelle permettant le passage du modèle discret à un modèle continu.

La dynamique discrète du modèle de P. Ramirez est décrite par :

$$\begin{cases} x(0) \\ x(t+1) = f(x(t)) \end{cases}$$

où x est le vecteur d'état du système, qui comporte 67 composantes, $x(0)$ est la situation initiale et f la fonction de transition globale du système. En d'autres termes, la dynamique est décrite par 67 équations locales du type $x_i(t+1) = f_i(x(t))$. On transforme l'expression en retranchant la quantité $x_i(t)$ de deux côtés de l'égalité, ce qui permet de faire apparaître le taux de variation discret à gauche. Ce taux s'assimile à la dérivée classique en continu. Du côté droit, on multiplie chaque terme par une constante de temps spécifique pour pouvoir différencier l'action dans le temps de ces deux termes, le premier étant un terme de régulation et le deuxième pouvant être considéré comme un terme de « dilution ».

$$\underbrace{x_i(t+1) - x_i(t)}_{\substack{\text{dérivée} \\ \text{discrète}}} = f_i(x(t)) - x_i(t)$$

$$\frac{dx_i}{dt} = k_{i,1}f_i(x) - k_{i,2}x_i$$

On obtient ainsi une équation différentielle qui régit l'évolution de chaque variable x_i . Pour pouvoir refléter des phases de transition continues et régulières, telles que celles couramment observées en biologie, les fonctions f_i doivent être régulières (en général, celles utilisées dans le modèle discret ne le sont pas). Par exemple, la fonction $sign0$ définie

par $sign0(x) = \begin{cases} 1, & \text{si } x \geq 0 \\ 0, & \text{sinon} \end{cases}$ présente une discontinuité en 0. Cette fonction est une fonction

d'activation : elle permet, par exemple, d'activer à 1 une variable, lorsqu'une autre franchit un certain seuil précis. Dans la réalité, un système ne bascule pas si brutalement d'un état à l'autre. Il le fait avec une certaine inertie, avec une phase intermédiaire. C'est justement ce genre de comportement que le modèle continu doit pouvoir refléter. Cette fonction $sign0$ est de type échelon. On la remplacera par une fonction de type sigmoïde, pour avoir une approximation de l'échelon par une fonction régulière. Les fonctions sigmoïdes ont par exemple pour équation $\frac{k}{1 + e^{-dx}}$. Les fonctions sigmoïdes ont déjà souvent été utilisées comme fonction de régulation (Demongeot et Laurent, 1983).

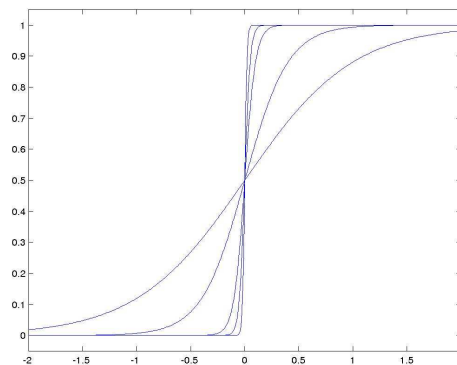


Figure A.18. Représentation de fonctions de type $\frac{1}{1 + e^{-dx}}$ avec $d = 2, 5, 20, 40, 100$.

Le paramètre k positionne la valeur des asymptotes horizontales, la fonction $\frac{k}{1 + e^{-dx}}$ atteignant les valeurs $]0, k[$. Sur le graphe, on peut apprécier le rôle du paramètre d , qui permet de régler la phase transitoire entre les valeurs 0 et k . Les valeurs faibles de d correspondent aux pentes faibles en 0. Au contraire, plus la valeur est élevée et plus la pente en 0 tend à être verticale $\left(\left(\frac{k}{1 + e^{-dx}} \right)' (0) = kd \right)$. Ainsi, chaque fonction $sign0$ du modèle discret sera remplacée par une sigmoïde. Ceci permet aussi de régler les paramètres de ces fonctions selon la régulation voulue (transition rapide, plus lente...).

La fonction $sign1$, définie par $sign1(x) = \begin{cases} 1, & \text{si } x \geq 0 \\ -1, & \text{sinon} \end{cases}$ sera remplacée par des fonctions du

type $\frac{2k}{1 + e^{-dx}} - 1$, permettant les mêmes comportements que $sign0$, mais entre -1 et 1 . Les autres fonctions, Max , Min et $MaxFlux$ sont déjà naturellement continues. Leur régularité dépend de la régularité des variables concernées.

Une des justifications de ce premier modèle est de voir s'il reproduit les comportements du modèle discret. En effet, si l'on prend le pas de temps dt égal à 1 et si l'on fixe les pentes des fonctions sigmoïdes presque verticales, on doit retrouver le comportement discret. Si l'on veut y parvenir, on doit rajouter un « shift » à la sigmoïde, pour travailler avec des fonctions $f_{k,d,\varepsilon}(x) = \frac{k}{1 + e^{-d(x+\varepsilon)}}$, qui permettent de déplacer le graphe de la fonction $\frac{1}{1 + e^{-dx}}$ vers la droite. En effet, la valeur en 0 de $sign0$ est 1, et l'on veut alors que la valeur $\frac{k}{1 + e^{-d\varepsilon}}$ atteinte par $f_{k,d,\varepsilon}(x)$ en 0 soit proche de k . Sans ce « shift », les fonctions sigmoïdes valent $k/2$ en 0, ce qui est trop loin de la valeur k pour pouvoir représenter le comportement discret.

A.3.1.2 Résultats

Retrouver les comportements discrets

Si on choisit $d = 10000$ (pentes fortes), $k = 1$ et $\varepsilon = 0.01$ pour chaque fonction $sign0$ et $sign1$ et si on prend en plus $dt = 1$ (qui est le pas de temps discret), on retrouve exactement les évolutions discrètes au fil des itérations, pour chaque composition du milieu extérieur en carbone et pour des situations initiales choisies identiques. En particulier, les points fixes atteints sont les mêmes.

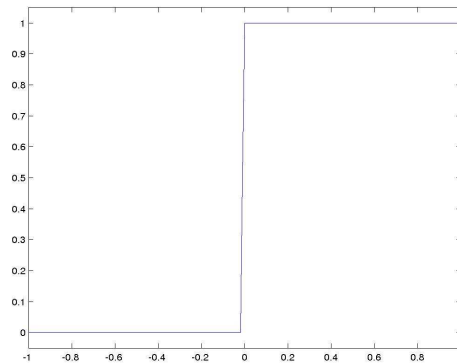


Figure A.19. Graphe de la fonction $f_{1,10000,0.01}(x) = \frac{1}{1 + e^{-10000(x+0.01)}}$.

Ce modèle permet ainsi de généraliser les comportements discrets.

Simulations avec les mêmes paramètres, mais avec : $dt = 0.5$ et $dt = 0.1$

On démarre les simulations avec une situation initiale choisie aléatoirement. On fixe ici seulement $x_{glucose} = 3$, pour se trouver dans une condition où le glucose est présent.

