

Grandes étapes du développement animal et végétal

Cette introduction est consacrée à poser les bases du développement animal et végétal afin de pouvoir étudier les comportements et interactions cellulaires à l'œuvre dans l'organisme en développement (synthèses 6 à 9). L'enjeu (voir vos objectifs d'apprentissage sur cette synthèse) est que vous reteniez le vocabulaire de base préalable à la description de phénotypes *in vivo* et que vous soyez capables de situer quelques structures embryonnaires dans l'espace et le temps et de citer leur devenir.

Développement embryonnaire et post-embryonnaire

Il est assez étonnant de constater que quel que soit l'animal ou le végétal considéré, il a été initialement constitué d'une seule cellule, issue de la fusion entre un ovocyte et un spermatozoïde lors de la **fécondation**. Cette cellule unique initiale s'appelle le **zygote**. Le développement embryonnaire ou **embryogenèse** regroupe toutes les étapes qui permettent de transformer ce zygote en un organisme autonome avec une organisation tridimensionnelle précise correspondant à son **plan d'organisation**, c'est-à-dire avec des organes répartis correctement le long d'**axes de polarité** : par exemple l'axe antéro-postérieur, l'axe dorso-ventral et l'axe droite-gauche chez la plupart des animaux.

Le développement des animaux se poursuit au cours de la période post-embryonnaire avec la **croissance** et la **maturation** des organes (notamment reproducteurs) et éventuellement une **métamorphose**, amenant un changement parfois radical de plan d'organisation (Figure 1). La croissance des animaux est généralement limitée dans le temps. Chez les végétaux elle est théoriquement illimitée. En outre **l'organisme végétal se caractérise par une organogenèse continue** grâce à l'activité des méristèmes que nous décrivons plus loin.

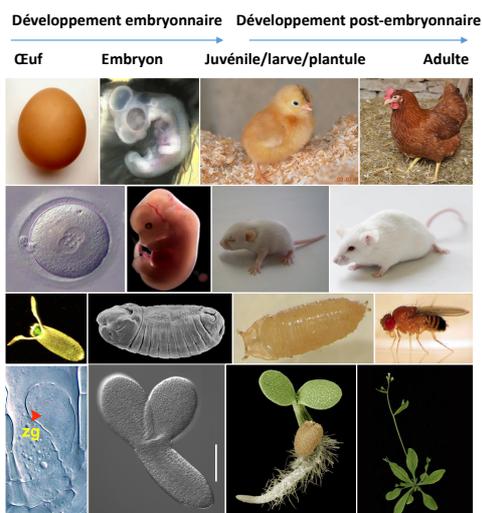


Figure 1 : Illustration du développement embryonnaire et post-embryonnaire chez 3 animaux (poulet, souris et drosophile) et un végétal (Arabidopsis). Le développement embryonnaire ou embryogenèse permet le passage de la cellule œuf à un individu (juvénile, larve, plantule) possédant les caractéristiques du plan d'organisation de l'espèce. Chez les animaux, il se poursuit par une période post-embryonnaire caractérisée par de la croissance, la maturation de certains organes (dont les organes reproducteurs) et une éventuelle métamorphose. C'est l'acquisition de la capacité à se reproduire qui caractérise l'état adulte. Chez les végétaux, croissance et organogenèse se poursuivent tout au long de la vie de l'individu.

Nous nous intéresserons ici essentiellement au développement embryonnaire. Il est constitué d'une succession d'étapes, largement conservées chez tous les animaux d'une part, et chez tous les végétaux d'autre part.

Le développement embryonnaire chez les animaux

Notion de feuillets embryonnaires

Pour passer du stade « zygote », cellule unique sphérique, à une structure tridimensionnelle pluricellulaire comprenant de multiples tissus et organes organisés dans l'espace selon le plan d'organisation de l'espèce, l'embryon va passer par différentes étapes faisant intervenir des divisions cellulaires, d'éventuels mouvements/migrations de cellules et de la différenciation cellulaire (voir synthèse 3). Tissus et organes ne se forment pas directement. Des groupes de cellules passent par des états intermédiaires et se différencient progressivement. Les premiers **tissus (ou feuillets) embryonnaires** sont au nombre de 3 chez les organismes bilatériens : **ectoderme, mésoderme et endoderme**. Ce sont les **tissus fondateurs de l'ensemble des tissus adultes** et chacun d'entre eux participe à la formation d'un ensemble de tissus et organes bien précis résumés dans le tableau ci-après.

