

U.E. Biologie cellulaire et développement des plantes

Cours de F. BERNIER

CONTENU (OBJECTIFS):

- **Aspects phénotypiques du développement** : embryogenèse, graines et fruits, développement végétatif (feuilles, tiges racines, différenciation des cellules de surface), mise à fleur et détermination de l'identité des organes floraux, organisation florale, autoincompatibilité
- **Aspects génotypiques du développement** : mutants, gènes dont l'expression varie au cours du développement, gènes régulateurs du développement

PLAN

- Généralités
- Développement de la graine (embryon, fruit)
- Développement végétatif (tiges, feuilles, racines)
- Floraison

REFERENCES

Journaux:

- The Plant Cell. American Society of Plant Physiologists.
- Plant Journal. BIOS Scientific Publishers Ltd.
- Trends in Plant Science. Elsevier Science Ltd.
- Trends in Genetics. Elsevier Science Ltd.
- Current Opinion in Plant Biology. Current Biology Ltd.
- Development. The Company of Biologists Ltd.
- Genes & Development. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- autres...

Sites web

Scott's Botanical links : www.ou.edu/cas/botany-micro/bot-linx

Botany online - The Internet Hypertextbook:

www.rrz.uni-hamburg.de/biologie/b_online/e00/contents.htm

Biology of Plants (Raven): www.whfreeman.com/raven/index.htm

Flora of Europe: utopia.knoware.nl/users/aart/flora/

LEHLE Seeds: arabidopsis.com

The Arabidopsis information resource: www.arabidopsis.org

The Arabidopsis book: www.aspb.org/publications/arabidopsis

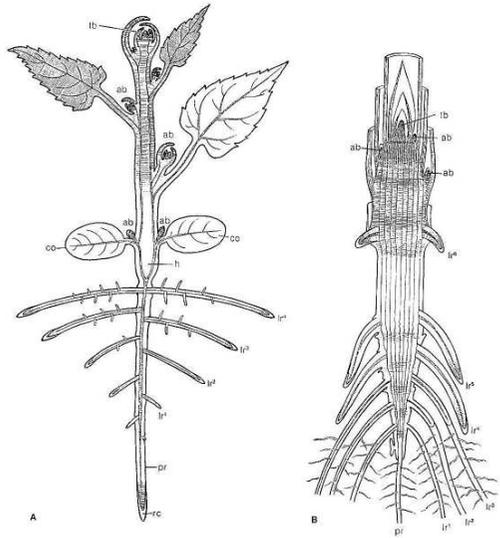
Teaching tools: www.plantcell.org/teachingtools/teaching.dtl

Plant Physiology, fourth edition, online: <http://4e.plantphys.net/>

1 - GENERALITES : PLAN

1. Structure de l'appareil végétatif des Angiospermes
2. Cycle de reproduction
3. Comparaison du développement: plantes/animaux
4. Génomes, gènes, expression génétique
5. Approches génétiques de l'étude du développement
6. Notion de plante-modèle
7. Transformation génétique
8. Historique

1- Structure de l'appareil végétatif des Angiospermes: schéma de Sachs



Dicotylédones

Monocotylédones

Phytomère: unité répétitive:

- entre-nœud
- nœud
- feuille
- bourgeon axillaire

tb: bourgeon (méristème) terminal

ab: bourgeon axillaire

co: cotylédon

h: hypocotyle

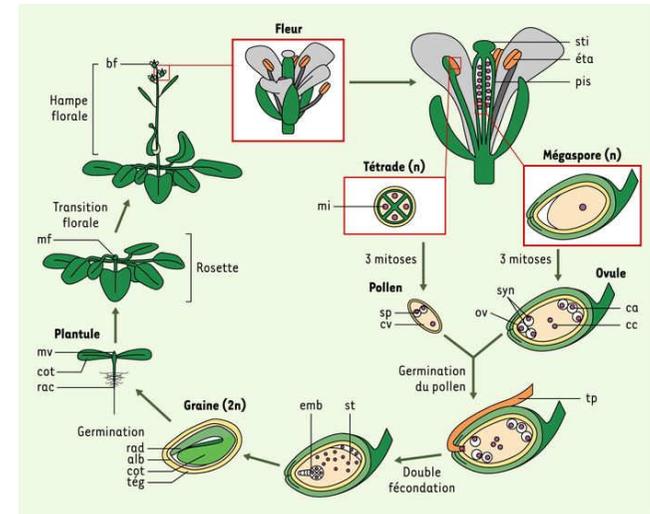
pr: racine principale

lr: racine latérale (secondaire)

rc: coiffe

Autres différences: anatomie, parois, physiologie...

2-Cycle de reproduction

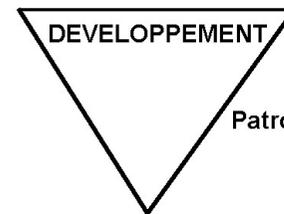


Définition de Développement : Ensemble des processus ordonnés et coordonnés qui contribuent à l'élaboration progressive d'un organisme pluricellulaire à partir d'un zygote unicellulaire.