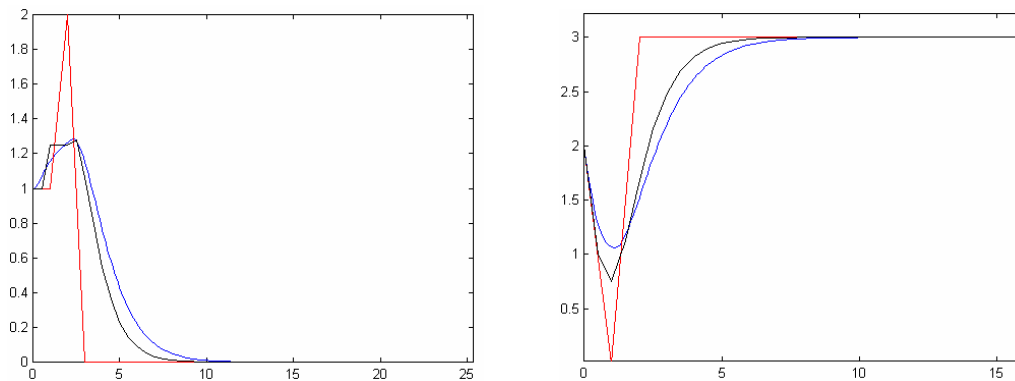


Figure A.20. Evolution des variables FruR (a) et F6P (b) selon $dt = 1$ (cas discret, en rouge), $dt = 0.5$ (en noir), $dt = 0.1$ (en bleu).

Le comportement continu avec un dt plus fin tend à rapprocher le modèle d'une évolution plus continue, plus régulière. Le système discret rend compte des variations seulement de manière brutale. Le pas de temps $dt = 0.1$ permet d'atteindre un niveau de régularité satisfaisant ; si l'on choisit une valeur plus fine, le gain en régularité est minime. D'une manière générale, on obtient toujours les bons points fixes pour les différentes situations en carbone.

Illustration de la régulation

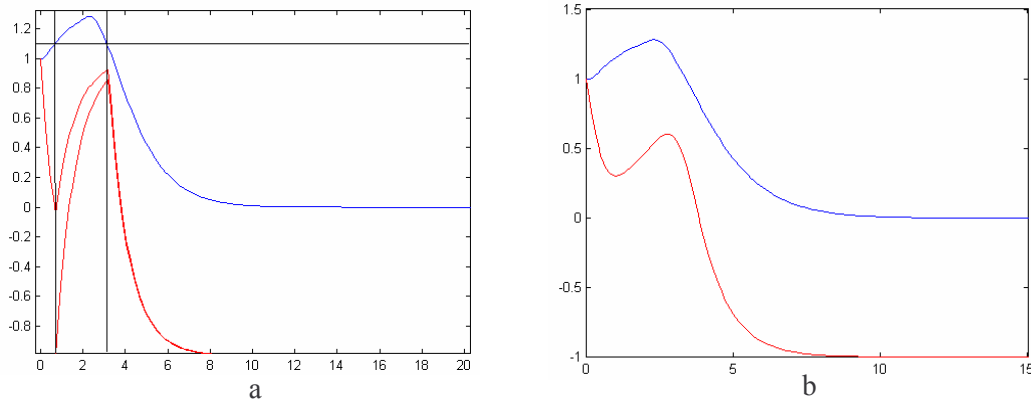


Figure A.21. Régulation des gènes aceA et aceB (en rouge) par FruR (en bleu), en (b) seul aceA est représenté. (a) $d = 10000$, (b) $d = 10$.

Dans le système discret, FruR régule les gènes aceA et aceB selon les équations :

$$x_{aceA}(t+1) = x_{aceB}(t+1) = \text{sign1}(x_{FruR}(t) - 1.1).$$

En version continue, on a :

$$\frac{dx_{aceA}}{dt} = k_{1,aceA} f_{k_{aceA}, d_{aceA}, \varepsilon_{aceA}}(x_{FruR} - 1.1) - k_{2,aceA} x_{aceA}$$

$$\frac{dx_{aceB}}{dt} = k_{1,aceB} f_{k_{aceB}, d_{aceB}, \varepsilon_{aceB}}(x_{FruR} - 1.1) - k_{2,aceB} x_{aceB}$$

On a choisi ici les mêmes paramètres pour les deux équations.

Les frontières verticales de la Figure A.21a permettent de distinguer la zone où $x_{FruR} \geq 1.1$ de celle où $x_{FruR} < 1.1$. Comme attendu, les activités de aceA et aceB réagissent (en changeant leur sens de variation), lorsque FruR franchit les limites définies par $x_{FruR} = 1.1$.

On remarque que cette régulation s'effectue brutalement, car les variations de aceA et aceB répondent de manière « raide » à la régulation de FruR. Ceci s'explique, car les pentes choisies pour les fonctions d'activations sont très élevées ($d = 10000$). La Figure A.21b

montre la régulation obtenue lorsque $d = 10$. Cette fois-ci, la réaction de aceA, selon les variations de FruR, est très régulière. Ceci montre que, même si les fonctions de contrôle utilisées sont chaque fois du même type (avec deux états stables reliés par une phase de transition), on peut obtenir toute une gamme de contrôle, selon la phase transitoire voulue, en jouant sur les paramètres :

- seuil utilisé.
- d , qui mesure la pente de la transition.
- ε , qui positionne le “shift”.
- k , qui définit le domaine de variation de la fonction d’activation.

A.3.2 Un deuxième modèle « pré-quantitatif »

Le modèle de P. Ramirez a besoin de distinguer les valeurs $-3, -2, -1, 0, 1, 2, 3$, pour pouvoir comparer l’intensité des flux et atteindre les états stables observés. Plus contraignant encore, pour certaines équations, le modèle doit comparer la valeur en glucose et celle en glycérol (pour l’équation de Joker2 par exemple). Ceci ne respecte pas la réalité biologique, puisque les phénotypes observés dépendent seulement de la présence ou de l’absence des sources de carbone et non de leurs concentrations. Ainsi, le premier modèle continu étudié précédemment, bâti directement sur le modèle discret, ne peut pas directement servir de modèle quantitatif.

On se propose ici de fixer la valeur de chaque variable entre 0 et 1 pour les valeurs positives, et entre -1 et 1 pour celles qui peuvent être négatives. Selon le composant concerné, 0 signifie une activation nulle ou une concentration nulle et 1 représente l’état maximum d’activation, de concentration ou de flux (-1 représente une inhibition maximale ou un maximum de flux dans le sens opposé). A partir d’une variable X qui varie entre 0 et 1 dans un tel modèle, on pourra intégrer la valeur réelle en manipulant une nouvelle variable $Y = X_{max}X$, où X_{max} est la concentration maximale de X . La variable Y décrit ainsi toute la gamme de variation réelle. De plus, si la dynamique de X est :

$$\frac{dX}{dt} = f(X),$$

l’équation d’évolution de Y sera donnée par :

$$\frac{dY}{dt} = \frac{d}{dt}(X_{\max} X) = X_{\max} \frac{dX}{dt} = X_{\max} f(X) = X_{\max} f\left(\frac{Y}{X_{\max}}\right)$$

Ainsi, le modèle proposé sera apte à fonctionner avec des valeurs réelles de concentration et d'activations. Un autre critère, pour tendre vers un modèle quantitatif, est d'avoir un modèle quantitatif en temps. Pour cela, il est nécessaire d'affecter au modèle des constantes de temps réelles. Ce nouveau modèle nécessite la réécriture de certaines équations de l'ancien modèle continu, sans modifier bien sûr les règles de régulation entre les composants.