Ectoderme	Mésoderme	Endoderme
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Épiderme ▪ Système nerveux 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Derme ▪ Muscles ▪ Cartilage, os ▪ Cœurs, vaisseaux, cellules sanguines ▪ Reins, gonades 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tube digestif ▪ Foie, pancréas ▪ Poumons ▪ Vessie

Tableau 1

En plus des cellules des trois feuillets, notons la présence des cellules de la **lignée germinale** qui donnent naissance aux gamètes.

Les grandes étapes de l'embryogenèse animale

Les grandes étapes de l'embryogenèse animale sont les suivantes (Figure 2) :

- **Clivage ou segmentation** : première étape du développement embryonnaire où le zygote puis l'embryon subit des mitoses successives, ce qui divise le cytoplasme issu de l'ovocyte. L'embryon devient multicellulaire. C'est au cours du clivage que se forment les 3 feuillets embryonnaires (voir synthèse 7). *Attention : les divisions cellulaires continuent dans les étapes ultérieures du développement, dans l'ensemble des tissus en formation. Elles contribuent aussi à la croissance de l'organisme au cours du développement post-embryonnaire.*
- **Gastrulation** : phase du développement embryonnaire où d'importants mouvements cellulaires vont réorganiser les feuillets dans l'espace. À l'issue de la gastrulation, les axes de polarité de l'embryon commencent à être visibles. *Attention : il existe des mouvements et migrations cellulaires dans les étapes ultérieures du développement, même s'ils ne sont pas aussi généralisés (voir synthèse 8).*
- **Neurulation** : phase du développement embryonnaire (en fin de gastrulation ou juste après) où le système nerveux central s'individualise du reste de l'ectoderme.
- **Organogénèse** : phase du développement embryonnaire (incluant la neurulation mais se poursuivant à l'issue de cette dernière) au cours de laquelle les organes commencent à se former par interaction entre les différents tissus.

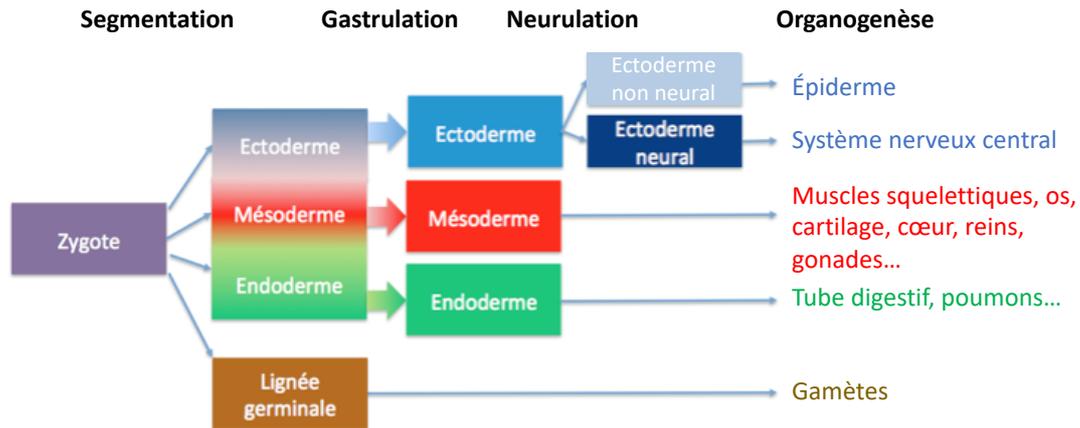
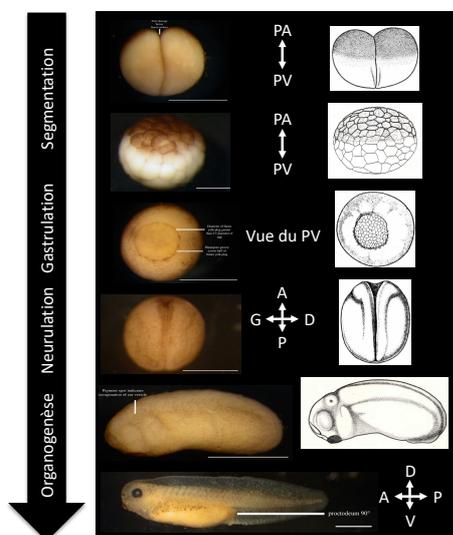


Figure 2 : Les principales étapes du développement embryonnaire des animaux. Au cours du clivage/segmentation, le zygote issu de la fécondation subit des mitoses le rendant pluricellulaire. Progressivement, les cellules produites sont spécifiées en 3 feuillet embryonnaires : ectoderme, mésoderme et endoderme. Les cellules de la lignée germinale qui produiront les gamètes sont aussi spécifiées. Au cours de la gastrulation, des migrations et mouvements cellulaires à l'échelle de tout l'embryon repositionnent les feuillet et les séparent clairement. La neurulation permet d'individualiser l'ectoderme neural qui donne le système nerveux de l'ectoderme non-neural qui donne l'épiderme. Enfin, les organes se forment progressivement au cours de l'organogénèse.