Croissance

Différenciation

Croissance: divisions et ↑ taille cellules

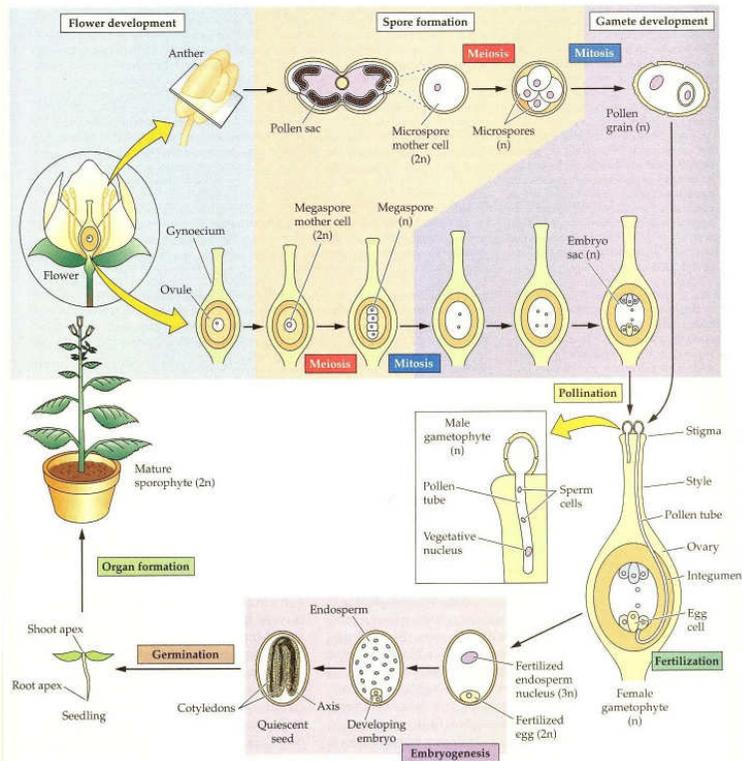


Différenciation: changements de formes et fonctions des cellules, spécialisation

Morphogenèse: forme des organes et de la plante

Patron: coordination des événements de différenciation entre les différents tissus et cellules

Notion de **détermination:** prédétermination des patrons de développement (« plan »), avant toute manifestation visible.



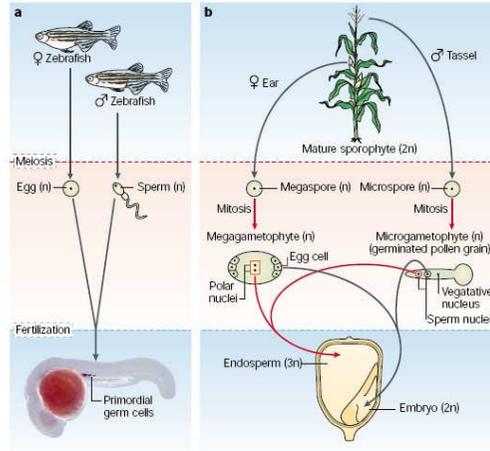
3- Comparaison du développement chez les plantes et les animaux

3.1 Alternance de générations:

n : gamétophytes
2n : sporophytes

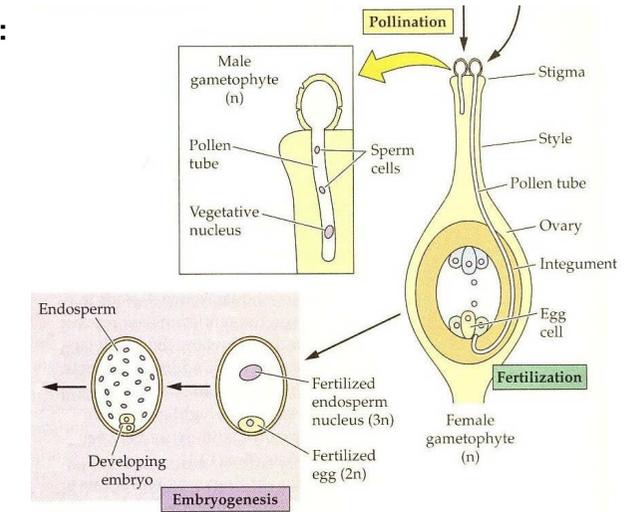
NB gamétophytes très réduits
chez les Angiospermes

Cycle de reproduction:
gamètes ET spores



3.2 Double fécondation:

- zygote 2n → embryon
- albumen 3n



3.3 Développement post-embryonnaire:

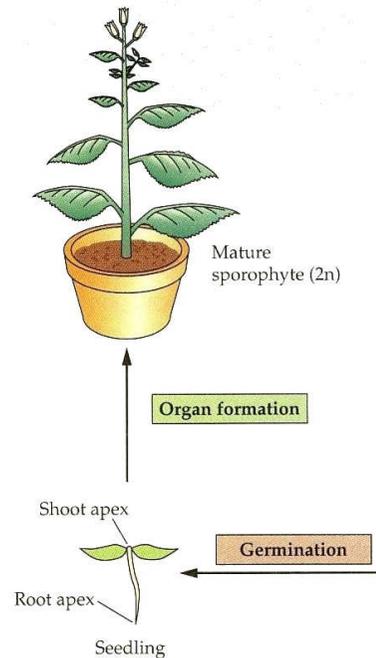
Embryon:

- axe embryonnaire, comportant les méristèmes
- cotylédons: organes différenciés de façon terminale

NB pas de lignée de cellules germinales

Conséquences:

- croissance indéfinie (indéterminée)
- influence de facteurs externes:
 - abiotiques: eau, lumière, gravité...
 - biotiques: symbiotes et pathogènes



3.4 Morphogénèse sans mouvement cellulaire

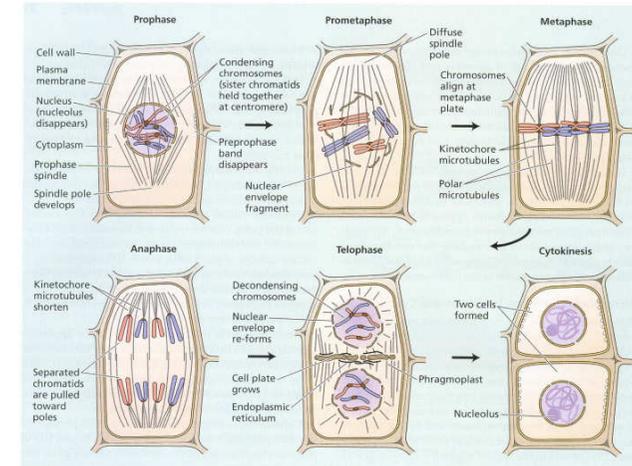


FIGURE 1.24 Diagram of mitosis in plants.