A.3.2.1 Prise en compte de l'existence des sources de carbone et non de leur concentration

Les différentes sources de carbone qui interviennent sont connectées au système à travers le détecteur de glucose EIICBGlc, l'enzyme Glpk qui catalyse la réaction de consommation du glucose et l'enzyme AckA qui catalyse la réaction de production ou de consommation d'acétate. Chacun de ces composants assure la participation d'une source dans le réseau. Ce sont donc les variables $x_{EIICBGlc}$, x_{GlpK} et x_{AckA} qui doivent pouvoir « détecter », dans leur évolution, la présence ou l'absence de la source de carbone correspondante. Pour le cas de EIICBGlc, on doit écrire une équation pour $x_{EIICBGlc}$, qui lui permette d'atteindre son maximum d'activation 1 lorsque $x_{glucose} > 0$. Nous utilisons, pour ce faire, des fonctions de type Monod (ou de Michaelis-Menten), courantes en biologie, de la forme : $M_{c_1, c_2}(x) = \frac{c_1 x}{c_2 + x}$. Cette fonction a la caractéristique d'être presque toujours égale à c_1 , si la valeur de c_2 est faible (si $x \gg c_2$, $x + c_2 \simeq x$, $M(x) \simeq c_1$). De manière plus général, dans le cas d'enzymes allostériques (comme la Pfk), on pourrait utiliser des fonctions de type Monod-Wyman-Changeux, qui intègrent naturellement l'effet des régulateurs (ou effecteurs) de type inhibiteurs ou activateurs (Goldbeter et Lefèvre, 1972 ; Demongeot et Seydoux, 1979). De telles fonctions, ajoutées à des fonctions de type Michaelis-Menten compétitif permettraient l'utilisation du formalisme des forces de contrôle nécessaire pour quantifier l'effet des régulateurs sur le contrôle des voies métaboliques, qui n'est ici étudié que qualitativement (Kacser et Bruns, 1973 ; Baconnier *et al.*, 1993).

Equation pour EIICBGlc

Pour l'équation d'évolution de EIICBGlc, on peut utiliser :

$$\frac{d}{dt} x_{EIICBGlc} = k_{EIICBGlc}^1 \frac{c_{EIICBGlc}^1 x_{glucose}}{c_{EIICBGlc}^2 + x_{glucose}} - k_{EIICBGlc}^2 x_{EIICBGlc}$$

où les k sont les constantes de temps.

Ceci respecte la régulation décrite pour EIICBGlc : « EIICBGlc est activée quand elle est déphosphorylée, ce qui intervient lorsqu'il existe du glucose dans le milieu externe ».

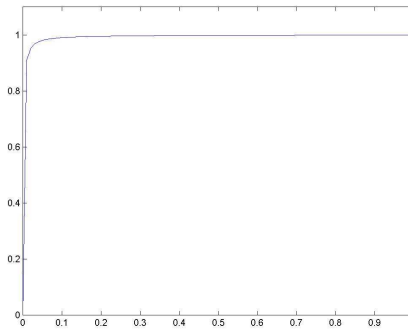
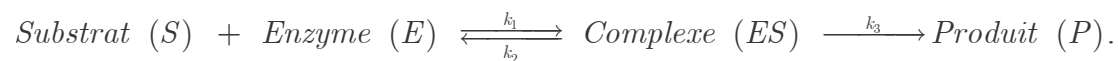


Figure A.22. Représentation du graphe de la fonction : $\frac{x}{0.0001 + x}$.

Equation pour Glpk et AckA

On utilise des équations similaires pour Glpk et AckA. Glpk et AckA catalysent des réactions de type Substrat \rightarrow Produit que l'on peut décomposer en :



Pour ces mécanismes de type Michaelis-Menten, on obtient que le flux de production du

produit est de la forme : $\frac{dP}{dt} = \frac{c_1}{1 + \frac{c_2}{S}}$.

Ce résultat nécessite une des deux hypothèses suivantes :

- Approximation de l'équilibre : l'équilibre entre substrat, enzyme et complexe est plus rapide que la réaction complexe/produit
- Approximation d'état stationnaire : la concentration en substrat est grande devant celle de l'enzyme et du complexe, ce qui permet alors de supposer que les variations de la concentration en enzyme et en complexe sont faibles devant celles en substrat. On suppose

$$\text{alors } \frac{dE}{dt} = \frac{dES}{dt} \approx 0$$

L'équation discrète de Glpk était :

$x_{GlpK} = \text{Max}(x_{\text{Glycérol}}, 0) \text{sign}0(2 - x_{F1,6P}) \text{sign}0(2 - x_{\text{EIICBGlc}})$, sa spécification étant que :
« Glpk a un flux unidirectionnel et s'active seulement lorsqu'il existe du glycérol dans le milieu extérieur. Il est inhibé si le niveau de F1,6P est haut et si EIICBGlc est actif ».

On utilise donc une équation continue du type :

$$\frac{d}{dt} x_{Glpk} = k_{Glpk}^1 \frac{c_{Glpk}^1 x_{\text{glycérol}}}{c_{Glpk}^2 + x_{\text{glycérol}}} f_{k,d,\varepsilon} (1 - x_{F1,6P}) f_{k,d,\varepsilon} (1 - x_{\text{EIICBGlc}}) - k_{Glpk}^2 x_{Glpk}$$

La fonction de Monod détecte le glycérol et les fonctions d'activation détectent les inhibitions possibles. Dans l'expressions des fonctions f , les indices k , d et ε devraient être indexés par Glpk, puisque le profil de la fonction peut être adapté selon chaque régulation. On omet cette indexation, ici et dans la suite, pour alléger les notations.

Pour AckA, nous avons : $x_{\text{AckA}} = \text{MaxFlux}(\text{Max}(x_{\text{Pta}}, 0), \text{Min}(-x_{\text{Acetate}}, 0))$, ce qui reflète : « le flux de AckA est bidirectionnel et dépend donc du flux de Pta et de la présence d'acétate dans le milieu ». La version continue est

$$\frac{d}{dt} x_{\text{Acka}} = k_{\text{Acka}}^1 \text{MaxFlux} \left(\text{Max}(x_{\text{Pta}}, 0), -\frac{c_{\text{Acka}}^1 x_{\text{Acka}}}{c_{\text{Acka}}^2 + x_{\text{Acka}}} \right) - k_{\text{Acka}}^2 x_{\text{Acka}}$$

De plus, pour que le modèle reflète la réalité au niveau des flux, c'est-à-dire : flux fort en glucose, moyen en glycérol et faible en acétate, on doit comparer les intensités de flux entre EIICBGlc, Glpk et Acka. On fixe ainsi la valeur seuil de EIICBGlc à la valeur maximale $c_{\text{EIICBGlc}}^1 = 1$, tandis que Glpk pourra $c_{\text{Glpk}}^1 = \frac{2}{3}$ et la partie du flux en AckA activée par l'acétate pourra atteindre $c_{\text{Acka}}^1 = \frac{1}{3}$. Il s'agit de la seule quantification nécessaire pour atteindre les comportements voulus, ces valeurs se propageant ensuite « naturellement » dans les flux internes.

A.3.2.2 Autres changements

Plusieurs autres équations demandent une adaptation, pour être compatibles avec une variation entre 0 et 1 des variables.

Equation pour Joker2

L'équation de Joker2 était en discret : $x_{Joker2} = \text{sign0}(x_{\text{glycérol}} - x_{\text{glucose}} - 0.1)$, pour traduire que : « Joker2 ($x_{Joker2} \in \{0,1\}$) s'active ($x_{Joker2} = 1$), lorsqu'il existe seulement du glycérol dans le milieu et qu'il est inactif ($x_{Joker2} = 0$), dans les autres cas ».