Exemple de l'embryogénèse du Xénope

Étudions maintenant ces différentes étapes sur un organisme-modèle : le **Xénope**. Il s'agit d'un Amphibien Anoure (sans queue après la métamorphose) qui est bien adapté à l'élevage. Après stimulation hormonale, une femelle peut pondre plusieurs centaines d'ovocytes qui sont fécondés *in vitro* avec un broyat de testicules de mâles. Les ovocytes et les embryons aux premiers stades font 2 mm de diamètre et sont facilement observables à l'œil nu ou à la loupe binoculaire. Le développement embryonnaire est rapide (à 25°C) mais il peut être ralenti si besoin en incubant les embryons à des températures plus basses (18°C voir 12°C). Commencez par regarder ce film où vous allez retrouver la succession des étapes développementales décrites ci-dessus : <https://www.youtube.com/watch?v=JJ0wthL01is>



La figure 3 résume l'ensemble des étapes observées :

Figure 3 : Étapes du développement embryonnaire chez le Xénope. À cette échelle, vous observez :

- ✓ Des divisions cellulaires sans augmentation de la taille de l'embryon (clivage ou segmentation).
- ✓ L'apparition d'une fente et des mouvements tissulaires (gastrulation).
- ✓ Le soulèvement puis la fermeture de tissus dorsaux (neurulation).
- ✓ L'allongement de l'embryon dans l'axe antéro-postérieur et l'apparition d'organes (dont yeux, plaque adhésive, branchies; organogénèse): le plan d'organisation devient visible.

Allez maintenant sur la page suivante :

<https://view.genial.ly/5c0ce7510fd38247366d9537/developpement-xenope-l2>

Une image interactive retraçant le cycle de vie du Xénope vous permet de suivre étape par étape son développement embryonnaire. Voici les points qui doivent particulièrement retenir votre attention :

- Observez la polarisation de l'ovocyte et ses réserves indispensables au développement embryonnaire (vitellus).
- Notez les mouvements du cytoplasme cortical qui adviennent au moment de la fécondation (**rotation corticale et formation du croissant gris**). Nous reviendrons sur ce phénomène et son importance en synthèse 7.
- Notez la particularité des premières divisions de la segmentation (cycles dépourvus de phases G1 et G2) et le fait que le génome du zygote ne commence à s'exprimer que lorsque les cycles redeviennent classiques (au moment de la **transition midblastuléenne**). Tous les ARN et protéines nécessaires au début du développement ont été hérités par la femelle via l'ovocyte. Ils ont été synthétisés au cours de l'ovogenèse.
- Retenez le principe de l'établissement d'une carte des territoires présomptifs.
- Observez les mouvements cellulaires qui ont lieu au cours de la gastrulation et leurs conséquences sur la réorganisation spatiale des trois feuilletts (le détail de ces mouvements n'est pas à connaître).
- Observez comment le tube neural se forme.
- Familiarisez-vous avec une coupe d'embryon au stade bourgeon caudal (voir également Figure 4).
- Observez la formation des somites à partir du mésoderme paraxial et leur régionalisation. Nous reviendrons sur ce processus en synthèse 7.

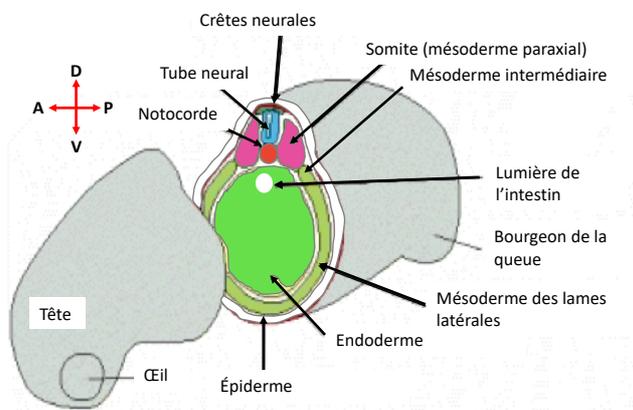


Figure 4 : Coupe d'embryon de Xénope au stade bourgeon caudal (début de l'organogenèse). On distingue l'épiderme recouvrant l'embryon, le tube neural dorsal (système nerveux central en cours de formation), le tube digestif et différents dérivés mésodermiques parmi lesquels la notocorde (tissu dorsal de soutien appelé à disparaître à l'issue de l'embryogenèse), les somites (à l'origine des muscles squelettiques, du derme et du squelette axial), le mésoderme intermédiaire (à l'origine