Morphologie (organes, plantes) déterminée par:

- plans de division cellulaire
- expansion cellulaire
- « plan global »

3.5 Simplicité anatomique et histologique

- 7 types d'organes
- 40 types de cellules
(plusieurs centaines chez les animaux)

MAIS:

- aussi grande complexité génétique:
25 000 à 50 000 gènes
- plus grande complexité métabolique

Table 1-1. *Plant Cell Types*

meristematic apical cells	root cap cells
parenchyma	root hairs
collenchyma	cambium
epidermis	ray cells
endodermis	cork
pericycle	phelloderm
fibers (sclerenchyma)	cork cambium
stomatal guard cells	laticifers
stomatal subsidiary cells	secretory cells
palisade	hairs
mesophyll	egg cells
xylem vessels	synergids
tracheids	antipodal cells
phloem sieve tubes	endosperm
companion cells	aleurone
transfer cells	tapetum
gland cells	pollen generative cells
idioblasts	pollen vegetative cells
cystoliths	

Source: Lyndon, R. F. 1990. *Plant Development*, p. 126. London: Unwin Hyman.

Remarque: pour l'ensemble des Angiospermes

3.6 Autotrophie et totipotence

- **Autotrophie:** chloroplastes (et autres types de plastes spécialisés)
- **Totipotence:** cellules méristématiques
cellules peu différenciées

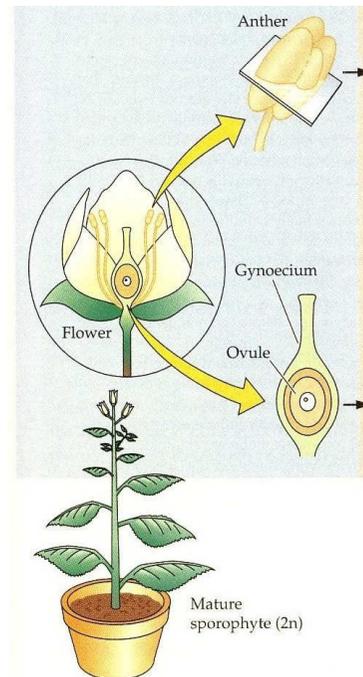
1 cellule → plante entière
(notion de cellules-souches)

3.7 Développement floral

Développement végétatif
(croissance indéterminée)

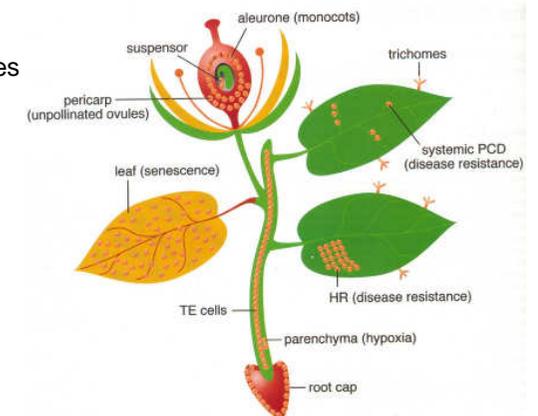


Mode de reproduction
(croissance déterminée)



3.8 Mort programmée:

- Xylème: trachéïdes et vaisseaux
- poils épidermiques
- coiffe (racine): cellules desquamantes
- feuilles: sénescence
- macrospores (3/4)
- ovules, en absence de fécondation
- fleur (après fécondation)
- suspenseur
- téguments de la graine
- cotylédons
- plante entière (plantes annuelles)



Animaux: uniquement au niveau cellulaire

Origine des différences plantes-animaux

- Processus fondamentaux (réplication, transcription, traduction...) très similaires
- Contrôle de la différenciation (régulation génétique) moyennement similaires
- Communication entre cellules et avec l'environnement différents (matrices extra-cellulaires, récepteurs, signalisation...)

Explication: dernier ancêtre commun aux plantes et animaux

→ eucaryote unicellaire ayant vécu il y a environ 1,6 milliards d'années...
(i.e. bien avant les premiers pluricellulaires)

Principal mode de communication inter-cellulaire chez les Plantes:

les PLASMODESMES

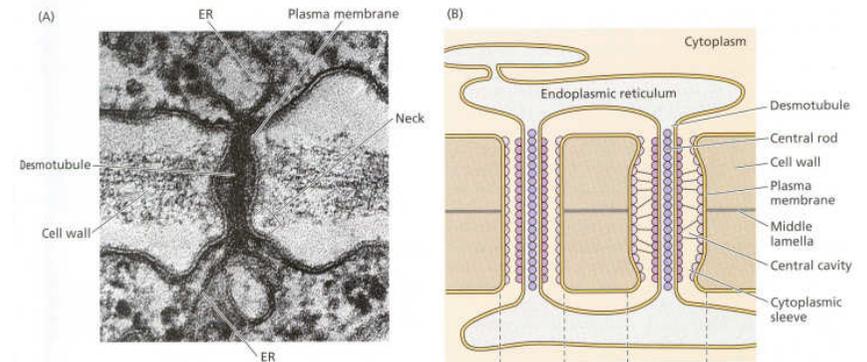


FIGURE 1.27 Plasmodesmata between cells. (A) Electron micrograph of a wall separating two adjacent cells, showing the plasmodesmata. (B) Schematic view of a cell wall with two plasmodesmata with different shapes. The desmotubule is continuous with the ER of the adjoining cells. Proteins line the outer surface of the desmotubule and the inner surface of the plasma membrane; the two surfaces are thought to be connected by filamentous proteins. The gap between the proteins lining the two membranes apparently controls the molecular sieving properties of plasmodesmata. (A from Tilney et al. 1991; B after Buchanan et al. 2000.)

4- Génomes, gènes, expression génétique

Génome: ensemble de l'ADN d'un organisme

Corrélation: taille du génome/complexité de l'organisme?