Dans le nouveau formalisme, le glycérol et glucose prennent des valeurs indépendantes entre 0 et 1 et on ne peut plus tester l'absence de glucose par une soustraction entre la concentration de glucose et celle de glycérol. On utilisera ici deux fonctions d'activation permettant de détecter individuellement le glucose et le glycérol.

L'équation discrète étant : $x_{Joker2} = \text{sign0}(-(x_{\text{Glucose}} - 0.05)(x_{\text{Glycérol}} - 0.05))$, la forme continue de cette nouvelle équation sera :

$$\frac{dx_{Joker2}}{dt} = k_{Joker2}^1 f_{k,d,\varepsilon}(-x_{\text{glucose}} + 0.05) f_{k,d,\varepsilon}(x_{\text{glycérol}} - 0.05) - k_{Joker2}^2 x_{Joker2}$$

La première fonction s'active s'il n'y a pas de glucose, la deuxième s'il y a du glycérol. Pour toutes les autres combinaisons, x_{Joker2} est inactif.

Equation pour Joker 1

Son équation discrète était : $x_{Joker1} = \text{sign0}(x_{\text{Glucose}} - 0.1) + \text{sign0}(x_{\text{Glucose}} + x_{\text{Glycérol}} - 0.1)$ pour modéliser la régulation suivante :

« Joker1 ($x_{Joker1} \in \{0,1,2\}$) atteint son niveau maximum d'activité ($x_{Joker1} = 2$) quand le glucose est présent. Il atteint un niveau intermédiaire quand le glycérol est présent ($x_{Joker1} = 1$) et il est inactif ($x_{Joker1} = 0$) quand, ni le glucose, ni le glycérol sont présents. »

On remplace l'équation discrète par la version continue de :

$$x_{Joker1} = \frac{1}{2} \left(\text{sign0}(x_{\text{glucose}} - 0.05) + \text{sign0}(x_{\text{glucose}} + x_{\text{glycérol}} - 0.05) \right).$$

La Figure A.23 représente un contrôle régulier possible du glucose et du glycérol sur Joker1.

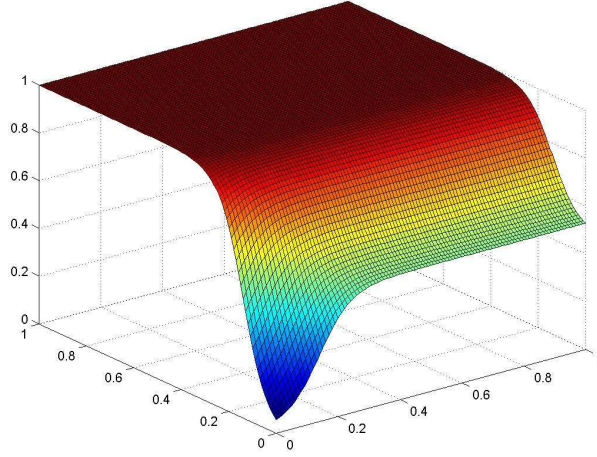


Figure A.23. Graphe de $\frac{1}{2}(f_{1,20,0,01}(x - 0.15) + f_{1,20,0,01}(x + y - 0.15))$.

Equation de RepresorSdhC

On avait : $x_{RepSdhC} = sign0(x_{EIICBGlc} - 0.1) + sign0(x_{EIICBGlc} + x_{glycérol} - 0.1)$ pour « RepresorSdhC ($x_{RepSdhC} \in \{0,1,2\}$) dépend de EIICBGlc et de la présence de glycérol.

RepresorSdhC atteint un niveau maximum d'activation ($x_{RepSdhC} = 2$), lorsque EIICBGlc est actif. Il atteint un niveau intermédiaire ($x_{RepSdhC} = 1$), lorsqu'il existe du glycérol dans le milieu et que EIICBGlc est actif ». On remplace l'équation discrète par la version continue de

$$: x_{RepSdhC} = \frac{1}{2}(sign0(x_{EIICBGlc} - 0.1) + sign0(x_{EIICBGlc} + x_{glycérol} - 0.1)).$$

Equation pour Cya

On avait : $x_{Cya} = (1 - x_{EIIAGlc})(1 + sign0(1 - x_{G3P}))$ pour la spécification « Cya ($x_{Cya} \in \{0,1,2\}$) atteint un niveau maximum d'activation ($x_{Cya} = 2$), quand EIIAGlc est phosphorylé et G3P est à basse concentration ($x_{G3P} = 0$ ou 1). Cya s'active partiellement ($x_{Cya} = 1$), quand EIIAGlc est phosphorylé et G3P est présent en concentration élevée ($x_{G3P} = 2$ ou 3). Cya est inactif ($x_{Cya} = 0$), lorsque EIIAGlc est dephosphorylée ». On utilisera donc la version continue de :

$$x_{Cya} = (1 - x_{EIIAGlc})\left(\frac{1}{2} + \frac{1}{2}sign0\left(\frac{1}{3} - x_{G3P}\right)\right).$$

La liste des changements n'est pas exhaustive, mais présente les principales modifications.

A.3.2.3 Nouveaux points fixes atteints

Dans cette nouvelle formalisation, un état d'activation élevé sera 1, 0.5 représentera un état intermédiaire et 0 l'état non-activé. Les simulations montrent que les points fixes atteints par ce modèle sont les correspondants des anciens points fixes.

La Table 5 montre quelques valeurs de l'état stable atteint en présence de glucose. Le nouveau point fixe reflète la même situation que l'ancien. La ligne de la variable 52, par exemple, montre que l'enzyme Ppc atteint la valeur 0.9996, c'est à dire un flux maximum, qui, avant, était représenté par la valeur 3.

Variables	Nom	Nouveau point fixe	Ancien point fixe	Ancien domaine de variation	
8	<i>ackA</i>	1.0000	1	-1	1
9	AckA	0.9996	3	-1	3
10	<i>acnB</i>	-1.0000	-1	-1	1
11	AcnB	0.9996	3	0	3
16	Cya	0.0000	0	0	2
20	F6P	0.9996	3	0	3
21	<i>fba</i>	1.0000	1	-1	1
37	IcdA	0.9996	3	0	3
38	ICT	0.9996	3	0	3
52	Ppc	0.9996	3	0	3
53	<i>pps</i>	-1.0000	-1	-1	1
54	Pps	0.0000	0	0	3
63	RepSdhC	1.0000	2	0	2

Table 5. Quelques valeurs de l'état stable obtenu en présence de glucose.

La Table 6 représente la situation en glycérol. Pta atteint la valeur d'équilibre $\frac{2}{3}$. Avant, il atteignait 2 sur une échelle de -1 à 3. On représente donc toujours bien des flux intermédiaires cohérents. De même, Joker1 vaut 0.5, alors qu'il valait 1 entre 0 et 2 précédemment.

On obtient des conclusions similaires lorsque seul l'acétate est présent. Ce nouveau modèle permet donc de retrouver les bonnes situations, en considérant les variables évoluant entre 0 et 1 ou -1 et 1 et en intégrant les équations de détection des sources de carbone.