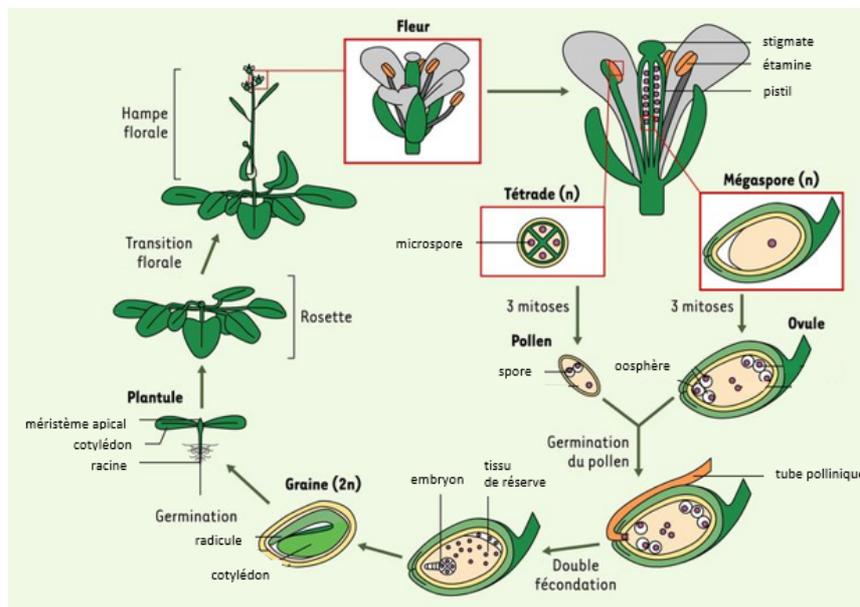
des reins et des gonades) et les lames latérales (à l'origine du cœur, des vaisseaux et des cellules sanguines).

Pour aller plus loin et découvrir de façon animée et commentée le développement embryonnaire du Xénope, regardez la vidéo suivante :

<https://www.youtube.com/watch?v=1NAt-OOSuKY&t=1s>

Les étapes du développement embryonnaire chez les végétaux

Nous nous restreindrons ici aux Angiospermes (les plantes à fleurs) et plus particulièrement à



un modèle très utilisé en laboratoire : *Arabidopsis thaliana*. Son cycle de vie est schématisée Figure 5.

Figure 5 : Cycle de développement d'*Arabidopsis thaliana*. Après pollinisation, le grain de pollen déposé sur le stigmate se développe et forme un tube pollinique qui amène les gamètes mâles vers l'ovule. Une double fécondation a

lieu : l'une avec l'oosphère donne l'embryon et l'autre donne un tissu de réserve. L'ovule se transforme en graine où se développe l'embryon qui devient une plantule après germination. S'ensuit une croissance d'abord végétative grâce aux méristèmes apicaux caulinaire et racinaire. Après la transition florale, le méristème apical caulinaire devient un méristème floral donnant naissance à une fleur.

Le développement embryonnaire démarre avec la fécondation d'une oosphère (gamète femelle) par un gamète mâle qui est issu du grain de pollen. L'embryon végétal passe ensuite d'un stade à un autre, nommés d'après leur nombre de cellules ou la forme générale de l'embryon. Du zygote jusqu'au stade embryon mature, le développement prend environ deux semaines. Observez ces deux petits films. Le premier est un film accéléré du développement embryonnaire d'*Arabidopsis* et le second vous montre la dissection d'un embryon à partir de graines extraites d'une silique :

<https://www.youtube.com/watch?v=zrVfAC8cE9Q>

https://www.youtube.com/results?search_query=embryonic+development+arabidopsis

Observez maintenant la Figure 6. On distingue 2 grandes structures dans l'embryon :

- Un **tissu extra-embryonnaire** dans la partie basale de l'embryon, nommé **suspenseur**. Ce dernier relie embryon et tissus maternels, assurant un approvisionnement en ressources nutritives. Sa prolifération pousse l'embryon vers le centre de la graine.
- L'**embryon stricto sensu** dans la partie apicale, appelé **proembryon**. C'est lui qui est à l'origine de la quasi-totalité des différents tissus de la plantule.