NON

→ quantité très variable d'ADN ne codant pas de protéines

<u>espèce</u>	<u>quantité d'ADN</u> (X 10 ⁹ pb)
Fritillaire	120 (24 chromosomes)
Salamandre	47
Maïs	25
Tabac	3,5
Homme	3,3
Riz	0,6
Arabidopsis	0,1 (10 chromosomes)
Levure	0,017
<i>E. coli</i>	0,004

Pour en savoir plus:

- Le séquençage des génomes de plantes : les acquis. Michel Delseny. Cah Agric 18, 461-467 (2009)

- Le séquençage des génomes de plantes : vers une nouvelle révolution en biologie végétale. Michel Delseny. Cah Agric 18, 468-473 (2009)

Remarque: corrélation taille du génome – taille des cellules

(Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. Jeremy M. Beaulieu, Iliia J. Leitch, Sunil Patel, Arjun Pendharkar and Charles A. Knight. New Phytologist (2008) 179: 975–986)

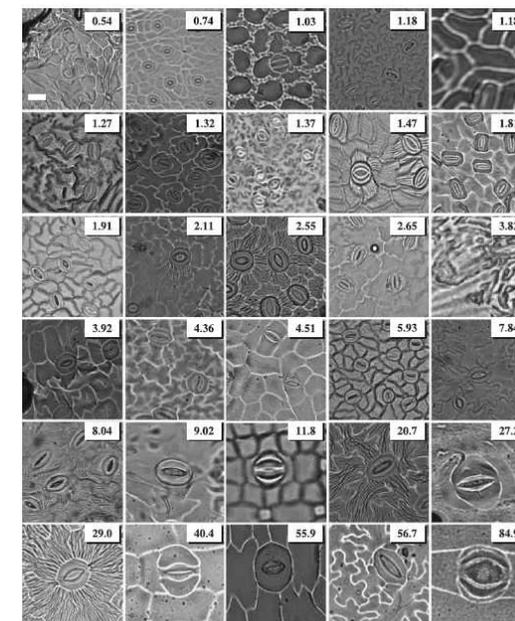


Fig. 1 Abaxial leaf epidermis images showing guard cell size in relation to 2C DNA amount. Numbers in each box correspond to the 2C DNA amount. All images were taken at $\times 400$ magnification. Bar: 20 μ m.

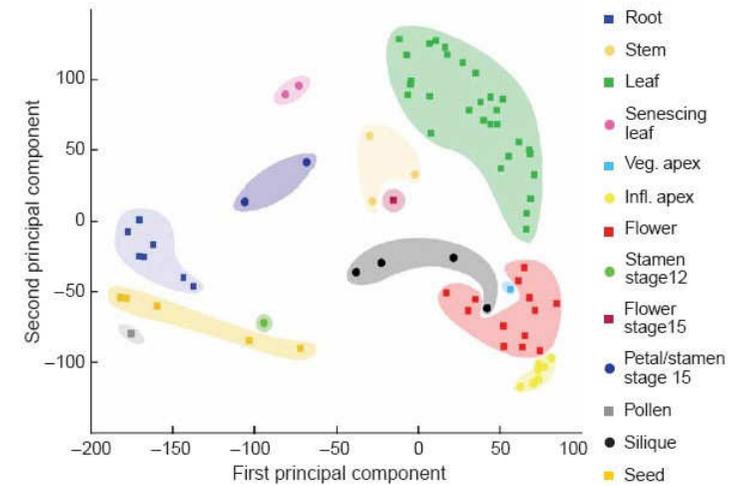
Combien de gènes? essentiel? de développement?

- Nombre total de gènes:
 - ancêtre des Angiospermes: 12 000 – 14 000 gènes
(incluant les gènes essentiels et les gènes de développement...)
 - ↓ duplications
 - de 25 000 (Arabidopsis) à 45 000 (peuplier)

How many genes are there in plants (. . . and why are they there)? Lieven Sterck, Stephane Rombauts, Klaas Vandepoele, Pierre Rouzé and Yves Van de Peer. *Current Opinion in Plant Biology* 10,199–203 (2007)

Identifying essential genes in *Arabidopsis thaliana*. David Meinke, Rosanna Muralla, Colleen Sweeney and Allan Dickerman. *Trends in Plant Science* 13, 483-491 (2008)

Les différents cellules, tissus, organes diffèrent parce qu'ils expriment des sous-ensembles distincts du génome de la plante
(régulation coordonnée de plusieurs groupes de gènes)



Donc: Etude du développement

- Description du processus: morphologie, histologie, biochimie...
- Explication:

- Gènes
 - Signalisation
- } régulation

(inter-cellulaire, cellule-environnement)

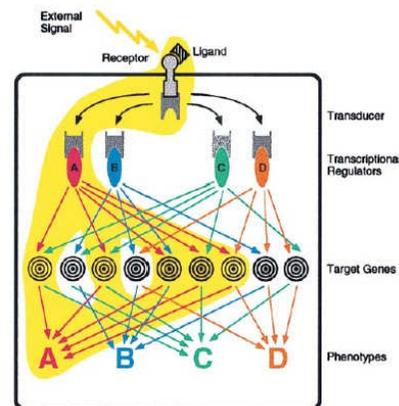
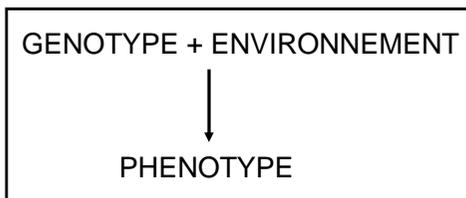
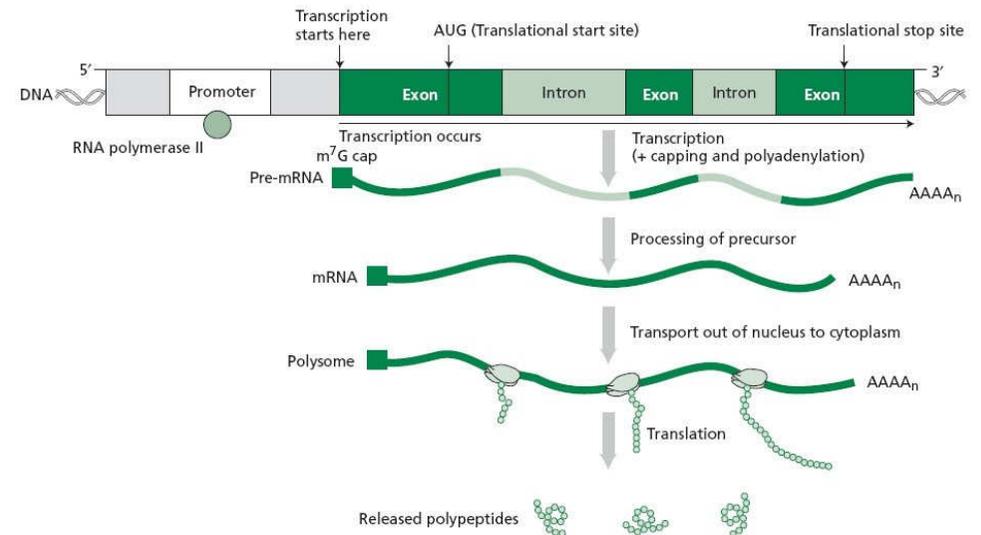


Figure 1. Simplified Representation of the Interactions among Genes in a Developmental Pathway.