Variables	Nom	Nouveau point fixe	Ancien point fixe	Ancien domaine de variation	
9	AckA	0.6663	2	-1	3
10	<i>acnB</i>	-1.0000	-1	-1	1
11	AcnB	0.6663	2	0	3
12	cAMP	0.5000	1	0	2
13	cAMP.Crp	0.5000	1	0	2
22	Fba	-0.6663	-2	-3	3
23	<i>fbp</i>	-1.0000	-1	-1	1
24	FruR	0.5005	1	0	2
25	<i>fuma</i>	1.0000	1	-1	1
34	GltA	0.6663	2	0	3
56	Pta	0.6663	2	-1	3
61	Pyk	0.6663	2	0	3
62	<i>pykF</i>	1.0000	1	-1	1
63	RepSdhC	0.5000	1	0	2

Table 6. Valeurs en glycérol avec absence de glucose.

A.3.3 Connexions avec un modèle de production/consommation des sources de carbone

Les modèles développés jusqu'à présent s'intéressent à la dynamique d'*E. coli* dans un champ de carbone considéré constant. Cette nouvelle modification du modèle a pour but de prendre en compte le fait que les sources de carbone sont consommées ou produites par *E. coli*. Pour réaliser cette généralisation, il est nécessaire de réécrire les équations différentielles régissant les variables $x_{glucose}$, $x_{glycérol}$ et $x_{acétate}$, qui représentent les concentrations des trois sources de carbone étudiées.

A.3.3.1 Formulation

Les évolutions continues de ces variables étaient données par $\frac{dx_{source}}{dt} = 0$, puisqu'on ne considérait pas de variation possible en concentration. Si l'on considère maintenant le rôle de la consommation et de la production des sources, les équations s'écrivent : $\frac{dx_{source}}{dt} = flux$.

Ce flux dépend de l'activité de l'enzyme responsable de la réaction qui connecte les sources au reste du réseau métabolique. EIICBGlc régule l'entrée du glucose. Le flux de glucose sera pris proportionnel à l'activité de EIICBGlc. Si EIICBGlc est très active, cela entraîne une consommation rapide de glucose. Si EIICBGlc est inactive, le glucose ne se consomme pas. Ce flux est aussi pris proportionnel à la concentration en glucose.

Le nouveau système d'équations pour les sources de carbone est :

$$\begin{cases} \frac{dx_{glucose}}{dt} = -k_{glucose}x_{glucose}x_{EIICBGlc} \\ \frac{dx_{glycérol}}{dt} = -k_{glycérol}x_{glycérol}x_{Glpk} \\ \frac{dx_{acétate}}{dt} = k_{acétate}x_{acétate}x_{Acka} \end{cases}$$

A.3.3.2 Résultats

La Figure A.24 présente les résultats d'évolution des concentrations des sources de carbone pour $k_{glucose} = 0.01$, $k_{glycérol} = 0.01$, $k_{acétate} = 0.003$ et pour une situation initiale aléatoire.

Ce changement dans les équations permet de simuler les différentes phases de croissance, en fonction de l'utilisation des sources de carbone. Dans un premier temps, *E. coli* utilise le glucose et produit de l'acétate, le glycérol restant à un niveau constant. Une fois que *E. coli* a consommé tout le glucose, selon le système de préférence, il utilise le glycérol. L'acétate est toujours produit pendant cette phase. Il n'est utilisé que lorsque le glycérol est entièrement consommé. La Figure A.24d montre la réponse de FruR selon les phases. FruR atteint trois paliers, correspondant à sa valeur pour chacun des trois points fixes. Ceci suggère que le système passe par trois situations d'équilibre caractérisées par les trois points fixes, ces

états étant reliés par des phases transitoires. Ces simulations correspondent à certaines courbes expérimentales, comme celles de R. Gonzalez (Gonzalez *et al.*, 2003) pour la levure.

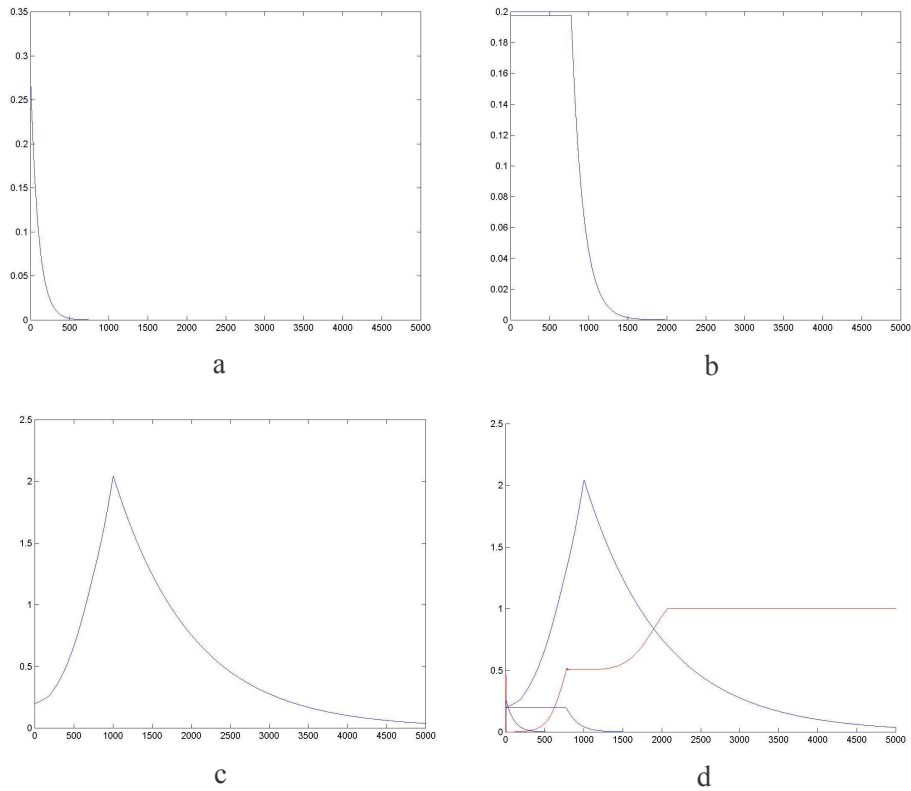


Figure A.24. Système de production – consommation.

- (a) Evolution dans le temps du glucose
- (b) Evolution du glycérol
- (c) Evolution de l'acétate
- (d) Evolution comparée dans trois sources avec, en plus, la réponse de FruR.

A.4 Conclusion et perspectives

Ce travail présenté en annexe est nettement éloigné des propos du reste de cette thèse, en particulier puisqu'il se situe au niveau génétique et métabolique. Cependant, ce niveau de description serait nécessaire pour améliorer les modèles cellulaires présentés dans les parties précédentes. Nous avons effectivement souligné l'importance du métabolisme de l'auxine dans la croissance radiale. De nombreux travaux portent d'ailleurs sur ce thème, ainsi que sur l'identification des gènes qui interviennent dans le transport de l'auxine, son métabolisme, etc... Comme déjà précisé, nos modèles multicellulaires pourraient intégrer un tel niveau de description afin de rassembler les aspects tissulaires, cellulaires, métaboliques et génétiques. De la même façon, pour l'invagination, le système cellulaire devrait intégrer les facteurs génétiques et métaboliques de contrôle de l'actine. Cette intégration nécessite, par contre, une description spatiale des interactions, puisque les répartitions spatiales d'auxine ou d'actine sont primordiales pour le développement.