Ces deux structures commencent à se former dès la première division du zygote. Cette division est asymétrique et produit une petite cellule, la **cellule apicale**, et une grande cellule, la **cellule basale**. C'est une division fondamentale car tout l'**axe apico-basal** de la plante en découle. La cellule basale va poursuivre ses divisions pour donner le suspenseur et une petite partie du proembryon appelée hypophyse. Tout le reste du proembryon est issu de la cellule apicale.

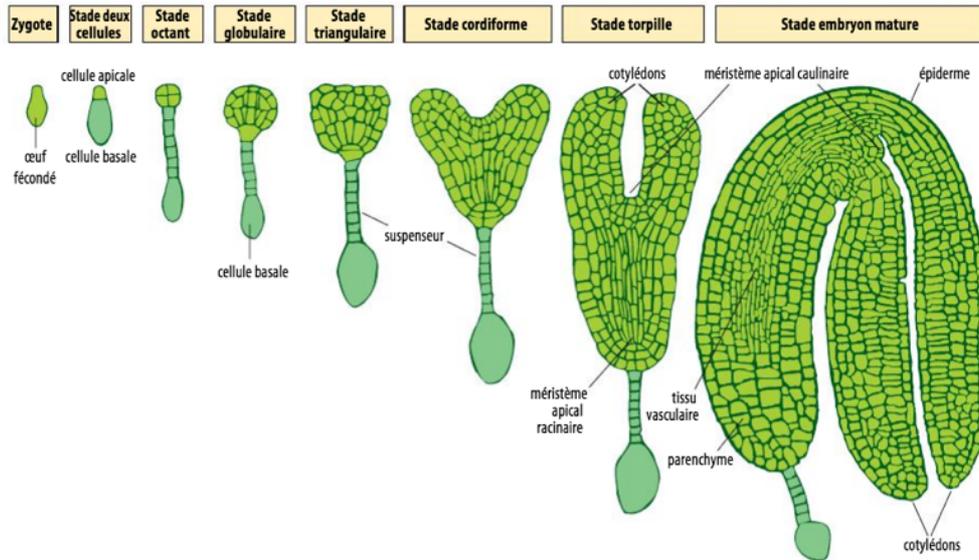


Figure 6 : Stades du développement embryonnaire d'*Arabidopsis thaliana*. La première division du zygote est asymétrique et génère une petite cellule apicale et une grande cellule basale. Cette dernière participe à la formation du suspenseur (structure extra-embryonnaire qui a une fonction nutritive) et aussi à l'hypophyse qui générera une partie du méristème racinaire de l'embryon. La cellule apicale donne naissance au reste de l'embryon et se divise jusqu'à former une masse globulaire qui donne son nom au stade correspondant. L'embryon commence à s'allonger selon l'axe apico-basal tandis qu'émergent les cotylédons (premières feuilles). C'est le stade cordiforme (en forme de cœur) puis le stade torpille. L'embryon mature est ensuite replié dans la graine. Il est en vie ralentie et reprendra son développement à la germination pour former la plantule. Source : Wolpert, *Biologie du Développement : les grands principes*. Dunod 2004.

Observez maintenant les différentes zones du proembryon et leur devenir (Figure 7). Au stade cœur (ou embryon cordiforme), des protubérances latérales apparaissent formant les deux pointes supérieures du cœur : ce sont les **cotylédons**, premières feuilles de la plantule. La présence de deux cotylédons permet de classer *Arabidopsis* parmi les **Dicotylédones** (les Monocotylédones tels que le maïs ou le blé n'en possèdent qu'un seul). L'**hypocotyle**, jeune tige, et la racine se mettent ensuite en place.