Either an internal or external signal activates the receptor. The signal is transmitted by a transducer gene, which turns on the transcriptional regulators. The transcriptional regulators activate the target genes to produce a specific phenotype. As diagrammed, changes in the ligand, receptor, transducers, or target genes will be pleiotropic, altering multiple phenotypes (A, B, C, and D). However, alterations in a transcriptional regulator would affect only one phenotype. The yellow area represents a single developmental module.

Rappel: Structure et régulation des gènes eucaryotiques

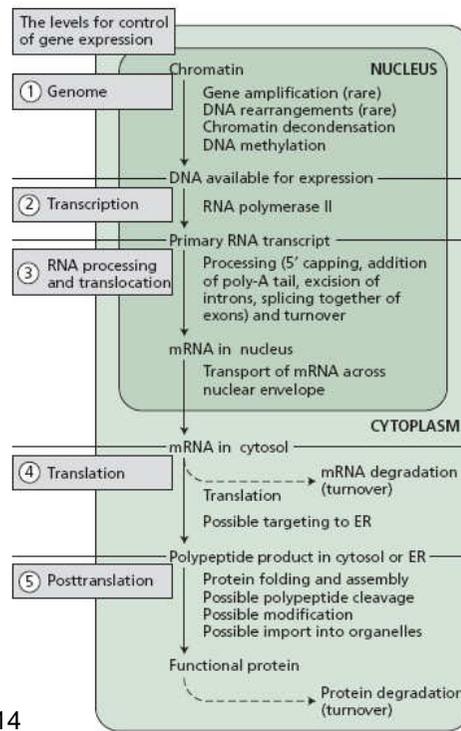


Régulation de l'expression génétique

à tous les niveaux, de la structure de la chromatine à la dégradation de la protéine

Principaux niveaux de contrôle:

- initiation de la transcription
- stabilité des ARNm
- dégradation protéolytique des protéines (ubiquitine...)

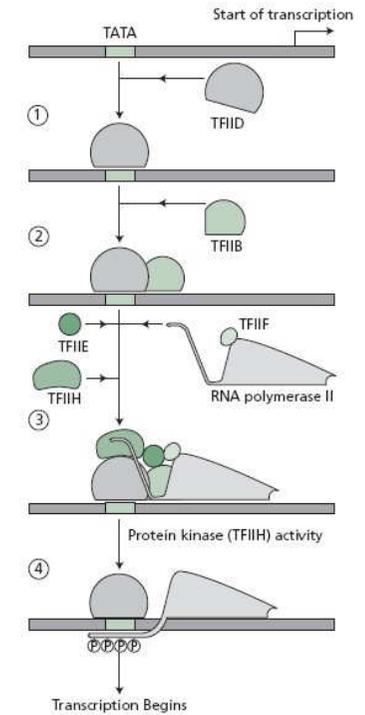


<http://4e.plantphys.net> chap. 14

Initiation de la transcription: facteurs généraux

TF, Transcription Factors

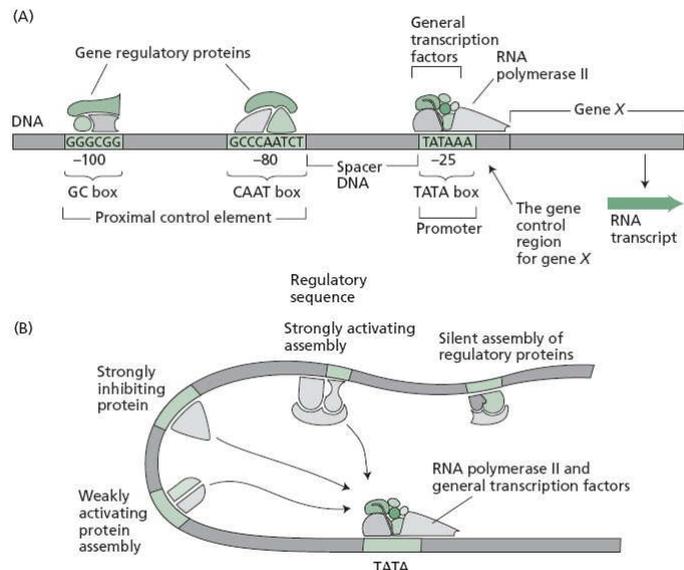
→ nécessaires mais pas suffisants



<http://4e.plantphys.net> chap. 14

Initiation de la transcription contrôlée par:

- **protéines régulatrices**, reconnaissant des:
- **éléments régulateurs**: courtes séquences d'ADN, dans les promoteurs



chap. 14

<http://4e.plantphys.net>

Major families of *Arabidopsis* transcription factors.