Les réseaux métaboliques et génétiques sont particulièrement complexes. Ils comportent un nombre important de composants fortement interconnectés. L'analyse du fonctionnement des réseaux nécessite ainsi, *a priori*, la prise en compte des systèmes dans leur intégralité. C'est pourquoi l'étude de cette annexe est appliquée aux deux organismes simples que sont *Escherichia coli* et *Saccharomyces cerevisiae*. Les réseaux métabolique et génétique de ces deux microorganismes ont été largement étudiés, ce qui permet d'envisager leur intégration. Ce travail d'assemblage des deux réseaux a été réalisé par P. Ramirez pour *E. coli* et par C. Oviedo pour *S. cerevisiae* (Ramirez, 2003 ; Ramirez *et al.*, soumis ; Oviedo, 2004) au sein du laboratoire CIBYB. La méthode est la même : les interactions référencées pour les organismes ont été traduites en règles d'évolution discrète au sein d'un système dynamique discret.

L'application précise de ces travaux est la modélisation du comportement des microorganismes selon la composition du milieu extérieur en carbone. Il a été en effet observé expérimentalement que ces organismes établissent une préférence entre les sources. Le glucose est toujours choisi prioritairement, puis le glycérol. Pour *E. coli*, le cas où seul l'acétate est présent a été pris en compte et pour *S. cerevisiae* la troisième source était l'éthanol. La troisième source est toujours la moins prioritaire. Les organismes détectent alors

la présence ou l'absence des différents substrats et métabolisent le substrat choisi. La métabolisation de chaque source de carbone utilise un certain chemin métabolique et une certaine configuration d'activation-inhibition des gènes associés.

Les simulations informatiques ont montré que le système dynamique discret converge vers les bonnes configurations selon la composition du milieu extérieur, représentée par la valeur des variables associées aux sources de carbone. Ces simulations ont été réalisées pour un certain nombre de situations initiales choisies aléatoirement pour chaque composition du milieu. La validation complète du système nécessite la vérification de ces convergences pour toutes les situations initiales possibles. Cette vérification est impossible à effectuer directement du fait du nombre gigantesque de situations à tester. La première partie de notre travail a consisté à développer une méthode pour démontrer ces convergences. Cette méthode, de type « système dynamique symbolique », cherche à maximiser le nombre de vérifications par calcul. Elle prend en compte la dynamique des bornes de variations des variables, conjointement à la dynamique des variables. Pour les deux organismes, la méthode démontre toutes les convergences voulues. Elle permet également d'étudier les différents chemins de convergences et d'analyser ainsi les composants importants des réseaux. Une perspective intéressante serait d'étudier la réutilisation de cette méthode pour d'autres systèmes dynamiques discrets. Plus précisément, il serait bon de caractériser les propriétés des réseaux pouvant s'analyser facilement à l'aide de cet outil.

Une autre partie du travail a été la construction progressive d'un modèle continu, dans le cas d'*E. coli*, pour généraliser les comportements discrets, en intégrant les phases transitoires. Une première étape a consisté en l'élaboration d'un système d'équations différentielles ordinaires directement issu du système discret. Nous avons ensuite pu construire, à partir de ce premier modèle continu, un système adapté à l'intégration de valeurs réelles quantitatives, en normalisant chaque variable entre 0 et 1 ou entre -1 et 1. Les variables représentent alors un « pourcentage » d'intensité de flux, d'expression de gène, ... Nous avons aussi intégré des équations reflétant la détection des sources de carbone et non leur concentration. Une dernière amélioration prend en compte la consommation et la production de chaque source de carbone et met alors en jeu les différentes phases de fonctionnement. Si toutes les sources de carbone sont présentes, ce modèle montre que l'organisme fonctionne d'abord avec le glucose, puis avec le glycérol, lorsque le glucose est entièrement consommé, puis enfin avec l'acétate. A chaque fois, la dynamique fournit, pour

chaque composition en source de carbone, une convergence vers la situation stable correspondante.

Un des intérêts de l'approche continue est la possibilité de démontrer globalement, de manière purement théorique, l'existence de points fixes, de solutions périodiques ou chaotiques (plus généralement d'attracteurs), grâce aux nombreux théorèmes de convergence existants (Demongeot, 1981b).

Le modèle final est apte à fonctionner avec des valeurs quantitatives. Il est nécessaire, pour améliorer son réalisme, d'affecter aux équations les constantes de temps expérimentales, ainsi que les valeurs des concentrations, de l'expression génique,... Il est aussi indispensable, pour la partie métabolique, d'écrire l'expression des taux de réaction en fonction du temps et de considérer les coefficients stœchiométriques des réactions concernées.

A.5 Bibliographie

1. Aracena, J. (2001). Modelos Matemáticos Discretos Asociados a Sistemas Biológicos. Aplicación a las redes de regulación génica. Tesis de Doctor en Cs. de la Ingeniería, mención Modelamiento Matemático, Universidad de Chile.
2. Aracena, J., González M., Méndez M.A., and Cambiazo V. Regulatory network for cell shape changes during *Drosophila* ventral furrow formation. *J. Theor. Biol. In Press*.
3. Baconnier, P., Pachot P. and Demongeot J. (1993). An attempt to generalize the control coefficient concept. *J. Biol. Systems* 1, 335-347.
4. Bentley, W.E., Mirjalili N., Andersen D.C., Davis R.H., and Kompala, D.S. (1990). Plasmid encoded protein : the principal factor in the metabolic burden associated with recombinant bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* 35, 668-681.
5. Bledig, S.A., Ramseier T.M., Saier M.H. Jr. (1996). Frur mediates catabolite activation of pyruvate kinase (pykF) gene expression in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 178(1), 280–283.
6. Carlsen, M., Jochumsen K.V., Emborg C., and Nielsen J. (1997). Modeling the growth and proteinase A production in a continuous cultures of recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Bioeng.* 55, 447-454.
7. Charpentier, B., Bardey V., Robas N., and Branlant C. (1998). The EIIGlc Protein Is Involved in glucose-Mediated Activation of *Escherichia coli* gapA and gapB-pgk Transcription. *Journal of Bacteriology* 180(24), 6476-6483.
8. Cozzone, A.J. (1998). Regulation of acetate metabolism by protein phosphorylation in enteric bacteria. *Annual Reviews Microbiology* 52, 127-164.

9. Cunningham, L., Gruer M.J. and Guest J.R. (1997). Transcriptional regulation of the aconitase genes (*acnA* and *acnB*) of *Escherichia coli*. *Microbiology* 143, 3795-3805.
10. Demongeot J. and Seydoux F. (1979). Oscillation glycolytiques : modélisation d'un système minimum à partir des données physiologiques et moléculaires. In : *Elaboration et justification des modèles en biologie 2*, eds P. Delattre *et al.*, Maloine, Paris, 519 – 536.
11. Demongeot, J. (1981a). Existence de solutions périodiques pour une classe de systèmes différentiels gouvernant la cinétique de chaînes enzymatiques oscillantes. *Lecture Notes in Biomaths* 41, 40-62.
12. Demongeot, J. (1981b). Theoretical study of attractors in enzymatic systems. In : *System Dynamics and analysis of change*, ed. B.E. Paulré, North Holland, Amsterdam 151-171 pp.
13. Demongeot, J. and Seydoux F. (1981). Sur l'approche théorique dans l'étude des systèmes métaboliques. *Bulletin GERB* 13, 23-37.
14. Demongeot, J and Kellershohn N. (1983). Glycolytic oscillations : an attempt to an « in vitro » reconstitution of the higher part of glycolysis. *Lectures Notes in Biomaths* 49, 17-31.
15. Demongeot, J. and Laurent M. (1983). Sigmoidicity in allosteric models. *Math. Biosciences* 67, 1-17.
16. Eppler, T., Postma P., Schütz A., Völker U., Boos W. (2002). Glycerol-3-Phosphate-Induced Catabolite Repression in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 184(11), 3044-3052.
17. Goldbeter, A. and Lefever R. (1972). Dissipative structures for an allosteric model. Application to glycolytic oscillations. *Biophys. J.* 12, 1302-1315.