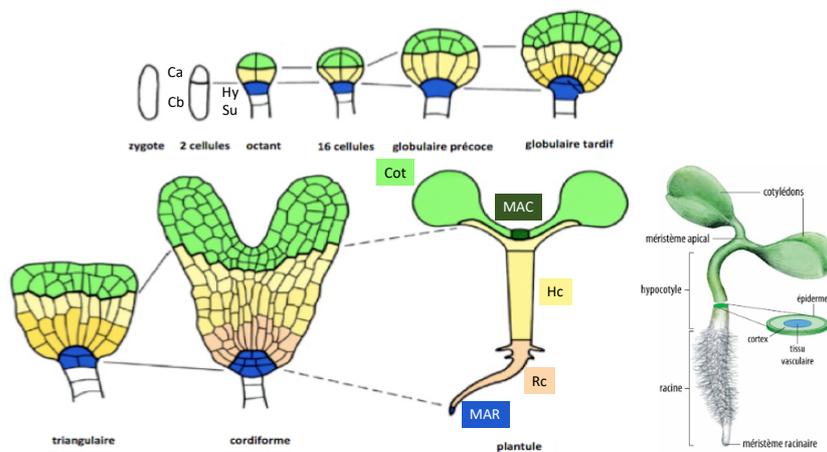


Figure 7 : Devenirs des différents territoires du proembryon d'*Arabidopsis thaliana*. Des divisions cellulaires très stéréotypées donnent naissance à divers territoires embryonnaires, représentés ici par un code couleur. La cellule apicale génère l'ensemble des structures de la plantule à l'exception d'une partie du méristème racinaire qui

dérive de la cellule basale. Ca : cellule apicale; Cb : cellule basale; Hy : hypophyse; Su : suspenseur; Cot : cotylédon; MAC : méristème apical caulinaire; Hc : hypocotyle; Rc : racine; MAR : méristème apical racinaire. Référence : Laux et al. (2004) *Plant Cell*, 16, 190-202.

L'embryogenèse a également mis en place deux structures fondamentales pour la suite du développement : le **méristème apical caulinaire** (MAC) et le **méristème apical racinaire** (MAR). Un méristème est un tissu constitué de cellules indifférenciées formant une **zone de croissance où des divisions cellulaires vont se poursuivre tout au long de la vie de la plante**. En générant de nouvelles cellules qui se différencieront, le **MAC et le MAR assurent ainsi la croissance en longueur de la partie aérienne de la plante et de sa racine respectivement** (Figure 8). Le MAR est uniquement histogène (il ne génère que de nouvelles cellules dans la racine) tandis que le MAC est histogène (genèse de cellules de la tige) et organogène (genèse de nouvelles feuilles et bourgeons et de fleurs après la transition florale). Ce sont des méristèmes dits « primaires » dont nous reverrons plus précisément la structure et le fonctionnement en synthèse 9. Chez les plantes ligneuses, des méristèmes dits « secondaires » assurent la croissance en épaisseur de la plante.