Gene family	Estimated number of genes in the <i>Arabidopsis</i> genome*	Gene family functions†	Genetically characterized <i>Arabidopsis</i> factors	Predicted number of proteins
				<i>D. melanogaster</i> <i>C. elegans</i> <i>S. cerevisiae</i>
MYB	180	Secondary metabolism, cellular morphogenesis, signal transduction in plant growth, abiotic and biotic stress responses, circadian rhythm, and dorsoventrality	<i>AtMYB2, ATR1, CCA1, CPC, GL1, LHY, WER</i>	35 16 19
AP2/EREBP	150	Flower development, cell proliferation, secondary metabolism, abiotic and biotic stress responses, ABA response, and ethylene response	<i>ABI4, ANT, AP2, CBF1-3/DREB1 A-C, DREB2A, ERF1</i>	0 0 0
NAC	105	Development, pattern formation, and organ separation	<i>CUC2, NAP</i>	0 0 0
bHLH/MYC	100	Anthocyanin biosynthesis, light response, flower development and abiotic stress	<i>PIF3</i>	61 38 8
bZIP	100	Seed-storage gene expression, photomorphogenesis, leaf development, flower development, defense response, ABA response, and gibberellin biosynthesis	<i>ABI5, HYS, PAN</i>	24 18 15
HB	90	Development (leaf, root, intermode, and ovule), stem cell identity, cell differentiation, growth responses, anthocyanin accumulation, and cell death	<i>ANL2, ATHB-2, BEL1, GL2, KNAT1, REV, STM, WUS</i>	113 88 10
Z-C ₂ H ₂	85	Flower development, flowering time, seed development, and root nodule development	<i>FIS2, SUP</i>	352 138 47
MADS	80	Flower development, fruit development, flowering time, and root development	<i>AG, AGL15, ANR1, AP1, AP3, CAL, FLC, FUL, PI, SEP1, SEP2, SEP3, SHP1, SHP2, SOC1, SVP</i>	2 2 4
WRKY	75	Defense response		0 0 0
ARF-Aux/IAA	42	Auxin responses, development, and floral meristem patterning	<i>AXR2, AXR3, ETT, MP, NPH4, SHY2</i>	0 0 0
Dof	41	Seed germination, endosperm-specific expression, and carbon metabolism	<i>DAG1</i>	0 0 0

Stabilité des ARNm: Petits ARN régulateurs

- **miRNA:** « single-stranded micro RNA »
 - à partir de transcrits ne codant pas de protéines
- **siRNA:** « double stranded short interfering RNA »
 - à partir de longs ARN double brin

miRNA et siRNA: - coupure spécifique d'un ARNm
(environ 22 nucl.)

- parfois: effet aussi sur la transcription
→ inactivation (méthylation) d'un gène

miRNA et siRNA

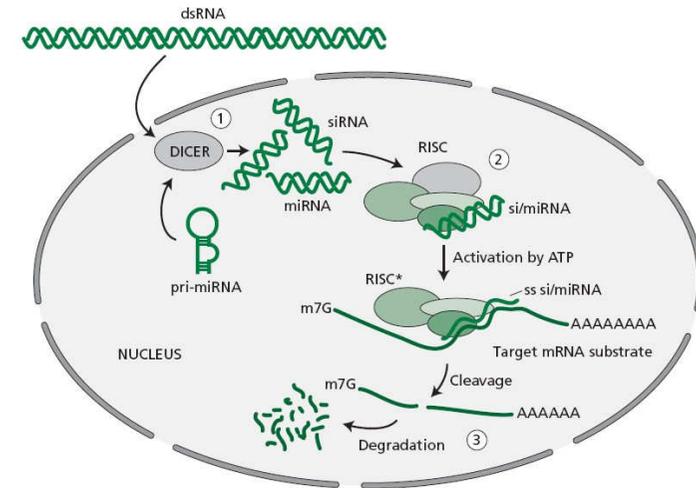


FIGURE 14.9 Model for the repression of gene expression by siRNA and miRNA. (1) Pri-miRNA stem-loop structures and double-stranded RNA generated by the action of RNA-dependent RNA polymerases are processed by the enzyme DICER (or Dicer-like proteins in plants) to 21- to 23-nucleotide sequences, termed miRNA and siRNA, respectively. (2) The RNA-induced silencing complex (RISC) asso-

ciates with the miRNA or siRNA and, after activation by ATP, releases one of the RNA strands. The remaining RNA strand serves as a "guide" that directs the complex to its target RNA molecule. (3) The target RNA is cleaved by the RISC ribonuclease, and the cleavage products are further degraded by other cellular ribonucleases.

<http://4e.plantphys.net/>

Pour en savoir plus:

Conservation and evolution of miRNA regulatory programs in plant development. Matthew R Willmann and R Scott Poethig. *Current Opinion in Plant Biology* 2007, 10: 503-511

MIRNA family	Target gene family	Protein class	Function
156/157	SPL	Transcription factor	Developmental timing
158	PP2		Unknown
160	ARF	Transcription factor	Auxin response, leaf and root development, floral organ identity
165/166	HD-ZIPIII	Transcription factor	Meristem maintenance, vascular development, lateral organ polarity
167	ARF	Transcription factor	Auxin response
170/171	SCL	Transcription factor	Root development
172	AP2	Transcription factor	Developmental timing, floral organ identity
319	TCP	Transcription factor	Leaf development
390	TAS3 (ta-siRNAs act on ARF)	Transcription factor	Auxin response, developmental timing, lateral organ polarity
395	Sulfate transporter		Stress response
408	Multiple laccases, plantacyanin		Stress response
414	Unknown		
418	Unknown		
419	Unknown		

(A voir aussi: Evolution of plant microRNAs and their targets. Michael J. Axtell and John L. Bowman. *Trends in Plant Science* (2008) 13, 343-349)

5- Approches génétiques de l'étude du développement

- Etude de mutants, fournissant des informations sur:
 - lieu et moment d'action du gène
 - fonctionnement (**dominance**, p.e.)
 - interactions entre gènes (**épistasie**, p.e.)
 - effets multiples d'un gène (**pléiotropie**)
- complétée par études biochimiques, physiologiques, cellulaires et moléculaires

Exemple 1: élongation de la tige, petit pois

génotype	phénotype
<i>Le/Le</i>	normal
<i>Le/le</i>	normal
<i>le/le</i>	taille petite (entre-nœuds plus courts)

→ allèle *Le* **dominant** p/r à *le*

MAIS: d'autres gènes contrôlent la taille, p.e.

le/le la/la cry/cry: plus grande que *le/le La Cry*
na/na (avec *Le/Le, Le/le* ou *le/le*): plus petite que *le/le*:

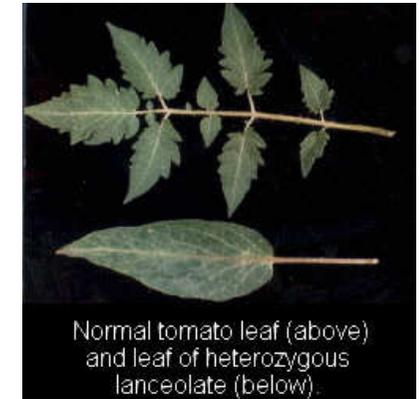
précurseur de GA → → GA20 → GA1
 Na (peu actif) Le (très actif)

→ Na est **épistasique** à Le

Exemple 2: forme de la feuille de tomate

Génotype	phénotype
<i>Lan/Lan</i>	feuille composée
<i>Lan/lan</i>	feuille simple

→ **Mutation dominante**, créant un type de feuille qui existe chez d'autres espèces (intérêt évolutif)



Explication moléculaire: la mutation touche le site de fixation d'un miRNA

→ élimination d'une régulation négative

Exemple 3 : pigmentation chez le maïs (anthocyanes vacuolaires)

2 types de gènes:

- **Gènes structuraux:** enzymes, synthèse des pigments
 → **marqueurs de développement:** gènes dont l'expression est régulée au cours du développement (vs gènes régulateurs);

Utilité:

- définir les stades de développement;
- « visualiser » la détermination: expression avant manifestation phénotypique;
- identifier les gènes régulateurs

- **Gènes régulateurs:** contrôlent expression des gènes structuraux, p.e. *Viviparous1 (Vp1)*:

- active transcription des gènes de synthèse d'anthocyanes
- contrôle aussi la dormance de l'embryon (développement)
- **Pléiotropie** (très fréquent)

Génétique et génétique inverse

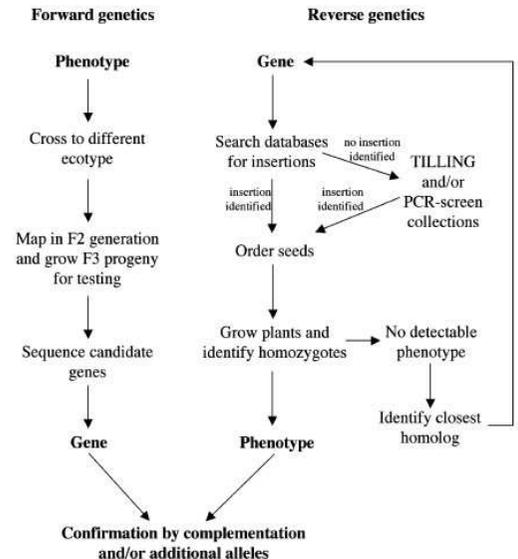


Figure 2. Overview of the process of establishing gene function by mutagenesis. To the left, a simplified outline for a forward genetics approach is shown (for further details of the map-based cloning process, see Jander *et al.* (2002) or Lukowitz *et al.* (2000)) and to the right the individual steps in a reverse genetics approach is shown.

Conclusion, étude de mutants

Les mutations:

- sont rarement tératologiques
- aident à comprendre le fonctionnement du gène normal
- aident à comprendre les interactions entre les gènes
- facilitent l'interprétation des données physiologiques, biochimiques...

6- Notion de plante-modèle

	<u>Arabidopsis</u>	<u>riz</u>	<u>maïs</u>
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Zea mays</i>
famille	Brassicacées (Crucifères) choux, moutarde, colza...	Poacées (Graminées) blé, avoine, orge...	
cycle de développement	40 jours	90-180 j	120 j
fleurs	hermaphrodites	hermaphrodites	unisexuées (plante monoïque)
taille de la plante	quelques cm	~1m	~2m
taille de la graine	0,5 mm	4-5 mm	8 mm
albumen à maturité	non	oui	oui
chromosomes	10	24	20
génom (x 10⁹ pb)	0,1	0,6	25
transformation	facile	possible	difficile
mutagenèse par insertion	T-DNA	T-DNA	transposons

Principaux avantages d'Arabidopsis

- cycle de développement rapide: plusieurs générations par année
- petite taille: culture facile de milliers de plantes en serre
- petit génome:
 - peu d'ADN répétitif
 - séquencé « en entier »
 NB plusieurs autres maintenant...
 - banques de mutants d'insertion



Limites de ces modèles

Plusieurs phénomènes ne peuvent y être étudiés:

- | | |
|---|--|
| • croissance secondaire | <u>modèle</u>
peuplier |
| • autoincompatibilité | <i>Brassica, Nicotiana...</i> |
| • multiplication végétative | pomme de terre... |
| • relations symbiotiques avec <i>Rhizobium</i> | <i>Medicago truncatula</i>
(Légumineuses) |
| • organes modifiés: tubercules, épines... | |
| • métabolismes particuliers: sécrétion de latex, p.e. | |
| • etc. | |

7- Transformation génétique

• Pourquoi faire des plantes transgéniques?

- amélioration génétique des végétaux
- études fondamentales

• Comment?

Plusieurs techniques, dont **Agrobacterium**:

- ADN intégré au génome de la plante: T-DNA
- simple
- fonctionne avec tissus (organes) intacts
- pas très efficace pour les Monocotylédones

Remarque: seul processus naturel d'échange d'ADN entre organismes de règnes différents.

Les multiples utilisations du T-DNA en biologie du développement

1- Etude de la **régulation de l'expression des gènes** (promoteurs)

2- Création de mutants:

- ARN antisens
- "RNA interference" (RNAi): basée sur le dsRNA
- mutagenèse par insertion d'un T-DNA:
 - T-DNA inséré dans un gène: mutation (comme un transposon).
 - T-DNA : d'étiquette ("tag") pour identifier et cloner le gène muté.