18. Gonzalez, R. (2001). Uso de la ingeniería metabólica en el estudio de la producción de proteínas y etanol en cepas recombinantes. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 219 pp.
19. Gonzalez, R., Andrews B.A., Molitor J. and Asenjo J.A. (2003). Metabolic Analysis of the synthesis of high levels of intracellular human SOD in *Saccharomyces cerevisiae* rhSOD 2060 411 SGA 122. *Biotechnol Bioeng.* 82, 152–169.
20. Holms, H (1996). Flux analysis and control of the central metabolic pathways in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Rev.* 19, 85-116.
21. Holtman, C.K., Pawlyk A.C., Meadow N.D. and Pettigrew D.W. (2001). Reverse genetics of *Escherichia coli* glycerol kinase allosteric regulation and glucose control of glycerol utilization in vivo. *Journal of Bacteriology* 183(11), 3336–3344.
22. Hurley, J.H., Faber H.R., Worthylake D., Meadow N.D., Roseman S., Pettigrew D.W. and Remington S.J. (1993). Structure of the regulatory complex of *Escherichia coli* III_{Glc} with glycerol kinase. *Science* 259, 673-677.
23. Kacser, H. and Burns J.A. (1973). The control of flux. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 27, 65-104.
24. Kimata, K., Takahashi H., Inada T., Postma P. and Aiba H. (1997). cAMP receptor protein-cAMP plays a crucial role in glucose-lactose diauxie by activating the major glucose transporter gene in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 12914-12919.
25. Klein, C., Olsson L. and Nielsen J. (1998). Glucose control in *Saccharomyces cerevisiae* : the role of MIG1 in metabolic functions. *Microbiol.* 144, 13-24.
26. Lutfiyya, L.L., Iyer V.R., DeRisi J., DeVit M.J., Brown P.O. and Johnston M. (1998). Characterization of three related glucose repressors and genes they regulate in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 150, 1377-1391.
27. McAdams, H.H. and Shapiro L. (1995). Circuit simulation of genetic networks. *Science* 269, 650-656.

28. Mendoza, L. and Alvarez-Buylla E. (1998), Dynamics of the genetic regulatory network for *Arabidopsis thaliana* flower morphogenesis. *J. Theor. Biol.* 193, 307-319.
29. Nam, T.W., Cho S.H., Shin D., Kim J.H., Jeong J.Y., Lee J.H., Roe J.H., Peterkofsky A., Kang S.O., Ryu S. and Seok Y.J. (2001), The *Escherichia coli* glucose transporter enzyme IICB(Glc) recruits the global repressor Mlc. *EMBO Journal* 20(3), 491-498.
30. Negre, D., Bonod-Bidaud C., Geourjon C., Deleage G., Cozzone A.J. and Cortay J.C. (1996). Definition of a consensus DNA-binding site for the *Escherichia coli* pleiotropic regulatory protein, FruR. *Molecular Microbiology* 21(2), 257-266.
31. Negre, D., Oudot C., Prost J.F., Murakami K., Ishihama A., Cozzone A.J. and Cortay J.C. (1998). FruR-mediated transcriptional activation at the ppsA promoter of *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Biology* 276(2), 355–365.
32. Nielsen, J. and Villadsen J. (1994). *Bioreaction Engineering Principles*. Plenum Press, New York.
33. Oh, M. and Liao J.C. (2000), Gene Expression Profiling by DNA Microarrays and Metabolic Fluxes in *Escherichia coli*. *Biotechnol. Prog.* 16, 278-286.
34. Oviedo, C. (2004), *Simulación y optimización usando modelos matemáticos discretos aplicados a redes metabólicas*. Tesis para optar al grado de Ingeniero Civil, mención Biotecnología, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 120 pp.
35. Park, S.J., Cotter P.A. and Gunsalus R.P. (1995). Regulation of malate dehydrogenase (mdh) gene expression in *Escherichia coli* in response to oxygen, carbon, and heme availability. *Journal of Bacteriology*. 177(21), 6652–6656.
36. Ramírez, P. (2003). *Modelos matemáticos discretos aplicados a redes de regulación génica y redes metabólicas*. Tesis para optar al grado de Ingeniero Civil, mención

Biotecnología, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 58 pp.

37. Ramirez, P., Andrews B.A., Aracena J., Goles E. and Asenjo J.A. A discrete mathematical model applied to genetic regulation and metabolic networks. *Submitted*.
38. Snoep, J.L., Yomano L.P., Westerhoff H.V. and Ingram, L.O. (1995). Protein burden in *Zymomonas mobilis* : negative flux and growth control due to overproduction of glycolytic enzymes. *Microbiology* 141, 2329-2337.
39. Srienc, F., Campbell J.L., and Bailey J.E. (1986). Analysis of unstable recombinant *Saccharomyces cerevisiae* population growth in selective medium. *Biotechnol. Bioeng.* 28, 996-1006.
40. Stephanopoulos, G., and Vallino J.J. (1991). Network rigidity and metabolic engineering in metabolite overproduction. *Science* 252, 1675-1681.
41. Stephanopoulos, G.N., Aristidou A.A. and Nielsen, J. (1998). *Metabolic Engineering*. Academic Press, London.
42. Takeda, S., Matsushika A. and Mizuno T. (1999). Repression of the gene encoding succinate dehydrogenase in response to glucose is mediated by the EIICB(Glc) protein in *Escherichia coli*. *J. Biochem. (Tokyo)* 126(2), 354-360.
43. Tanaka, Y., Kimata K. and Aiba H. (2000). A novel regulatory role of glucose transporter of *Escherichia coli* : membrane sequestration of a global repressor Mlc. *EMBO Journal* 19(20) 5344-5352.
44. Van Hoek, P., Flikweert M.T., Van der Aardt Q.J., De Steensma H.Y., Van Dijken J.P. and Pronk, J.T. (1998). Effects of pyruvate decarboxylase overproduction on flux distribution at the pyruvate branch point in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol* 64, 2133-2140.

45. Vanrolleghem, P.A., de Jong-Gubbels P., van Gulik W.M., Pronk J.T., van Dijken J.P., Heijnen S. and Vanrolleghem, P. et al. (1996). Validation of a Metabolic Network for *Saccharomyces cerevisiae* using mixed substrate studies. *Biotechnol Prog.* 12, 434 -448.