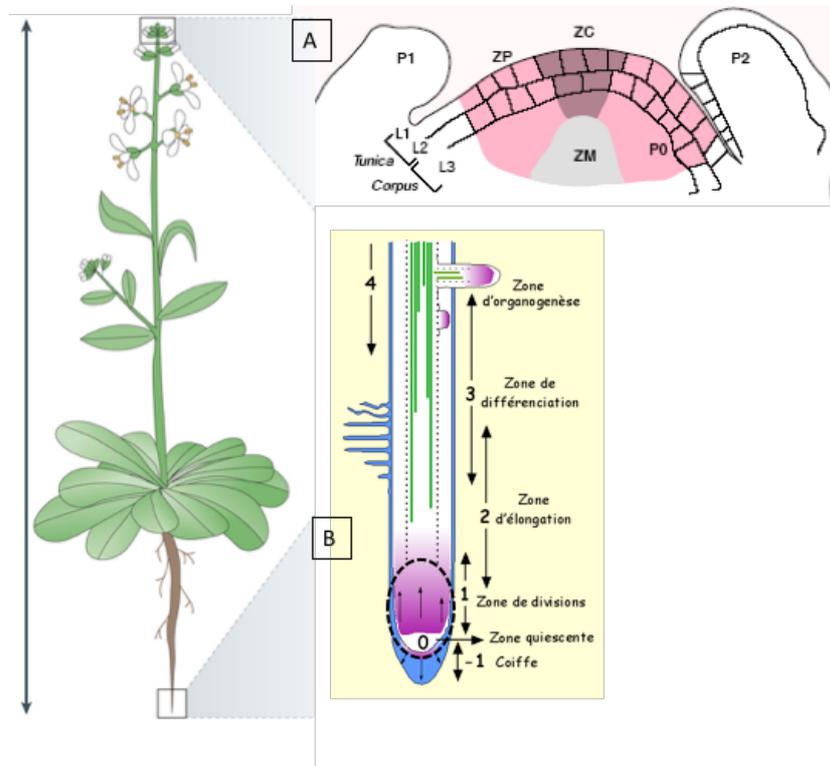


Figure 8 : Structure des méristèmes apicaux caulinaire (A ; MAC) et racinaire (B ; MAR). **(A)** Schéma d'une coupe effectuée au niveau du MAC. Le MAC contient plusieurs couches de cellules notées L1, L2 et L3. L1 et L2 forment la Tunica ; L3 est appelée Corpus. Ces couches sont définies par les plans de divisions des cellules qui les composent : divisions anticlines dans la Tunica et divisions sans plan défini dans le Corpus. On peut également distinguer des zones sur la base de l'intensité de prolifération cellulaire observée : divisions lentes et peu fréquentes dans la zone centrale (ZC) ; divisions rapides et fréquentes dans la zones périphérique (ZP ; lieu d'initiation des organes latéraux) ; vitesse intermédiaire de division dans la zone médullaire (ZM ; zone de formation des tissus internes de la tige). P = primordium de jeune feuille nouvellement formée. **(B)** Schéma d'une coupe de racine. Le MAR est entouré en noir. Il comprend un centre quiescent (0 ; cellules qui se divisent peu) et une zone de division (1). Les cellules qui sont générées par le MAR vont ensuite croître (2 ; zone d'élongation) et se différencier (3 ; zone de différenciation). Dans la zone 4 dite « d'organogenèse » des racines latérales peuvent se former.

FICHE METHODOLOGIQUE : notion de lignage et d'identité cellulaire

Chaque type de cellule différenciée d'un organisme est issue depuis le zygote d'une succession de mitoses et d'évènements de différenciation progressifs, coordonnés dans l'espace et le temps au cours des étapes du développement. **Identifier la descendance d'une cellule ou d'un groupe de cellules embryonnaires pour savoir à quelles cellules différenciées il a donné naissance est un des grands défis des embryologistes.** Nous avons vu en synthèse 3 que l'ensemble des cellules issues d'un ancêtre commun s'appelle un **lignage** et nous verrons en TD les techniques qui permettent d'identifier le lignage de cellules embryonnaires précises. Nous nous intéresserons en particulier au lignage des somites, structures embryonnaires dorsales qui dérivent du mésoderme et vont notamment donner naissance aux cellules musculaire squelettiques (Figure 9). Nous verrons également des expériences de lignage dans le méristème apical caulinaire.

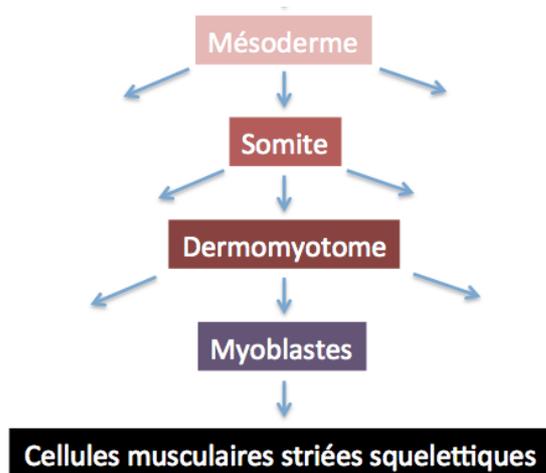


Figure 9 : Le lignage des cellules mésodermiques est très vaste (voir tableau 1). Une partie seulement est représentée. Parmi leurs dérivés se trouvent les somites. Une partie des somites donne le dermomyotome et certaines cellules du dermomyotome donnent naissance aux myoblastes, ou progéniteurs musculaires. Après prolifération et une éventuelle migration (notamment vers les bourgeons de membre) les myoblastes se différencient en cellules musculaires striées squelettiques (ces notions seront revues en synthèse 7).

Un **autre défi des embryologistes est de pouvoir assigner une identité à des groupes de cellules embryonnaires**, c'est à dire pouvoir affirmer par exemple que tel groupe de cellules constitue bien les précurseurs des cellules musculaires. C'est un point essentiel pour pouvoir suivre le développement de certaines structures et en comprendre les mécanismes sous-jacents. Ainsi, si la cellule musculaire différenciée est aisément identifiable sur la base de sa morphologie très spécialisée, la cellule somitique qui lui a donné naissance est quant à elle plus difficilement distinguable des cellules environnantes). On utilise pour ce faire des gènes qualifiés de **marqueurs**, c'est à dire des **gènes qui s'expriment spécifiquement dans un groupe de cellules donné à un moment donné**. L'expression de ces marqueurs peut être détectée par hybridation *in situ* (détection de l'ARNm) ou immunofluorescence (détection de la protéine). Vous trouverez une explication du principe de l'hybridation *in situ* dans la vidéo suivante (cliquez sur le lien correspondant à droite dès que la vidéo commence) : https://rnbio.upmc.fr/tp_xenope#Pr%C3%A9sentation_du_TP_x%C3%A9nope