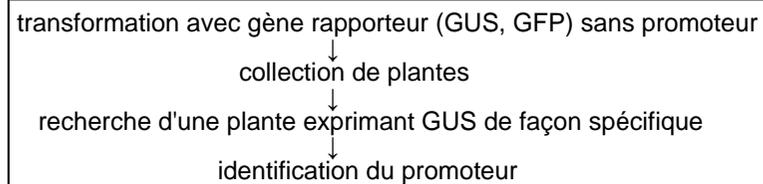
Banques de mutants d'insertion: phénotype → gène

3- **Expression ectopique** d'un gène: à un endroit et/ou un moment inhabituel(s)

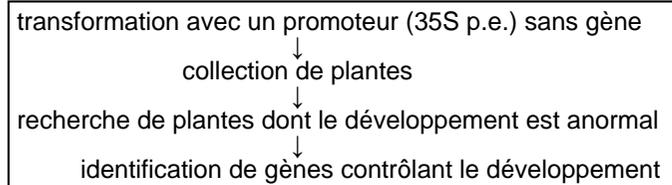
→ effet sur le développement (mutation dominante)?

Si oui: informations sur la fonction du gène et interactions avec d'autres gènes.

4- "**Pêche**" aux promoteurs (et création de marqueurs de développement):



5- « **Activation tagging** »:



6- **Complémentation d'un phénotype muté:** pour confirmer l'identité d'un gène cloné:

Expression du gène chez plante muté → phénotype sauvage?

7- **Ablation génétique** d'un tissu ou d'un type de cellules:

Pour: vérifier la fonction de ces cellules

Comment? Introduction d'un gène létal (p.e. DTA: « Diphtheria Toxin A ») sous contrôle d'un promoteur spécifique.

Pour en savoir plus:

Plant Genetics and Development. Mark D Curtis, Ueli Grossniklaus.
ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES & 2007, John Wiley & Sons, Ltd.
www.els.net

8- Historique

TIMELINE OF PLANT DEVELOPMENTAL BIOLOGY MILESTONES INTEGRATED WITH RELEVANT TECHNOLOGICAL BREAKTHROUGHS

Year	Discovery	Scientist
1859	Speciation through genetic alteration and natural selection	C. Darwin and A.R. Wallace
1950	Mobile DNA in the maize genome and its mutagenicity	B. McClintock
1952	Regenerative capacity of the potato shoot apex shown by microsurgery	I. Sussex
1955	Dependence of leaf dorsoventrality on communication with the shoot apex in potato	I. Sussex
1965	Organogenetic capacity of phytohormones in tobacco <i>in vitro</i> regeneration	E.M. Linsmaier and F. Skoog
1970	Evolution by gene duplication	S. Ohno
1974	Plasmid present in oncogenic agrobacteria	J. Schell and M. Van Montagu
1977	Tumor-inducing principle of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> was a plasmid fragment that integrated into the plant genome	M.D. Chilton, M.P. Gordon and E.W. Nester
1978	Complete sequence of the viral SV40 genome	W. Fiers
1983-1984	Regeneration of the first transgenic plants in tobacco using antibiotic resistance markers and disabled T-DNA vectors	M. Bevan, M. De Block, M. Van Montagu, J. Schell and R. Horsch
1983-1984	Isolation of <i>A_cDs</i> elements and sequence determination	P. Starlinger and N. Fedoroff
1986	Maize transposons function in tobacco	B. Baker and N. Fedoroff
1987	DNA synthesis <i>in vitro</i> via polymerase chain reaction	K. Mullis and F. Faloon
1987	<i>E. coli</i> β glucuronidase used as reporter gene in plants	R.A. Jefferson and M. Bevan
1989-1990	Floral homeotic mutants in <i>Arabidopsis</i> and <i>Antirrhinum</i> and the ABC model for flower formation	J. Bowman and E. Meyerowitz R. Carpenter and E. Coen
1990	Cloning of the first floral homeotic gene in <i>Antirrhinum</i> Cloning of the first floral homeotic gene in <i>Arabidopsis</i>	H. Sommer, H. Saedler and S. Scharz-Sommer M. Yanofsky and E. Meyerowitz

suite...

1990	Cloning of the first floral homeotic gene in <i>Antirrhinum</i> Cloning of the first floral homeotic gene in <i>Arabidopsis</i>	H. Sommer, H. Saedler and S. Scharz-Sommer M. Yanofsky and E. Meyerowitz
1991	Cloning of <i>KNOTTED</i> in maize important for indeterminacy in the SAM	E. Vollbrecht and S. Hake
1991	Genetic proof of embryonic axis formation	U. Mayer and G. Jürgens
1993	Genetic control of meristem size: the <i>CLAVATA</i> signaling pathway	E. Meyerowitz and S. Clark
1993-1994	Cell patterning in the root epidermis and meristem	L. Dolan and B. Scheres
1995	Trafficking of <i>KNOTTED1</i> transcription factor through plasmodesmata	W. Lucas and S. Hake
1995-1997	Cell identity in the root apical meristem dependent on short range signaling as shown by laser cell ablation	P. Weisbeek and B. Scheres
1997	Gene silencing in plants	D. Baulcombe
1997	Use of green fluorescent protein as reporter in plants	J. Haseloff
1999	High-density micro-array for monitoring genome-wide expression	R. Lipchitz and S. Fodor
1999-2000	Conservation of genetic control of leaf initiation	M. Tsiantis, J. Langdale, M. Timmermans, T. Nelson
2001	Leaf polarity genes in <i>Arabidopsis</i> ,	J. Bowman, R. Kerstetter and S. Poethig
2000	Sequence of the <i>Arabidopsis thaliana</i> genome	Arabidopsis Genome Initiative
2002	microRNAs in plants	D.J. Bartel, B. Bartel and M.W. Rhoades
2003	Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport	D. Reinhardt and C. Kuhlemeier
2003	Sorting of cells by laser capture or flow cytometry	T. Nelson and P. Benfey
2003-2004	Mathematical modeling and computer simulation of patterning	E. Coen and P. Prusinkiewicz

Technological breakthrough in red

MIEKE VAN LIJSEBETTENS* and MARC VAN MONTAGU. Historical perspectives on plant developmental biology. *Int. J. Dev. Biol.* 49: 453-465 (2005)