GLOSSAIRE DES PRINCIPALES NOTATIONS

Notations principales utilisées dans les parties 2 à 5

Lettres majuscules

A	aire
A_i	premier point du côté basal de la cellule X_i
B_i	deuxième point du côté basal de la cellule X_i
C_i	premier point du côté apical de la cellule X_i
C	concentration d'hormone
D	matrice de diffusion
D_i	deuxième point du côté apical de la cellule X_i
D_{\parallel}	coefficient de diffusion dans la direction \vec{u}
D_{\perp}	coefficient de diffusion dans la direction \vec{w}
G_i	intensité de croissance en aire de la cellule X_i
\vec{G}	loi de croissance tridimensionnelle
\vec{J}	flux d'auxine
\vec{J}_0	flux de production d'auxine
K	constante de proportionnalité pour la tendance des cellules cambiales à s'orienter parallèlement les unes aux autres
L	largeur de référence pour une cellule cambiale
M	nombre de cellules du xylème
N	nombre de cellules cambiales
P	périmètre du cambium
R	rayon
Re	nombre de Reynolds
\mathfrak{S}_t^{t+1}	transition globale entre t et $t + 1$
\mathfrak{S}_c^{t+1}	transition partielle de croissance entre t et $t + 1$
\mathfrak{S}_d^{t+1}	transition partielle de division entre t et $t + 1$.
\mathfrak{S}_e^{t+1}	transition partielle d'élimination entre t et $t + 1$.
\mathfrak{S}_m^{t+1}	transition partielle de maintien de la forme entre t et $t + 1$
\mathfrak{S}_x^{t+1}	transition partielle quelconque entre t et $t + 1$, avec $x = \{c, m, e, d\}$

$\mathfrak{S}x_{i,k}^{t+1}$	transition locale de type x , centrée sur la $k^{\text{ème}}$ cellule cambiale
$\overline{\mathfrak{S}x}$	transition générique de type x
X_i	$i^{\text{ème}}$ cellule cambiale
X_{i-1}	cellule voisine de X_i , la précédant dans le sens de description de Γ .
X_{i+1}	cellule voisine de X_i , la suivant dans le sens de description de Γ .
$X_i^{x,j}$	état de la $i^{\text{ème}}$ cellule après j itérations de type x .
X_i^+	état de la cellule X_i après une itération $\overline{\mathfrak{S}x}$.
W	xylème
Wx_j	état du xylème après j itération de type x

Lettres minuscules

\vec{g}	gravité
h	fonction définissant le terme de l'influence de la gravité sur l'orientation des cellules cambiales
h_C	application de croissance
j_0	intensité du flux de production d'auxine
k	coefficient de maintenance des cellules cambiales
k_s	sensitivité du cambium à l'IAA
l	épaisseur radiale de référence pour une cellule cambiale
\vec{l}	vecteur unitaire donnant la direction longitudinale descendante
\vec{m}	courbe tridimensionnelle représentant la zone médullaire de l'arbre
\vec{n}	normale unitaire pointant vers l'extérieur
n_e	nombre d'élimination cellulaire
p	pression
p_i	périmètre utile de la cellule X_i
p_C	critère de décision pour le choix du type de division cambiale
q	valeur aléatoire choisie uniformément entre 0 et 1.
\vec{r}	fonction qui paramètre la surface $\overline{\Omega}$
$rot_M(\cdot, \theta)$	rotation de centre M et d'angle θ .
s	abscisse curviligne
t	temps (discret ou continu)
\vec{t}_1	premier vecteur tangent à $\overline{\Omega}$
\vec{t}_2	deuxième vecteur tangent à $\overline{\Omega}$
\vec{u}	vecteur unitaire orienté selon le grand axe des cellules cambiales fusiformes, dans la direction descendante
\vec{u}	vitesse de fluide
v	vitesse du transport actif de l'IAA
\vec{x}	vecteur unitaire donnant une première direction transversale à \vec{z} .
\vec{y}	vecteur unitaire donnant une deuxième direction transversale à \vec{z} .
x	lettre de l'alphabet $\{c, m, e, d\}$
$\{x - 1\}$	lettre qui précède x dans l'alphabet $\{c, m, e, d\}$
\vec{z}	vecteur unitaire donnant la direction verticale ascendante

Lettres grecques majuscules

Γ	cambium
Γx_j	état du cambium après j itération de type x
$\Gamma x_j^{(k)}$	état de toutes les cellules du cambium sauf de X_k et de ses voisines, après j itération de type x
ΔA	croissance en aire du cambium
Δ_i	aire de la cellule X_i
Φ	intensité du flux total d'IAA à travers une section transversale
χ	fonction indicatrice
Ω	domaine cambial tridimensionnel
$\overline{\Omega}$	surface cambiale

Lettres grecques minuscules

α_0	angle de référence
α_i	angle formé par les directions latérales : $(\overline{A_i C_i}, \overline{B_i D_i})$
β	constante de proportionnalité pour l'effet de gravité sur l'orientation des cellules cambiales
$\overline{\gamma}$	projection généralisée
γ_X	projection orthogonale sur la cellule X
μ	constante de proportionnalité pour l'effet d'orientation des cellules cambiales selon le flux d'auxine
η	viscosité
ρ	densité
σ_C	fonction fournissant l'ordre de parcours aléatoire des cellules cambiales
τ	vecteur $(\tau_C, \tau_E, \tau_L, k, \Delta A)$
τ_C	seuil critique de division
τ_E	seuil critique d'élimination
τ_i	ratio entre le périmètre utile et l'aire de la cellule X_i
τ_L	limite supérieure en largeur des cellules cambiales
τ_x	taux de production de xylème
ϕ	angle d'orientation du vecteur \vec{u}

Ensembles

\mathbb{N}	ensemble des entiers naturels
\mathbb{R}	ensemble des nombres réels
$[1, \dots, N]$	ensemble des entiers compris entre 1 et N

Glossaire des notations spécifiques à la partie 6

A	fonction qui calcule l'âge des cellules dans un état
E	ensemble des états cellulaires possibles
N	état indifférencié
R	état différencié de type rouge
$\vartheta(i)$	voisinage de la cellule X_i
$\bar{\vartheta}(i)$	voisinage restreint de la cellule X_i
V	état différencié de type vert
X_i	$i^{\text{ème}}$ cellule
e	élément de E
\bar{e}	complémentaire de e dans $\{V, R\}$
n_C	nombre total de cellule
p	fonction de calcul du poids d'un état dans un voisinage
p_C^*	probabilité de division par file cambiale
s_e	fonction seuil
s_N^*	seuil de référence de l'état noir
s_R^*	seuil de référence de l'état rouge
s_V^*	seuil de référence de l'état rouge
v_R	vitesse d'avancée dans la voie de différenciation rouge
v_V	vitesse d'avancée dans la voie de différenciation verte
x_i	état de la cellule X_i
y	fonction permettant de tester la valeur de x_i .

Glossaire des notations spécifiques à la partie 7

C	concentration du morphogène
D_C	constante de diffusion du morphogène
E_i	module d'Young du milieu X_i
\vec{F}	forces volumiques
\vec{F}_i	force totale à laquelle est soumise la cellule X_i
$[I]$	matrice identité
N	nombre de cellules épithéliales
S	ensemble des sommets fixés
X_i	$i^{\text{ème}}$ cellule épithéliale
X_{N+1}	milieu interne
\vec{u}	vecteur déplacement
f	fonction déterminant l'intensité des forces
Γ	épithélium
Γ_i	cercle représentant le noyau de la cellule X_i

α_i	quantité de morphogène dans la cellule X_i
$\vec{\gamma}$	accélération
δ_i	production du morphogène par Γ_i
ε	tenseur des déformations
ν_i	coefficient de Poisson du milieu X_i
σ	tenseur des contraintes
Ψ	terme global de production du morphogène