Cette méthode de détection des transcrits peut être réalisée sur coupes ou sur embryons entiers (« *in toto* »). Les étapes à retenir sont les suivantes (Figure 10 ; nous reviendrons en TD sur cette technique) :

- **Fixation** puis **perméabilisation** des embryons (la perméabilisation, non mentionnée dans la vidéo est requise pour que la sonde puis l'anticorps pénètrent dans les tissus).
- Incubation des embryons en présence d'une **sonde antisens** complémentaire de l'ARNm que l'on cherche à détecter (cette sonde a été transcrite *in vitro* en présence d'UTP couplé à la digoxygénine, elle contient donc ce nucléotide modifié). C'est l'étape d'**hybridation**.
- Incubation des embryons en présence d'un **anticorps anti-digoxygénine couplé à une enzyme**, la phosphatase alcaline. C'est l'étape d'**immunodétection** de la sonde.
- Incubation des embryons en présence du substrat de la phosphatase alcaline. Cette dernière le convertit alors en un précipité coloré. C'est l'étape de **révélation**.

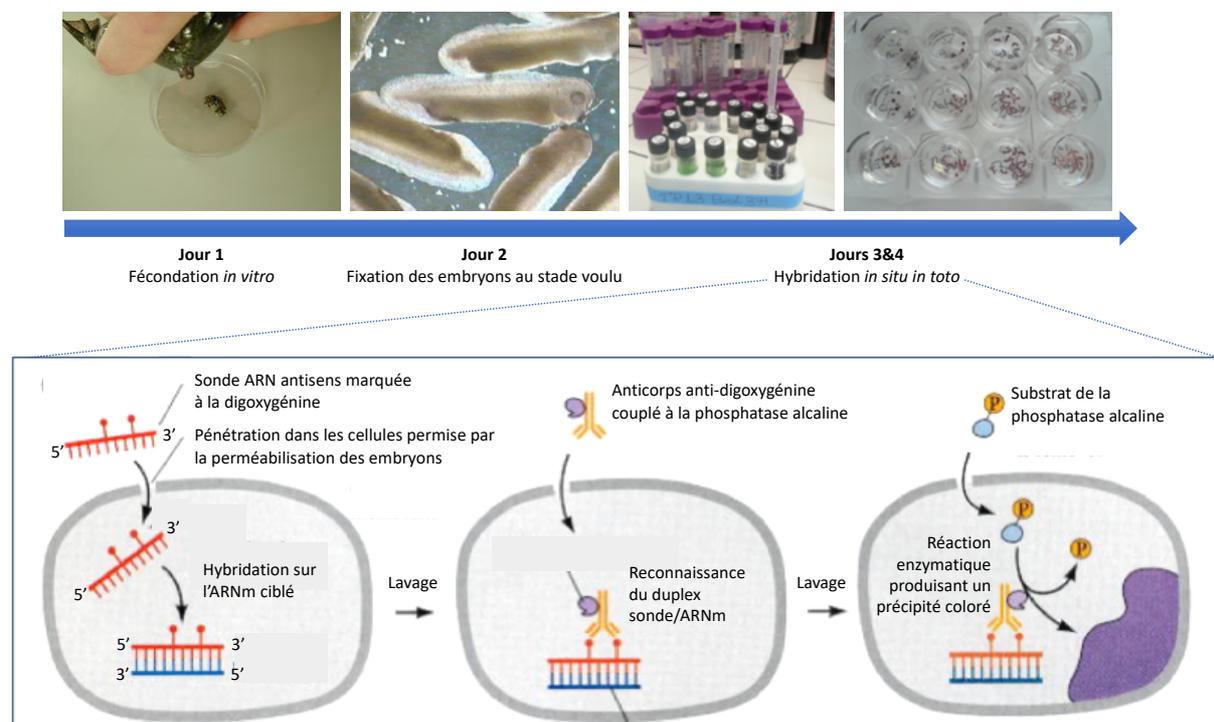


Figure 10 : Principe de l'hybridation *in situ*. Le schéma montre à l'échelle cellulaire les étapes d'hybridation, immunodétection et révélation.

Notez que si des marqueurs (ARNm ou protéines) révèlent l'identité de certains types cellulaires, leur expression est généralement associée à une fonction bien précise dans ces cellules. C'est le cas par exemple du facteur de transcription MyoD qui sert de marqueur spécifique des progéniteurs musculaires et dont nous avons vu en synthèse 3 qu'il jouait un rôle crucial dans la différenciation de ces derniers en myotubes.